

**UNIVERSIDAD TÉCNICA PRIVADA COSMOS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**INFLUENCIA DE LA CURINAZA EN EL RENDIMIENTO Y VALOR
NUTRICIONAL DEL HELECHO ACUÁTICO (*Azolla filiculoides*). MUNICIPIO
DE ARBIETO, COCHABAMBA**

**Tesis de grado presentada para optar al
título de Licenciatura en MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

Daniel Alejandro Mancilla Castro [Postulante]

Ing. Agr. David Pérez Román (Tutor)

Cochabamba – Bolivia

Año 2020

Autoría del trabajo

La presente tesis constituye requisito previo para la obtención del Título De Licenciado en Medicina Veterinaria Y Zootecnia de la Universidad Técnica Privada Cosmos.

Yo, Daniel Alejandro Mancilla Castro con cédula de identidad número 7962779 Cbba, declaro que la presente investigación titulada “INFLUENCIA DE LA CURINAZA EN EL RENDIMIENTO Y VALOR NUTRICIONAL DEL HELECHO ACUÁTICO (*Azolla filiculoides*). MUNICIPIO DE ARBIETO, COCHABAMBA”, es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de absoluta responsabilidad.

Daniel Alejandro Mancilla Castro

C.I.: 7962779 Cbba

Cochabamba...../...../.....de 2020

Hoja de aprobación

La tesis que en cumplimiento a los requisitos exigidos para optar al título de licenciatura en MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, fue presentada por el postulante Daniel Alejandro Mancilla Castro, ha sido aprobado en la ciudad de:

.....a los.....días de.....de 202.....

Miembro del tribunal

Miembro del tribunal

Miembro del tribunal

Miembro del tribunal

Directora de la carrera

Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dedicatoria

*A Dios por todo el amor, humildad, motivación, bienestar, salud, entendimiento
y conocimientos que se me ha concedido.*

*A mis padres Alfredo Eduardo Mansilla Heredia y Ruby Jeanette Castro Ustariz,
quienes a pesar de sus diferencias me otorgaron la vida y me brindaron amor,
educación, apoyo y consejos.*

*A mis hermanos Alfredo, Ronald, Melisa, Michael, Jared, Valentina y a mi
sobrino James, quienes siempre tendrán mi aprecio, respeto y afecto.*

Agradecimientos

Indudablemente, la felicidad, éxito y bienestar del ser tiene fundamento en la colaboración y la gratitud en calidad de pilares del altruismo, y habiendo yo recibido en demasía apoyo, consejos y conocimientos que me permitieron culminar mi formación universitaria y materializar la presente investigación; me brindo a retribuir a algunos de los colaboradores:

A Dios por otorgarme entendimiento y guiar mi camino por el sendero de la ética, el conocimiento y la sabiduría.

A la Alcaldía del Gobierno Autónomo Municipal de Arbieta, principalmente al Director de Desarrollo Productivo Ing. Richard Zurita por avalar la investigación y cooperar con información referente a la comunidad y al municipio. A la alcaldía de Bélgica – Floreffe y al proyecto PUA (Promoción Uso de Azolla) del departamento de Tarija a cargo del Lic. Sebastián Martín Paggi y la Ing. Grace Abou Mansour por avalar la investigación y cooperar con diversas observaciones en la planificación y ejecución de la misma.

Al Ing. David Pérez Román quien colaboró en la investigación en calidad de Tutor, siempre predispuesto a otorgar su tiempo y conocimientos para solucionar cualquier problema complejo.

A todos los docentes que participaron en mi formación académica, disculpándome al no mencionarlos por ser extensa la lista; a la Dra. Jhanina Garbay Chávez, actual directora de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por brindarme motivación, apoyo y consejos a lo largo de mi formación académica y durante la realización de esta investigación y a su predecesor, quien fue mi primer director en la carrera, Dr. Jaime Luis Santibáñez Valdés por recibirme y guiarme en mis primeros años de estudio.

A mis compañeros y amigos Sebastián Pérez, Rolando Maturana y Oliver Jaldín por su colaboración durante la investigación.

Resumen

Se efectuó un muestreo probabilístico por conglomerados en la laguna Coña Coña del Municipio de Cercado, recolectándose 4000 g de Azolla que se sembró en un estanque de 4 m² de superficie y 2000 L de capacidad (50 cm de profundidad), fertilizado con 2142 g de Curinaza. Del mismo, se obtuvo un rendimiento de 13940 g de biomasa en base húmeda en 40 días de ensayo con intervalos de cosecha de 8 días (equivalente a 87,12 g/m²/día).

Posteriormente, se efectuó un experimento con diseño completamente aleatorizado en el cual se compararon tres tratamientos, dos con Curinaza dosificada a razón de 857 g (T₂) y 571 g (T₁); y un control sin dosificación de Curinaza (T₀) en estanques de 2 m² de superficie y 800 L de capacidad (40 cm de profundidad). Los resultados, en los que se obtuvo un promedio de ganancia de biomasa en base húmeda de 2696 g (T₂), 2380 g (T₁) y 1049 g (T₀) durante los 21 días de duración del ensayo (intervalos de cosecha cada 7 días); manifestaron con un 95 % de confiabilidad (P < 0,05) diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos; aunque no aconteció tal diferencia entre los dos grupos fertilizados con Curinaza.

Al final, se obtuvo el valor nutricional de *Azolla filiculoides* fertilizada con la cantidad de Curinaza que produjo mayor rendimiento de biomasa. Los resultados en materia seca (6,64 %) fueron:

Proteína (21,08 %), fibra (14,31 %), carbohidratos (43,67 %), cenizas (20,03 %), grasa (1,2 %) y valor energético (18,04 kcal/g).

Palabras clave: *Azolla filiculoides*, Curinaza, rendimiento, valor nutricional.

Abstract

A probabilistic sampling was carried out by clusters in the Coña Coña lagoon of the Municipality of Cercado, collecting 4000 g of *Azolla* that was sown in a pond of 4 m² and 2000 L capacity (50 cm deep), fertilized with 2142 g of Curinaza. From this, a yield of 13940 g of wet biomass was obtained in 40 days of testing with harvest intervals of 8 days (equivalent to 87,12 g/m²/day).

Subsequently, an experiment with a completely randomized design was carried out in which three treatments were compared, two with dosed curves at a rate of 857 g (T₂) and 571 g (T₁); and a control without dosing of Curinaza (T₀) in ponds of 2 m² of surface and 800 L of capacity (40 cm deep). The results, in which an average wet biomass gain of 2696 g (T₂), 2380 g (T₁) and 1049 g (T₀) was obtained during the 21-day trial period (harvest intervals each 7 days); they showed statistically significant differences between treatments with 95% reliability (P < 0,05); although no such difference occurred between the two groups fertilized with Curinaza.

In the end, the nutritional value of fertilized *Azolla filiculoides* was obtained with the amount of Curinaza that produced greater biomass yield. The dry matter results (6.64%) were:

Protein (21,08%), fiber (14,31%), carbohydrates (43,67%), ashes (20,03%), fat (1,2%) and energy value (18,04 kcal/g).

Keywords: *Azolla filiculoides*, curinaza, yield, nutritional value.

Abreviaturas

AAEE: aminoácidos esenciales

B: boro.

BH: base húmeda.

Ca: calcio.

CE: conductividad eléctrica.

Ce: cenizas.

CHO: carbohidratos.

Co: cobalto.

DCA: diseño completamente aleatorizado.

EE: extracto etéreo.

EN: energía neta.

ELN: extracto libre de nitrógeno.

FC: fibra cruda.

Fe: hierro.

g: gramo.

K: potasio.

Kcal: kilocalorías

kg: kilogramo.

Kj: kilojulio.

L: litro.

Mg: magnesio.

mM: milimolar.

Mmol: milimoles.

Mn: manganeso.

Mo: molibdeno.

MS: materia seca.

N: nitrógeno.

NO₃: nitrato.

NH₄: amonio.

P: fósforo.

PB: proteína bruta.

PC: proteína cruda.

PV: peso vivo.

t: tonelada

µg: microgramos

Índice general

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. PRESENTACIÓN DE LA TEMÁTICA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Presentación del problema	3
1.2. Formulación del problema.....	3
1.3. Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Justificación	4
1.4.1. Justificación teórica	4
1.4.2. Justificación práctica	4
1.5. Planteamiento de la hipótesis	5
1.5.1. Hipótesis de investigación	5
1.5.2. Hipótesis nula.....	5
1.5.3. Descripción de variables	5
1.6. Delimitación del estudio	7
1.6.1. Delimitación espacial.....	7
1.6.2. Delimitación temporal	7
CAPÍTULO II. MARCO CONTEXTUAL.....	8
2.1. Instituciones que avalan la investigación	8
2.2. Contexto de la investigación – Municipio de Arbieta	10
2.3. Diagnóstico	11
2.3.1. Resultados del diagnóstico.....	12
2.3.2. Conclusiones del diagnóstico	14

CAPÍTULO III. MARCO TEÓRICO.....	16
3.1. Antecedentes.....	16
3.2. Marco conceptual.....	20
3.3. Marco teórico.....	21
3.3.1. Estiércol.....	21
3.3.2. Estiércol de cuy, Curinaza o Cuyinaza.....	21
3.3.3. Plantas macrófitas.....	23
3.3.4. Azolla.....	24
3.3.5. Taxonomía, distribución y hábitat.....	25
3.3.6. Morfología.....	26
3.3.7. Reproducción.....	27
3.3.8. Fijación del CO ₂ y nitrógeno atmosférico.....	28
3.3.9. Condiciones óptimas para el cultivo de Azolla.....	29
CAPÍTULO IV. DISEÑO METODOLÓGICO.....	43
4.1. Enfoque de investigación:.....	43
4.2. Tipo de investigación:.....	43
4.3. Método de investigación:.....	43
4.4. Técnicas e instrumentos de investigación.....	44
4.5. Fuentes de información.....	44
4.5.1. Primarias.....	44
4.5.2. Secundarias.....	44
4.6. Diseños de investigación:.....	44
4.6.1. Preexperimental:.....	44
4.6.2. Experimental (diseño completamente aleatorizado):.....	45
4.7. Diseño muestral.....	48

4.7.1. Población de estudio	48
4.7.2. Método de muestreo.....	48
4.7.3. Unidad muestral	48
4.7.4. Unidad de análisis	48
4.8. Acciones y/o actividades:.....	49
4.8.1. Cuantificar el rendimiento de biomasa húmeda de <i>Azolla filiculoides</i> en función de la fertilización con Curinaza	49
4.8.2. Determinación de la composición nutricional de <i>Azolla filiculoides</i> fertilizada con Curinaza	51
4.8.3. Estimación del rendimiento de biomasa seca de <i>Azolla filiculoides</i> en función de la fertilización con Curinaza	51
CAPÍTULO V. PRESENTACIÓN DE HALLAZGOS, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS MISMOS.....	52
5.1. Rendimiento de biomasa húmeda de <i>Azolla filiculoides</i> en función de la fertilización con Curinaza	52
5.1.1. Resultados del ensayo preexperimental	52
5.1.2. Resultados del diseño completamente aleatorizado (DCA).	55
5.2. Valor nutricional de <i>Azolla filiculoides</i>	59
5.3. Rendimiento de biomasa seca de <i>Azolla filiculoides</i>	62
CONCLUSIONES	67
RECOMENDACIONES.....	68
REFERENCIAS	69

Índice de cuadros

Cuadro 1. Conceptualización de variables	6
Cuadro 2. Operacionalización de variables	6
Cuadro 3. Características del ecosistema en la comunidad Villa Cabot	11
Cuadro 4. Macro elementos presentes en la curinaza	12
Cuadro 5. Parámetros de calidad de agua de la propiedad.....	14
Cuadro 6. Las plantas acuáticas en un contexto de aprovechamiento sostenible de los recursos naturales I. <i>Azolla</i> spp.....	16
Cuadro 7. Efecto de la fertilización en el rendimiento de <i>Azolla filiculoides</i> , un alimento para la acuicultura	17
Cuadro 8. <i>Azolla</i> sp., un alimento de alto valor nutricional para la acuicultura .	18
Cuadro 9. Uso de algas y macrófitas acuáticas como alimento en acuicultura a pequeña escala	19
Cuadro 10. Valor del estiércol de cuy comparado con otras especies	22
Cuadro 11. Producción y contenido de nutrientes del estiércol de las diferentes especies	23
Cuadro 12. Tolerancia a la temperatura de cinco especies de <i>Azolla</i>	32
Cuadro 13. Composición en aminoácidos de <i>Azolla</i> . Datos filipinos	42
Cuadro 14. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	44
Cuadro 15. Tratamientos y su concentración de macronutrientes.....	47
Cuadro 16. Rendimiento total y rendimiento por metro cuadrado de superficie	52
Cuadro 17. Comparación de valores de referencia	53
Cuadro 18. Rendimiento total de <i>Azolla filiculoides</i> en la corrida experimental	56
Cuadro 19. Rendimiento promedio para los grupos en comparación	56
Cuadro 20. Análisis de varianza (ANOVA) de la corrida experimental	57
Cuadro 21. Prueba de diferencia de medias de DUNCAN para la corrida experimental	57
Cuadro 22. Prueba de diferencia de medias LSD Fisher	58
Cuadro 23. Prueba de diferencia de medias de Tukey.....	58

Cuadro 24. Resultados del análisis nutricional de <i>Azolla filiculoides</i> fertilizada curinaza	60
Cuadro 25. Comparación entre el rendimiento en BH y MS	63
Cuadro 26. Rendimiento de Azolla en base seca (DCA)	65

Índice de figuras

Figura 1. Variables de la investigación.....	5
Figura 2. Estructura administrativa municipal.....	8
Figura 3. Croquis de campo para el experimento.....	47
Figura 4. Azolla sembrada, obtenida y rendimiento total.....	54
Figura 5. Diferencia de medias LSD Fisher.....	58
Figura 6. Rendimiento de Azolla en base húmeda y seca.....	64
Figura 7. Diferencia de medias LSD Fisher (Programa InfoStat Ver. 2018E) ...	66
Figura 8. Rendimiento de biomasa húmeda y seca (DCA).....	66

INTRODUCCIÓN

El estiércol del cuy (*Cavia porcellus*), denominado también Curinaza o Cuyinaza es un subproducto pecuario derivado de los sistemas de producción cuyícolas. Este tiene la ventaja de ser un producto orgánico, natural, y abundante; con un óptimo contenido mineral para utilizarse como fertilizante en la producción de recursos forrajeros.

Por otro lado, Azolla es un género de plantas macrófitas con un formidable potencial para la agricultura y la ganadería; debido principalmente a su facultad para fijar nitrógeno atmosférico en asociación simbiótica con la cianobacteria *Anabaena azollae*, la cual le permite obtener elevado rendimiento de biomasa y nitrógeno/proteína, haciéndola idónea para emplearse en sustitución parcial de los insumos proteínicos convencionales utilizados para alimentación animal y como biofertilizante para otros cultivos. Asimismo, la producción de su biomasa es significativamente más sostenible en comparación a otros insumos.

Es factible aprovechar las ventajas que hacen a Azolla idónea para integrarse a los sistemas agropecuarios, dado que una de las especies del género; *Azolla filiculoides* se localiza de forma natural como un componente de la flora acuática habitante en las lagunas del Valle de Cochabamba. No obstante, no se disponen de estudios sobre el cultivo de Azolla en dicho contexto y los resultados de las investigaciones efectuadas para el género Azolla varían en función de la especie cultivada, del contexto donde se desarrollaron y de las variables estudiadas en función de los requerimientos que presenta su cultivo; haciendo que los parámetros referentes a su rendimiento y composición nutricional varíen de un estudio a otro; además, no se dispone de estudios que demuestren el efecto de la Curinaza en la fertilización de su cultivo, lo que es necesario si se plantea incluirla como insumo en los sistemas de producción cuyícolas.

Por lo detallado anteriormente, como propósito central de este estudio se proyectó evaluar la influencia o efecto de la Curinaza dosificada en función de

su contenido de nitrógeno en el rendimiento y composición nutricional de la biomasa del helecho acuático (*Azolla filiculoides*). Para tal propósito, se dividió el estudio en cinco etapas:

- En primera instancia se ejecutó un **diagnóstico** detallado en el marco contextual, en el cual se recolectaron muestras de agua y Curinaza que fueron enviados al laboratorio de suelos y agua de la facultad de agronomía de la Universidad Mayor de San Simón (UMSS); con la finalidad de obtener la composición de macronutrientes de la Curinaza y parámetros físico-químicos del agua que se utilizó para el estudio.

- La segunda fase consistió en la **recolección de muestras** de biomasa de *Azolla filiculoides* de la laguna Coña Coña (Municipio de Cercado, Cochabamba); utilizando para ello un muestreo probabilístico por conglomerados. Posteriormente las muestras de *Azolla* fueron transportadas al municipio de Arbieto para realizar los ensayos posteriores.

- En la tercera etapa se realizó un **ensayo preexperimental**, el cual se utilizó con el fin primordial de producir semilla de *Azolla filiculoides* adaptada a las condiciones experimentales.

- La cuarta etapa efectuó un **ensayo experimental**, con un diseño completamente aleatorizado (DCA), en el cual se utilizaron tres grupos de contraste: dos grupos fertilizados con Curinaza y un testigo sin dosificación de Curinaza.

- En la quinta y última etapa se desarrolló nuevamente un **ensayo preexperimental**, para obtener el valor nutricional de la biomasa de *Azolla filiculoides* fertilizada con Curinaza.

CAPÍTULO I.

PRESENTACIÓN DE LA TEMÁTICA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Presentación del problema

A pesar que el helecho *Azolla filiculoides* se encuentra en las lagunas del Valle de Cochabamba no se dispone de información de su rendimiento ni del valor nutricional de su biomasa en el mencionado contexto, la cual es necesaria para viabilizar su aplicación en el sector pecuario; a su vez, tampoco se dispone de información sobre la fertilización de su cultivo valiéndose de la Curinaza; siendo esto necesario si se plantea incluirla en los sistemas de producción cuyícolas. Por ende, resulta trascendental evaluar el rendimiento y valor nutricional de su biomasa en función de la fertilización de su cultivo con Curinaza.

1.2. Formulación del problema

¿Qué fertilización con Curinaza dosificada en función de su contenido de nitrógeno es óptima para obtener un mayor rendimiento de biomasa del helecho acuático (*Azolla filiculoides*) y qué valor nutricional posee dicha biomasa?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la influencia de la Curinaza en el rendimiento y valor nutricional de la biomasa del helecho acuático (*Azolla filiculoides*).

1.3.2. Objetivos específicos

- Cuantificar el rendimiento de biomasa húmeda de *Azolla filiculoides* en función de la fertilización con Curinaza.
- Determinar el valor nutricional de *Azolla filiculoides* fertilizada con Curinaza.

- Estimar el rendimiento de biomasa seca de *Azolla filiculoides* en función de la fertilización con Curinaza.

1.4. Justificación

1.4.1. Justificación teórica

La investigación complementa con información referente al género *Azolla*; contrastando resultados concernientes a su rendimiento, composición nutricional y fertilización de su cultivo (en este caso con Curinaza). Conjuntamente, se brinda información del cultivo de *Azolla* en condiciones específicas del Valle de Cochabamba.

1.4.2. Justificación práctica

La información del cultivo de *Azolla* en condiciones específicas del Valle de Cochabamba adquiere mayor relevancia si instituciones interesadas se proponen realizar proyectos de inversión y/o investigación sobre la *Azolla* en dicho contexto. Asimismo, la investigación propone promover la aplicación de *Azolla filiculoides* en el Valle de Cochabamba con asiento en sus beneficios.

Entre los beneficios de su cultivo se encuentran que esta vegetación se aprovecha como alimento para animales de granja con la ventaja de su elevada producción de biomasa, alto contenido de nutrimentos, ausencia de factores antinutricionales y fina consistencia, lo cual reduciría los gastos por concepto de molienda o corte (1); no requieren de la mayoría de las tareas agrícolas, ni la compra de insumos como semillas y fertilizantes (2); no ocasionan efectos negativos para los recursos naturales, como son la compactación del suelo por efecto de la maquinaria, la pérdida de micro y macroorganismos, así como la contaminación de las fuentes de agua por agroquímicos, como sucede en el cultivo de la soya (3). La resistencia a plagas elimina la necesidad de operaciones con agentes tóxicos, como pesticidas y herbicidas (4).

1.5. Planteamiento de la hipótesis

1.5.1. Hipótesis de investigación

H_i: La fertilización con Curinaza equivalente a una concentración aproximada de 15 mg/N/L (4), proporciona el mayor rendimiento de biomasa de *Azolla filiculoides*.

$$H_i: \mu_2 > \mu_1 > \mu_0$$
$$(T_2 > T_1 > T_0)$$

1.5.2. Hipótesis nula

H₀: La fertilización con Curinaza equivalente a una concentración aproximada de 15 mg/N/L (4), no proporciona el mayor rendimiento de biomasa de *Azolla filiculoides*.

$$H_0: \mu_2 = \mu_1 = \mu_0$$
$$(T_2 = T_1 = T_0)$$

1.5.3. Descripción de variables

Se realizaron procedimientos estadísticos univariados y bivariados (descriptivos e inferenciales), con la manipulación de una variable independiente y la medición de dos variables dependientes (Figura 1).

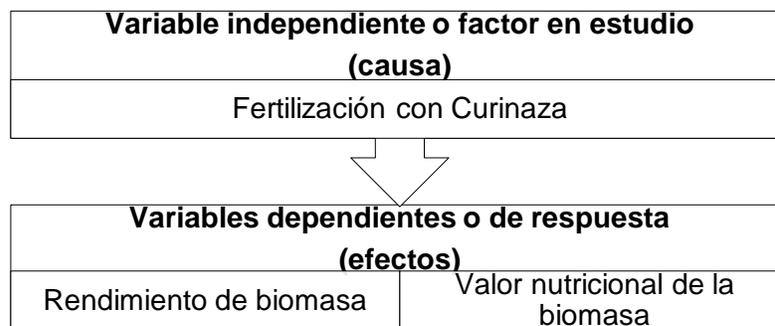


Figura 1. Variables de la investigación

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 1. Conceptualización de variables

Variables	Definición conceptual
Fertilización con Curinaza	Fertilizante: Los fertilizantes son sustancias que se aplican directa o indirectamente a las plantas, para favorecer su crecimiento, aumentar su producción o mejorar su calidad (13). Curinaza: Estiércol de cuy (<i>Cavia porcellus</i>) (14).
Rendimiento de biomasa	Rendimiento: Proporción entre el producto o el resultado obtenido y los medios utilizados (15). En este caso la biomasa obtenida (expresada en gramos) por metro cuadrado de superficie. Biomasa: Toda materia orgánica originada en un proceso biológico (16).
Valor nutricional	El valor nutritivo de cada alimento es el conjunto de nutrimentos que posee (17).

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 2. Operacionalización de variables

Variable	Indicador	Unidad de medida	Tipo de variable	Escala de medición
Fertilización con Curinaza	Concentración aproximada de nitrógeno por litro	mg/L	Cuantitativa continua	De razón
	Concentración aproximada de fósforo por litro	mg/L	Cuantitativa continua	De razón
	Concentración aproximada de potasio por litro	mg/L	Cuantitativa continua	De razón
Rendimiento de biomasa	Rendimiento en base húmeda	g/m ²	Cuantitativa continua	De razón
	Rendimiento en base seca	g/m ²	Cuantitativa continua	De razón
Composición nutricional	Humedad	%	Cuantitativa continua	De razón
	Materia seca			
	Proteína			
	Fibra			
	Cenizas			
	Grasa			
	Carbohidratos			
Energía	Kcal/g	Cuantitativa continua	De razón	

Fuente: Elaboración propia

1.6. Delimitación del estudio

1.6.1. Delimitación espacial

La investigación se realizó en la Comunidad Villa Cabot, ubicada en el Municipio de Arbieto, Provincia Esteban Arze del Departamento de Cochabamba **(Ver anexo 1)**.

1.6.2. Delimitación temporal

La investigación se realizó durante 4 meses **(Ver anexo 2)**.

CAPÍTULO II.

MARCO CONTEXTUAL

2.1. Instituciones que avalan la investigación

1) Honorable Alcaldía del Gobierno Autónomo Municipal de Arbieta

La presente investigación cuenta con el aval de la honorable Alcaldía del gobierno Autónomo Municipal de Arbieta, por correspondencia del Alcalde Municipal Renol Almendras Sandagorda y el Director de Desarrollo Productivo Ing. Richard Zurita.

Finalidad: Normar, fiscalizar, administrar, ejecutar todas las competencias establecidas por Ley en su jurisdicción.

Estructura administrativa: La estructura Orgánica del Gobierno Municipal de Arbieta está representado por el siguiente organigrama:

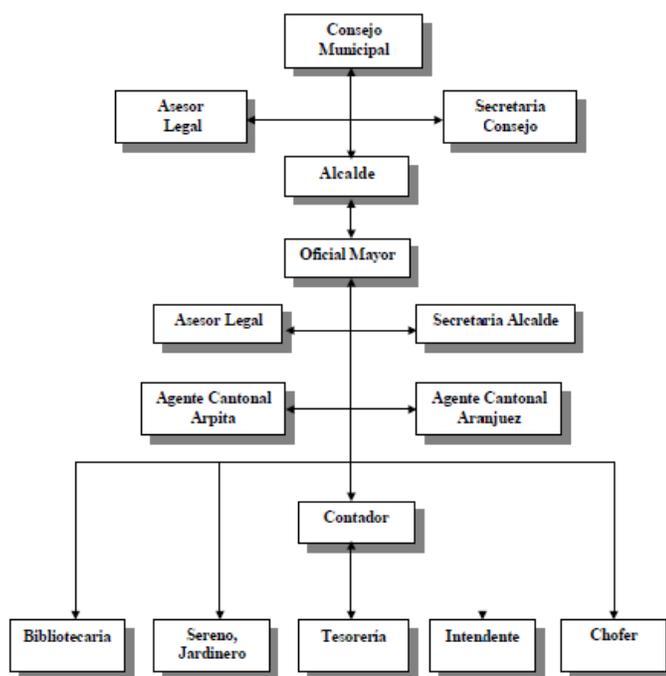


Figura 2. Estructura administrativa municipal

Fuente: HAMA - AMDECO (18)

Una vez instaurada la ley de Participación Popular, el Municipio adquiere su rol protagónico en el manejo de su propio destino haciendo que la planificación participativa sea la base para su desarrollo. Podemos señalar que la estructura orgánica del Gobierno Municipal, está conformada de acuerdo a la normativa vigente en el país, los recursos económicos con que cuenta, la demanda de la población y la realidad político-administrativo en la que se desenvuelve. Así mismo debe ser estructurada y revisada permanentemente de manera que la municipalidad sea cada vez más una institución generadora de progreso y desarrollo para los estantes y habitantes del Municipio de Arbieta.

Como se observa en la estructura orgánica institucional de la Honorable Alcaldía Municipal de Arbieta, existe una interrelación entre el ejecutivo, legislativo y todo el personal de planta con sus funciones específicas en las diferentes reparticiones (18).

2) Proyecto Promoción Uso de Azolla (PUA)

Desde el año 1997, François Laviolette, un ingeniero agrónomo belga que vivió algunos años en Tarija, ha incentivado el uso del helecho acuático *Azolla filiculoides* a diferentes familias del área rural de Tarija. François observó las condiciones óptimas de crecimiento de Azolla en la zona, y el hecho que esta planta no está siendo aprovechada debido a que sus propiedades y beneficios no son conocidos.

Con el objetivo de impulsar y difundir el uso de Azolla, la alcaldía de Bélgica – Floreffe otorga un financiamiento cada año desde el 2010, para que profesionales especializados en el área de medio ambiente, puedan impulsar el uso de Azolla en Tarija, supervisados por el Ing. François Laviolette y en contacto con Pierre Le Moine, ingeniero agrónomo y consejero medioambiental de la alcaldía de Floreffe, Bélgica.

El proyecto PUA tiene los siguientes objetivos:

Objetivo general del PUA: Promover el uso del helecho acuático *Azolla filiculoides* en el Departamento de Tarija – Bolivia.

Objetivos específicos del PUA:

- Sensibilizar y capacitar a diferentes comunidades campesinas, instituciones públicas y privadas sobre el uso de Azolla.
- Realizar el seguimiento a las personas, comunidades e instituciones participantes del proyecto.
- Capacitar a especialistas del área de medio ambiente sobre el uso de Azolla.
- Generar una cadena de comercio de Azolla y sus derivados.
- Generar información pertinente al área de trabajo.

Encargados del proyecto PUA en Tarija: Desde el mes de febrero 2018, los dos encargados del proyecto PUA en Tarija son Sebastián Martín Paggi, licenciado en Biología argentino, especializado en Producción Orgánica y Gestión Ambiental, y Grace Abou Mansour, ingeniera franco-libanesa especializada en Mecánica de Fluidos y con Máster en Ecología, gestión ambiental y calidad de suelos (19).

2.2. Contexto de la investigación – Municipio de Arbieta

Arbieta fue creado mediante la ley 563 del 20 de septiembre de 1983 como tercera sección municipal de la provincia Esteban Arze, durante el Gobierno de Hernán Siles Suazo (20).

Con una superficie de 162,3 km² y una población de 7.816 habitantes, el municipio de Arbieta (Tercera sección de la provincia Esteban Arze del departamento de Cochabamba) está situado a 17°34' latitud sur y 66°00' longitud oeste. Situada entre 2.550 a 2.800 msnm, tiene una temperatura media de 16 °C y una precipitación anual de 450 a 500 mm (21).

Según la Asociación de Municipios de Cochabamba, Arbieta es la tercera sección municipal de la Provincia Esteban Arce, limita al norte con el municipio Cochabamba, al este con Tolata, al sur con Tarata y al oeste con Santivañez. La superficie de la sección municipal aproximada es de 162,31 km² y una población de 9.438 habitantes según el Instituto Nacional de estadística (INE), con una densidad demográfica de 58,15 habitantes por Km².

La Provincia Esteban Arze cuenta con cuatro secciones municipales: Tarata, Anzaldo, Arbieta y Sacabamba. El Municipio de Arbieta, se constituye en la tercera sección y posee tres distritos: Aranjuez, Arbieta y Arpita. Está constituida por 35 comunidades; a su vez se hallan organizadas en 29 Organizaciones Territoriales de Base (OTB). Debido a la cercanía de las comunidades y por escaso número de habitantes, varias de estas decidieron conformar una sola OTB, tal el caso de la OTB Kaluyo, está conformado por las comunidades de: Kaluyo, Jamachuma, Thajra y Jatampata. La sección municipal de Arbieta está constituida actualmente por 35 comunidades campesinas, aglutinadas en 3 cantones y 6 subcentrales campesinas.

Cuadro 3. Características del ecosistema en la comunidad Villa Cabot

Piso ecológico:	Estepa espinosa montano bajo subtropical
Precipitación:	400 a 500 mm anual
Altitud:	2600 a 2800 msnm
Temperatura media anual:	12 y 18 °C con una variación entre el mes más cálido y el más frío de no más 5 °C
Meses de lluvia:	Mediados de noviembre hasta principios de mayo
Humedad relativa:	32 – 49 %

Fuente: HAMA - AMDECO (18)

2.3. Diagnóstico

Para fines de la investigación se realizó un diagnóstico en el cual se recolectaron muestras de agua y Curinaza que fueron enviados al Laboratorio de Suelos y Agua de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y Forestales

“Martín Cárdenas” de Universidad Mayor de San Simón (UMSS)., ubicada en el Km 5 de la Av. Petrolera (**Ver anexos 3 y 4**). Este se realizó con la finalidad de obtener la composición de macroelementos de la Curinaza y parámetros físico-químicos del agua que se utilizó en el estudio.

2.3.1. Resultados del diagnóstico

- Análisis de la Curinaza utilizada para la investigación

La Curinaza se obtuvo de la misma propiedad donde se realizó la investigación; la misma, se basa en un sistema de crianza familiar con alimentación básica (solo forraje) en el cual se utiliza como insumo únicamente la alfalfa (*Medicago Sativa*). El protocolo utilizado para la recolección de muestras de Curinaza fue el del Laboratorio de Servicios Analíticos de la Universidad de Florida (22). Este mismo consistió en recolectar 12 submuestras al azar dentro de un montón de estiércol, formado previamente con la Curinaza obtenida de todas las pozas; se mezclaron las 12 submuestras y se colocó 1 kg de la mezcla total dentro de una bolsa plástica con cierre hermético para su posterior envío. Posteriormente, se etiquetó con el nombre del remitente, la ubicación de la propiedad, fecha y hora de la toma de muestra y los parámetros requeridos (nitrógeno total, fósforo total y potasio total). Los resultados del laboratorio se describen en el siguiente cuadro:

Cuadro 4. Macro elementos presentes en la Curinaza

Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)
1,400	0,550	1,784

Fuente: Elaboración propia

El contenido de fósforo (factor de mayor importancia para el crecimiento de Azolla) se encuentra relativamente por debajo del nivel de referencia expresado en el marco teórico; esto puede explicarse debido a que los animales en la finca son alimentados únicamente con alfalfa (*Medicago Sativa*), estando ausente la alimentación con concentrados; siendo evidente que los granos de cereales son

buenas fuentes de fósforo, mientras que los contenidos del mismo en los forrajes suelen ser muy bajos (23,24).

El contenido de nitrógeno se encuentra debajo de los valores de referencia descritos en el marco teórico. Se sabe que aunque Azolla no requiere nitrógeno en el medio de cultivo debido a su capacidad de fijación del nitrógeno atmosférico, este sí puede incrementar o limitar el crecimiento, dependiendo la fuente y concentración del mismo (6,25).

En cuanto al potasio, el cual se encuentra por encima del valor de referencia, mencionándose que es necesario para el crecimiento de Azolla e indicándose niveles de 15,6 a 23,5 mg/L para su crecimiento (6).

- Análisis del agua utilizada para la investigación

Para la recolección de la muestra de agua se utilizó indicaciones del Laboratorio; se dejó funcionar la bomba de agua una hora previa al muestreo y se llenó totalmente una botella lavada varias veces con la misma agua de muestreo. Posteriormente, se etiquetó con el nombre del propietario, la ubicación, fuente, fecha y hora de la toma de muestra y los parámetros requeridos (pH, CE, cloruro, potasio, fosfato, nitrato y amonio).

El pH del agua estaba en el rango óptimo para el cultivo de Azolla 4.5 a 7.0 (26). No obstante, no se midió el pH del agua una vez fertilizada con Curinaza.

Referente al nitrógeno, el nitrato se encuentra con 1,40 mg/l y el nitrógeno amoniacal por los 2,80 mg/L, el primero equivalente a una concentración de 0,316 mg/N/L y el segundo 2,30 mg/N/L (total de 2,6 mg/N/L).

El cloruro se encuentra por los 49,7 mg/L (sin valor de referencia), el fosfato se encuentra en cantidades no significativas (trazas) y el potasio se encuentra en 7,8 mg/L.

Todos estos resultados se pueden apreciar en el siguiente cuadro:

Cuadro 5. Parámetros de calidad de agua de la propiedad

Parámetro	Unidad	Valor
pH	-	6,7
CE	micromhos/cm	550
Potasio	meq/L	0,20
Cloruro	meq/L	1,40
Fosfato	ppm	Tr
Nitratos	ppm	1,40
Nitrógeno amoniacal	ppm	2,80

Fuente: Elaboración propia

2.3.2. Conclusiones del diagnóstico

Referente al nitrógeno del agua, el nitrato se encuentra con 1,40 mg/L y el nitrógeno amoniacal por los 2,80 mg/L, el primero equivalente a una concentración de 0,316 mg/N/L y el segundo 2,30 mg/N/L (total de 2,6 mg/N/L); aunado la dosificación de Curinaza se llegó de 12,6 – 17,6 mg/N/L. Se mantuvo para los ensayos estas cantidades, dado que no puede reducirse la cantidad de Curinaza para reducir el nitrógeno porque se disminuiría los otros dos macroelementos que son de mayor importancia (fósforo y potasio).

Se sabe que, aunque Azolla no requiere nitrógeno en el medio, el nivel de nitrógeno en el agua sí afecta su crecimiento y las tasas de fijación de nitrógeno (6). Por otro lado, se indica que el sustrato rico en nitrógeno induce la síntesis y la actividad de la enzima nitrato reductasa, y a la vez la carencia de Nitrógeno en el sustrato, capacita a los simbioses a fijar la proporción de Nitrógeno para cubrir las necesidades (25).

Se mencionan valores óptimos de nitrógeno de 10 a 15 mg/L (4,6).

En cuanto al fosfato del agua, este se encontró en valores traza, por lo que no puede influir en los resultados del estudio. Dosificando la Curinaza se consiguió valores totales de fósforo de 3,92 - 5,89 mg/P/L, encontrándose estos por encima del nivel umbral (0,93 mg/L) para el crecimiento de Azolla (4,6). Se

considera al fósforo el factor de mayor importancia para el crecimiento de Azolla (26).

El potasio en el agua se encuentra por los 7,8 mg/L, con la dosificación de Curinaza se obtuvo valores de 20,53 a 26,91 mg/K/L; siendo los niveles mínimos para el crecimiento de Azolla de 15,6 a 23,5 mg/L (6).

CAPÍTULO III.

MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes

Es preciso hacer mención que no se disponen de estudios del efecto de la Curinaza en el cultivo de Azolla, por lo tanto, la investigación se fundamenta con estudios concernientes a la fertilización, rendimiento y valor nutricional de Azolla.

En los cuadros 6, 7, 8 y 9 se mencionan los estudios de mayor relevancia para fundamentar la investigación.

Cuadro 6. Las plantas acuáticas en un contexto de aprovechamiento sostenible de los recursos naturales I. Azolla spp.

Año y lugar: 1998, Matanzas, Cuba.	Objetivo: Determinar el valor nutricional de muestras de Azolla recolectadas en granjas porcinas colombianas.
Categorías/Variables: Taxonomía, características morfológicas, origen, distribución, hábitat, rendimiento, composición química y uso de la Azolla como alimento animal y biofertilizante.	Metodología: Estudio bibliográfico.
Resultados: 1) Azolla es una planta con elevados rendimientos, como los encontrados en los llanos occidentales de Colombia, donde este helecho produjo 432 t/ha/año en base húmeda en lagos de 0,5 - 1 m de profundidad, equivalente a 118,36 g/m ² /día. 2) En Colombia, además del citado anteriormente, se han dado a conocer rendimientos promedio entre 133 y 200 g/m ² /día en base verde, es decir, entre 7 y 10,5 g de MS/m ² /día. 3) <i>Azolla spp.</i> es, además de <i>E. crassipes</i> y Lemna, la única planta acuática que posee la evaluación más completa de su composición química, según el análisis bromatológico de <i>A. filiculoides</i> , donde se obtuvo la Composición de Azolla en % en base seca con resultados de PB (30,46), MS (5,00), FB (18,12), ENN (29,60), P (0,40), Ca (1,00), Grasa (3,08) y Cenizas (18,74). 4) Otros autores solo dan a conocer los valores de PB y MS, los cuales varían entre 23 y 30 % y entre 5 y 7 % respectivamente; los mayores valores se han obtenido en aguas fertilizadas.	

Fuente: Elaboración propia con resultados del estudio de Suarez y García (3).

Cuadro 7. Efecto de la fertilización en el rendimiento de *Azolla filiculoides*, un alimento para la acuicultura

<p>Año y lugar: 2017, Valle de Cauto, Cuba.</p>	<p>Objetivo: Evaluar la producción de <i>Azolla filiculoides</i> con el empleo de fertilizantes orgánicos e inorgánicos.</p>
<p>Categorías/Variables: Fertilización orgánica e inorgánica. Biomasa seca y fresca de <i>Azolla filiculoides</i>.</p>	<p>Metodología: Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, con tres réplicas. Los tratamientos (T) consistieron en aplicar: T₁ (control), T₂ (20 g de dos minerales combinados: 18 de Nitrato de amonio y dos de superfosfato triple), T₃ y T₄ (280 y 560 g de excreta porcina), respectivamente.</p>
<p>Resultados:</p> <p>1) El rendimiento en biomasa fresca, no difiere entre los tratamientos con fertilización (T₂, T₃ y T₄), pero si con respecto al T₁ (testigo).</p> <p>2) El cultivo de la <i>Azolla filiculoides</i> fertilizada con excreta porcina posibilitó obtener rendimientos favorables de biomasa fresca de 5,76 g/m²/día que representan 20,75 t/ha/año en las condiciones específicas del Valle del Cauto.</p>	

Fuente: Elaboración propia con resultados del estudio de Méndez Martínez *et al.* (2).

Cuadro 8. Azolla sp., un alimento de alto valor nutricional para la acuicultura

Año: 2018.	Objetivo: Caracterizar Azolla sp.
Categorías/Variables: Características botánicas, morfológicas, rendimiento, producción de biomasa, composición química, alimentación animal y otros usos.	Metodología: Estudio bibliográfico.
<p>Resultados:</p> <p>1) Cuando se asegura un nivel de fertilización a concentraciones de 15 mg N/L y 0,2 – 6,1 mg P/L se logran concentraciones de proteína bruta y fibra de 40 – 43% y 5%, respectivamente.</p> <p>2) La composición de Azolla en condiciones medias de crecimiento de índice (% MS) es de Materia seca 6,5%, Nitrógeno 4,5, Proteína Bruta 33%, Fibra 9,2%, Fósforo 0,49%.</p> <p>2) Según datos filipinos, la composición química de Azolla en por ciento en base seca es la siguiente: Cenizas: 21,12, Fibra cruda: 12,38, Extracto etéreo: 0,78, Proteína cruda: 30,03, Energía bruta en kJ/g/MS: 17,77, Caroteno, mg/kg: 421, Xantofilas mg/kg: 2808.</p> <p>5) En datos informados para <i>Azolla filiculoides</i> cultivada específicamente para un experimento de alimentación porcina en estanques con 40 cm de profundidad, fertilizados con pollinaza a razón de 10 g/m² por día, se cosecho Azolla con un contenido de proteína de 23% en base seca y un rendimiento estimado de 39 t MS/ha por año, lo que equivaldría a la producción de 9 t de proteína/ha considerado como un valor alto.</p> <p>6) El rendimiento anual de Azolla en crecimiento en canales de irrigación en China revelo resultados de 150 – 187 t/ha. Una hectárea de Azolla es capaz de producir de 1– 2 t de forraje fresco por día, equivalente a 10–30 kg de proteína/día.</p> <p>7) Peña señala que en un mes 1 ha de Azolla produce de 6 – 8 t de MS ha /año.</p> <p>8) De este helecho se obtuvo en condiciones de invernadero un rendimiento de 30.9 – 69.10 g m²/ día de Materia Fresca.</p>	

Fuente: Elaboración propia con resultados del estudio de Méndez Martínez *et al.*(4).

Cuadro 9. Uso de algas y macrófitas acuáticas como alimento en acuicultura a pequeña escala

<p>Año y lugar: 2009, Roma, Italia.</p>	<p>Objetivo: Revisar las características de las materias primas acuáticas para su uso como alimentos en acuicultura a pequeña escala.</p>
<p>Categorías/Variables: Clasificación, importancia, requisitos medioambientales, producción, composición química, uso en la acuicultura, estudios experimentales y estudios de campo.</p>	<p>Metodología: Estudio bibliográfico.</p>
<p>1) Azolla duplica su biomasa en 3 a 10 días dependiendo las condiciones y alcanza fácilmente una cosecha de 8-10 toneladas/ha de peso fresco en los arrozales asiáticos; Se han reportado 37.8 toneladas/ha de peso fresco (2.78 toneladas/ha de peso seco) para <i>A. pinnata</i> en India.</p> <p>3) El porcentaje de materia seca de las diferentes especies de Azolla varía ampliamente y hay poco acuerdo entre los datos publicados sobre este tema: sin embargo, los valores del 5 al 7 por ciento pueden tomarse como estimaciones justas.</p> <p>4) En general, el contenido de proteína cruda es de aproximadamente 19-30 por ciento de base de MS durante las condiciones óptimas para el crecimiento. En condiciones naturales, los valores cercanos al 20-22 por ciento son frecuentes.</p> <p>5) Como la mayoría de las otras macrófitas acuáticas, Azolla tiene un alto contenido de cenizas, que varía entre 14-20 por ciento.</p> <p>6) No se produce una clara diferencia interespecífica en los niveles de lípidos crudos de varias especies de Azolla; el valor es de alrededor del 3-6 por ciento en base a MS.</p>	

Fuente: Elaboración propia con resultados del estudio de Hassan y Chakrabarti (26)

3.2. Marco conceptual

- **Curinaza o Cuyinaza:**

Estiércol de cuy (*Cavia porcellus*) (14). El cuy (cobayo o curí) es un mamífero roedor originario de la zona andina de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú (27). Estiércol son excrementos y orinas de animales de granja, con o sin cama, que pueden haber sufrido o no procesos de transformación (28).

- **Fertilizantes:**

Los fertilizantes son sustancias que se aplican directa o indirectamente a las plantas, para favorecer su crecimiento, aumentar su producción o mejorar su calidad (13).

- **Azolla:**

La Azolla es un género de la familia Azollaceae de helechos criptógamos que flotan libremente en la superficie del agua (29,30).

- **Rendimiento:**

Proporción entre el producto o el resultado obtenido y los medios utilizados (15).

- **Biomasa:**

Toda materia orgánica originada en un proceso biológico (16).

- **Valor nutricional:**

El valor nutritivo de cada alimento es el conjunto de nutrimentos que posee (17).

3.3. Marco teórico

3.3.1. Estiércol

La composición del estiércol es muy variable, ya que depende de muchos factores, tales como la especie y edad del ganado, el uso de camas, la inclusión o separación del excremento líquido y la magnitud de los procesos de descomposición y lavado que hayan tenido lugar durante el almacenamiento. El contenido en fósforo del estiércol es relativamente bajo, comparado con las necesidades de los cultivos. Además, parte del fósforo (así como parte del nitrógeno y otros elementos) no se encuentran en el estiércol inmediatamente disponibles para las plantas. Generalmente es aconsejable complementar los estercolados con un fertilizante fosforado que, en ocasiones, se mezcla con el estiércol constituyendo lo que se ha denominado estiércol reforzado (31).

Debido a su bajo contenido de fósforo, que ocasiona un desbalance con relación al nitrógeno y al potasio, el estiércol se reforzase con alguna fuente de este elemento. En términos generales se recomienda mezclar 20 a 30 Kg de superfosfato simple o 10 a 15 Kg de superfosfato triple con cada tonelada de estiércol, o un equivalente a 0,3 – 0,5 Kg. por cada 30 Kg de estiércol producido (cantidad producida por una vaca durante 24 horas) (32).

3.3.2. Estiércol de cuy, Curinaza o Cuyinaza

El cuy genera gran cantidad de estiércol que puede ser utilizado como abono orgánico ya que contiene abundantes nutrientes, importante para el desarrollo de la agricultura o la lombricultura (33).

La producción de estiércol del cuy es la más alta en cantidad y calidad en comparación a otras especies, cuya incorporación al suelo mejora la textura y la proliferación de microorganismos, lo cual permite un cultivo limpio, libre de agroquímicos y residuos nocivos para la salud humana (34).

El cuy se destaca como excelente productor de estiércol tanto en cantidad como en calidad. El cuy se sitúa en segundo lugar como productor de 35,55 TM por cada 1 kg de porcino. Pero al analizar la cantidad de nitrógeno contenida en la producción anual de estiércol se obtiene 437,62 kg al año, ubicando al cuy en primer lugar (Ver cuadro 10). Esto es muy importante cuando se trata de implementar pequeños sistemas de producción familiar, con los cuyes como fuente de estiércol para la agricultura sostenible en parcelas familiares (35).

Cuadro 10. Valor del estiércol de cuy comparado con otras especies

Espece	Toneladas/año	N (kg/t)	N (kg/año)	Valor de estiércol en función del N producido USD (2007)
Cerdo	35.55	04.50	159.55	92.53
Cuy	29.02	15.08	437.62	253.81
Vaca	26.66	05.04	134.36	77.92
Caballo	17.77	06.20	110.17	63.89
Oveja	13.33	12.60	167.96	97.41
Gallina	10.00	14.20	142.00	82.36

Fuente: Avilés y Martínez (2014)

Se exponen los elevados valores de Nitrógeno (15.08 kg/tonelada de estiércol) superiores a cerdos, vaca, caballo, ovejas, incluso gallinas. La presencia de constituyentes orgánicos permite la aplicación de opciones de gestión. Estas alternativas pueden ser aplicadas en dependencia de las condiciones económicas, espacios disponibles en las granjas, cantidades de residuos generados y potenciales aplicaciones. Siendo viable la producción de abonos orgánicos con técnicas de compostaje, o la digestión anaeróbica para la producción de biogás y bioles, que también pueden emplearse como fertilizantes orgánicos en la aplicación de cultivos. Van't Hooft afirma que el estiércol de los cuyes posee un alto contenido de Nitrógeno (N), fosforo (P) y Potasio (K) al ser empleado para uso agrícola (36).

El estiércol que se obtiene de animales alimentados con forrajes verdes es comparativamente superior al de los alimentados con concentrados, esto debido a que los últimos están formulados para ser absorbidos completamente por el animal y su estiércol es pobre en nutrientes para el suelo. Por otro lado, el estiércol de animales criados bajo sombra será más rico en nutrientes y microorganismos por la menor exposición al ambiente. Los estiércoles de cuy y conejo cumplen estas características (37).

Cuadro 11. Producción y contenido de nutrientes del estiércol de las diferentes especies

Especie (1000 kg PV)	Tn/año	N (%)	P (%)	K (%)
Cuy	29.0	2.9	1.6	0.83
Cerdo	35.5	0.49	0.34	0.47
Vacuno	26.6	0.78	0.23	0.62
Ave	10.0	1.0	0.8	0.39

Fuente: Aliaga *et al.* (38)

3.3.3. Plantas macrófitas

Las plantas acuáticas, también llamadas macrófitas, cumplen un papel sustancial en los ecosistemas acuáticos ya que brindan directa o indirectamente alimento, protección y un gran número de hábitats para muchos organismos. Muchas de estas plantas son útiles para el ser humano, puesto que sirven de alimento, son materia prima para la industria y se usan en procesos de biorremediación, ya que pueden absorber algunas sustancias disueltas y brindar oxígeno mediante la fotosíntesis. Sin embargo, en algunos cuerpos de agua artificiales podrían crear problemas, porque pueden interferir con el uso que le da el hombre a esa agua al obstruir su flujo o la navegación y al crear ambientes propicios para plagas, enfermedades y vectores que afectan la salud humana (39).

Las plantas macrófitas constituyen potencialmente un recurso valioso de nutrientes dietéticos para especies acuícolas (omnívoros como herbívoros). Sin embargo, su alto contenido de agua (rango de 75-95 %) puede ser indeseable desde el punto de vista económico cuando son usados para animales de granja (altos costos de secado) (40). Sin embargo, el Consorcio para el Desarrollo Sostenible de la Ecorregión Andina (CONDENSAN, 1999) indica que en el caso de la lenteja de agua que se desarrolla en el lago Titicaca resulta fácil y rápido eliminar el alto contenido de agua en simples bastidores de madera debido a la altitud. Luego esta constituye un suplemento ideal rico en proteínas para el engorde de las ovejas, cuya ganancia de peso es un 72 % superior a la de las ovejas alimentadas con la dieta tradicional (41).

En todo el mundo, y particularmente Asia, los agricultores han cosechado plantas acuáticas producidas naturalmente para una serie de propósitos, incluyendo piensos, abono verde y recursos alimentarios familiares. Además, indica que la conciencia creciente sobre la contaminación del agua y su amenaza para la ecología y la agricultura se ha centrado también en los mecanismos biológicos potenciales para limpiar el agua de estas impurezas haciéndola potable y disponible para su reutilización. Los más conocidos de estos incluyen las plantas flotantes libres; lechuga de agua (*Pistia*), jacinto de agua (*Eichhornia*), lenteja de agua (*Lemna*) y *Azolla* (3,42).

Las plantas acuáticas son alternativas que se presentan para el desarrollo de sistemas apropiados de producción rentable desde el punto ambiental, económico y humano (4).

3.3.4. Azolla

La *Azolla* es un género de la familia Azollaceae de helechos criptógamos flotantes libremente. El nombre se deriva de las palabras griegas Azo (secar) y Ollya (matar) lo que significa que al helecho lo mata la sequía, por lo que apenas puede considerarse descriptivamente como específico (29).

Con nombre común se le conoce a la Azolla, como “helecho de agua”, “helecho flotante”, “doradilla”, “yerba del agua”. En inglés se refieren a ella como “fairymoss”, “carolina mosquito-fern”, o “eastern mosquito-fern” (4). Es catalogada también como una “mina de oro verde”, debido a que puede utilizarse como biofertilizante en una variedad de cultivos, alimento para animales, alimento humano, medicamento y purificador de agua, producción de combustible de hidrógeno, producción de biogás, control de malezas, control de mosquitos y la reducción de la volatilización de amoníaco que acompaña a la aplicación de fertilizantes nitrogenados químicos (6).

El desarrollo de sistemas sencillos para el cultivo de la Azolla sp. es una necesidad para lograr mayor eficiencia en los sistemas de producción integrado, donde el reciclaje es el principio fundamental, ya que un producto (residuo) con bajo valor nutritivo es transformado en energía (gas para diferentes usos en el sistema) y nutrientes (proteínas de alta calidad) para la alimentación animal, extrayendo todos los nutrientes que se encuentran en exceso y transformándola en biomasa fresca, por lo que la tecnología de reciclaje y protección del medio ambiente permite una recuperación considerable de proteínas (4).

3.3.5. Taxonomía, distribución y hábitat

El género incluye seis especies distribuidas ampliamente a lo largo de las regiones templadas, subtropicales y tropicales del mundo (26). *A. pinnata* que es la más abundante en Asia, *A. nilotica* (norte de África), *A. filiculoides* (Sudamérica meridional hasta Norteamérica occidental) *A. caroliniana* (Norteamérica oriental y el Caribe), *A. mexicana* (Sudamérica septentrional hasta Norteamérica occidental) y *A. microphylla* (América y subtropical) (29).

Las seis especies reconocibles dentro del género se agrupan en dos subgéneros: Euazolla y Rizosperma, las cuatro especies del subgénero Euazolla son *A. filiculoides*, *A. caroliniana*, *A. mexicana* y *A. microphylla*; las dos especies del subgénero Rizosperma son *A. nilotica* y *A. pinnata* (26).

3.3.6. Morfología

Se describe *Azolla spp.* como un tallo principal que crece en la superficie del agua. Los tallos secundarios se desarrollan en la axila de ciertas hojas. Las frondas de *Azolla* son triangulares o poligonales y flotan en la superficie del agua individualmente o en esteras (26).

Consiste en un corto tallo ramificado que posee raíces que cuelgan hacia abajo en el agua. Cada hoja es bilobulada, el lóbulo superior contiene clorofila verde mientras que el lóbulo inferior es incoloro. Bajo ciertas condiciones, también existe un pigmento de antocianina, que le confiere al helecho un color entre rojiza y carmelita. La coloración mencionada está asociada con la sobrefertilización del reservorio acuático, mucha contaminación o también un exceso de luz solar. La *Azolla* prefiere más un lugar sombreado que estar a plena luz solar (30).

Esta macrófita está compuesta por multitud de hojas pequeñas bilobuladas (fondees) de 2–4 mm, pero juntas consiguen una planta de gran extensión, en estas hojitas el color oscila, entre rojo y púrpura a pleno sol y de verde pálido a verde azulado en las zonas de sombra. Las diminutas plantitas de aproximadamente 1-2 cm, constan de gran cantidad de hojitas, dispersas en forma imbricada alrededor de un tallo. Consta de tallos profusamente ramificados que poseen raíces que cuelgan hacia abajo en el agua las raíces son auténticas, surgen de forma endógena con pelos radicales. Presenta esporocarpios que se forman en grupos de dos o cuatro en la axila del lóbulo dorsal de la hoja basal de cada rama. Los tallos están recubiertos de hojas bilobuladas alternas, cada una de las cuales consta de un lóbulo ventral aclorofílico sumergido y otro lóbulo dorsal clorofílico que contiene cavidades con el alga *Anabaena*, dado a que vive en simbiosis con un alga helecho, existiendo filamentos apenas visibles de algas azul-verdes, *Anabaena Azollae* (4).

El esporofito consiste en un tallo flotante que consta de un eje principal con nudos de los que parten ramas laterales y verdaderas raíces. Las raíces están

sumergidas en el agua y poseen una cofia terminal y numerosos pelos radicales, cuyo desarrollo parece estar controlado indirectamente por el microsimbionte, ya que su contribución al peso fresco es mayor en plantas que carecen de la cianofíceca (8).

3.3.7. Reproducción

Azolla es descrita como una planta de gran capacidad de propagación y crecimiento, de tamaño pequeño, que en condiciones óptimas de nutrientes es capaz de alcanzar gran volumen de producción. La forma de propagación se da por reproducción sexual, a través de esporas, como es propio de los helechos y también asexual, a través de pequeños fragmentos de la planta, ocurriendo división espontánea (brote lateral) de las plantas (4).

La Azolla tiene un ciclo esporofítico y en el caso de *A. filiculoides* de climas templados el desarrollo ocurre en los meses de verano. Todavía no se ha encontrado un método para inducir el ciclo esporofítico. Hasta que se encuentre un procedimiento para reproducir el ciclo esporofítico, la Azolla se tiene que reproducir vegetativamente. La reproducción varía con el clima, especialmente la temperatura.

Los experimentos han demostrado que la Azolla puede duplicar su peso en un substrato exento de nitrógeno entre tres y cinco días. Generalmente la Azolla se quintuplica en un periodo de cinco semanas (29).

Azolla generalmente se reproduce vegetativamente por fragmentación de la capa de abscisión, en la base de cada rama. La reproducción sexual no es muy común y parece estar influenciada por factores ambientales (44).

Como se puede apreciar, la Azolla tiene muy diversificada su propagación, lo que la dota de una alta capacidad de adaptación en aquellas condiciones donde sea factible su crecimiento y desarrollo. Además de propagarse mediante esporas por ser helecho, se propaga por fragmentación de sus partes, forma muy común en las plantas acuáticas (3).

Azolla duplica su biomasa en 3 a 10 días dependiendo de las condiciones (26). Este helecho se multiplica generalmente de forma vegetativa, y puede duplicar su biomasa en cuatro días (30).

3.3.8. Fijación del CO₂ y nitrógeno atmosférico

El helecho acuático *Azolla filiculoides* vive en simbiosis con una Nostocácea (*Anabanea azollae*). La Cianofícea vive en las cavidades o criptas que se abren en la cara interior de la hoja (45).

A diferencia de casi todas las demás plantas, Azolla puede obtener su fertilizante nitrogenado directamente de la atmósfera. Eso significa que es capaz de producir biofertilizantes, piensos, alimentos y biocombustibles exactamente donde se necesitan y, al mismo tiempo, extraer grandes cantidades de CO₂ de la atmósfera, lo que ayuda a reducir la amenaza del cambio climático. El profesor Jonathan Bujak y su asistente Alexandra Bujak realizaron experimentos bajo la organización de la Fundación Azolla y anunciaron que Azolla secuestró 32,54 toneladas métricas de CO₂/hectárea/año después de 18 días de crecimiento con un 10% de cobertura inicial de *A. filiculoides*. (11). Se informa la aplicación de Azolla como un sistema de apoyo de vida ecológica controlada (CELSS) por su gran capacidad de liberación de oxígeno fotosintético (26).

Azolla, que es un miembro de la familia de helechos, crece ampliamente en asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno, lo que le permite producir en aguas bajas en N pero que contienen fósforo (42). Es una especie catalogada como invasora, sin embargo, su simbiosis con Cyanophyta les da un gran valor agronómico como fijadora de nitrógeno atmosférico, muy usada como abono verde y forraje. Pues presenta un mayor potencial de fijación de nitrógeno que la asociación Rhysobiun-Leguminosa (4).

Un simbionte extracelular (8), la *Anabaena azollae*, que vive en las cavidades de las frondas del helecho, es capaz de usar su propia energía fotosintética

para fijar el N atmosférico y producir amonio, lo que es aprovechado por la Azolla para cubrir sus propios requerimientos de N (30). Azolla proporciona un entorno protegido y una fuente fija de carbono para *Anabaena spp.* (26).

Raramente se ha encontrado el helecho en condiciones naturales libres del microsimbionte (8). No está claro si el simbiote es el mismo en las diversas especies de Azolla (26).

La simbiosis Azolla-Anabaena es, por lo tanto, un eficiente fijador de N₂ atmosférico (8). Aun así, algunos factores ambientales tales como las condiciones del suelo, del agua y las técnicas de cultivo, influyen de una forma importante en el contenido de nutrientes de la Azolla (4).

El sistema simbiótico tiene gran importancia en aguas deficientes en N, que no pueden mantener el crecimiento de plantas acuáticas no fijadoras, ya que es capaz de utilizar la energía solar para la producción primaria y el microsimbionte puede cubrir las necesidades de N de la asociación (8). Aun así, algunos factores ambientales tales como las condiciones del suelo y del agua, así como las técnicas de cultivo, influyen de una forma importante en el contenido de nutrientes de la Azolla (30).

Entre los principales factores que condicionan la distribución del sistema *Azolla Anabaena* se encuentran la temperatura, la luz, la concentración de sales, el pH y la presencia de ciertos nutrientes (8).

3.3.9. Condiciones óptimas para el cultivo de Azolla

3.3.9.1. Viento

Los fuertes vientos pueden acumular Azolla a un lado del tramo de agua, creando una condición de hacinamiento y ralentizando así el crecimiento (26). La planta prefiere aguas tranquilas o de poco movimiento (3).

Es importante que alrededor del talud se siembren plantas que realicen la función de cortina rompe vientos debido a que el viento es un factor negativo

para la producción de estas macrófitas provocando su amontonamiento en la orilla y por consiguiente gran parte de la biomasa mueren por falta de nutrientes (4).

3.3.9.2. Intensidad lumínica

En *A. filiculoides* el máximo crecimiento se da a una intensidad lumínica menor de la mitad de la que existe a pleno sol. La actividad fijadora de N en la oscuridad representa un 25-30 % de la existente bajo la luz en *A. pinnata* y similar en *A. caroliniana* y *A. filiculoides*. Esa reducción del 70-75 % se debe a la restricción en el aporte de azúcares cuando hay ausencia de fotosíntesis, y la actividad remanente se realiza a expensas de los fotosintatos de reserva suministrados por el helecho (8).

La Azolla requiere del 25 al 50 por ciento de luz solar total para su crecimiento normal; una leve sombra es beneficiosa para su crecimiento en condiciones de campo. La producción de biomasa disminuye en gran medida a una intensidad de luz inferior a 1500 lux (26).

La energía solar óptima para el crecimiento de Azolla es de 20.000 a 50.000 lux y que la gama permisible es de 5.000 a 100.000 lux (29).

Azolla spp. generalmente crecen mejor en luz solar menos intensa, excepto en latitudes altas durante la primavera. Los resultados de los experimentos difieren según la latitud donde se realizaron. Además de afectar la fotosíntesis, la luz parece regular la actividad de la nitrogenasa en Azolla independientemente de la fijación de CO₂ (6).

No presenta problemas con respecto a la luz, adaptándose a condiciones de estanque a pleno sol o en acuario bajo un potente HQI, o bien en la sombra. Su coloración suele variar, pues con iluminación intensa su color se muestra más rojo, mientras que es verde-azulada en condiciones de poca luz. También se plantea que necesita suficiente luz para poder existir, por lo menos 10 horas diarias (4).

3.3.9.3. pH

Puede desarrollarse a amplios rangos de pH, superiores a 4 (3). Puede sobrevivir a un pH de agua que oscila entre 3.5 y 10, reportando que el crecimiento óptimo ocurre a pH 4.5 a 7.0. El crecimiento de Azolla fue óptimo a pH 5.5 (26).

El sistema simbiótico puede desarrollarse dentro de un intervalo de pH de 4-10; el máximo crecimiento tiene lugar a pH bajo -5- con poca luz o a pH de 9-10 con luz intensa (8). A alta intensidad de luz (60,000 lux), el pH óptimo es de 9-10, mientras que a baja intensidad de luz (15,000 lux), el pH óptimo es de 5-6. Se encontró que la fijación de nitrógeno era óptima a un pH de 6.0 con una temperatura de 20 °C (6).

3.3.9.4. Salinidad

Para que la Azolla crezca bien, el contenido en sal del agua debe ser inferior a 0,1 % (29).

La tolerancia a la salinidad de las especies de Azolla también varía. La tasa de crecimiento de *A. pinnata* disminuye a medida que su salinidad aumenta por encima de 380 mg/L (26).

3.3.9.5. Temperatura

En el cuadro 12 se clasificaron diferentes especies de Azolla de las más tolerantes al calor, basándose en la temperatura óptima para un buen crecimiento. La tolerancia a la temperatura de Azolla varía ampliamente entre sus especies y cepas. En general, Azolla tiene baja tolerancia a altas temperaturas y eso restringe su uso en la agricultura tropical (26).

Cuadro 12. Tolerancia a la temperatura de cinco especies de Azolla

Subgénero	Especies	Temperatura del agua °C		
		Mínimo	Máximo	Óptimo
Euazolla	<i>A. filiculoides</i>	0-10	38-42	20-25
	<i>A. caroliniana</i>	<0-10	45	20-30
	<i>A. mexicana</i>	-	-	30-33
	<i>A. microphylla</i>	5-8	45	25-30
Rhizosperma	<i>A. pinnata</i>			
	<i>A. pinnata</i> <i>var. pinnata</i>	<5	>40	16-33
	<i>A. pinnata</i> <i>var. imbricata</i>	0	45	20-30

Fuente: Modificado de Cagauan y Pullin (26)

Los experimentos han indicado *A. filiculoides* crece mejor a temperaturas inferiores a 25 °C (29).

Algunas Azollas, como *A. pinnata* y *A. filiculoides* son resistentes a las heladas, si bien la congelación de la superficie del agua produce su muerte. El crecimiento y la fijación de N₂ en *A. filiculoides* son casi nulos a 10 °C, incrementándose exponencialmente hasta los 25 °C, pero por encima de los 30 °C decrecen rápidamente y las exposiciones prolongadas a 40 °C son letales. (8).

3.3.9.6. Humedad

La humedad relativa óptima es de 85 - 90 %; si la humedad es inferior a 60 % o superior a 100 % la Azolla no crece (29). La humedad relativa óptima para el crecimiento de Azolla es entre 85 - 90 por ciento. La Azolla se vuelve seca y frágil a una humedad relativa inferior al 60 por ciento. (26).

3.3.9.7. Nutrientes

Normalmente, los nutrientes deben estar disponibles en el agua, aunque en aguas muy poco profundas Azolla puede extraer algunos nutrientes del suelo. Además, los niveles adecuados de nutrientes deberían mantenerse durante todo el período de crecimiento. Azolla requiere todos los elementos esenciales requeridos por otras plantas más molibdeno (un componente esencial de la nitrogenasa) y cobalto, que son necesarios para la fijación de nitrógeno (6).

- **Fósforo:**

Azolla necesita todos los macro y micronutrientes para su crecimiento normal y multiplicación vegetativa. Todos los elementos son esenciales; el fósforo es a menudo el elemento más limitante para su crecimiento. Para un crecimiento normal, se requiere 0.06 mg/L/día. Este nivel se puede lograr en condiciones de campo mediante la aplicación de superfosfato en fracciones de 10 - 15 kg/ha (26).

Azolla no requiere altas concentraciones de nitrógeno pero si presenta exigencias de fósforo del orden de 0,7 g de P/m²/semana para condiciones medias de crecimiento (4).

Cuando se probaron con niveles de nutrientes de fósforo (H₂PO₄) de hasta 40 mg/P/L en experimentos de invernadero, *A. filiculoides* alcanzó la biomasa máxima a 20 mg/P/L (6); cantidad recomendada como concentración óptima. Los síntomas de la deficiencia de fósforo son frondas de color rojo (debido a la

presencia del pigmento antocianina), disminución del crecimiento y raíces rizadas (26).

La planta acuática juega un papel importante en la remoción fósforo, que es el nutriente crítico para efectos de eutrofización, además, en términos de nitrógeno total y fósforo total, el sistema con Azolla permite cumplir con las regulaciones para vertimiento a cuerpos receptores y para recirculación en cría de tilapia (9).

- **Nitrógeno:**

Aunque Azolla no requiere nitrógeno en el medio, el nivel de nitrógeno en el agua sí afecta su crecimiento y las tasas de fijación de nitrógeno. Cuando se analizaron con niveles de nitrógeno (amonio y nitrato) de hasta 10 mg/N/L, *A. pinnata* mostró un crecimiento máximo a 1 mg/N/L, mientras que *A. filiculoides* mostró un crecimiento máximo a 10 mg/N/L (6).

Singh *et al.* (6) encontraron que las tasas de crecimiento relativo de *A. caroliniana* y *A. pinnata* eran más altas a un nivel de nitrato de 5 mM que en el medio libre de nitrógeno. Sin embargo, niveles más altos de nitrato redujeron el crecimiento.

Hechler y Dawson (6) encontraron que la fuente de nitrógeno afectaba la respuesta de *A. caroliniana*. Mientras que 10 mg/N/L de NO_3^- aumentaron la tasa de crecimiento, la misma concentración de nitrógeno amoniacal disminuyó la tasa de crecimiento y la urea no tuvo efecto.

Por otro lado, Fay conjuntamente con Peters & Calvert (25) afirman que el nitrógeno es un elemento estructural de las clorofilas y al estar disponible en la forma inorgánica (NO_3^- , NH_4^+) en el medio, pasa a formar parte de las moléculas fotosintéticas, mientras que el Nitrógeno fijado por los simbiontes mayormente se ubica en moléculas orgánicas y un menor porcentaje se incorpora en las clorofilas de hospedero y simbionte. Por otro lado, se observó cierta tendencia hacía una mayor actividad Nitrogenasa en las plantas crecidas sin Nitrógeno, a

su vez una mayor actividad Nitrato Reductasa en aquellas plantas crecidas con suplemento nitrogenado; el sentido de que el sustrato induce la síntesis y la actividad de la Nitrato Reductasa. y a la vez la carencia de Nitrógeno en el sustrato, capacita a los simbioses a fijar la proporción de Nitrógeno para cubrir las necesidades.

- **Otros nutrientes:**

Los niveles de umbral de P, K, Mg y Ca requeridos en el medio para el crecimiento de Azolla fueron aproximadamente 0,03, 0,4, 0,4 y 0,5 mmol/L, respectivamente; mientras que la actividad total de la nitrogenasa requirió 0,03, 0,6, 0,5 y 0,5 mmol/L, respectivamente. Los niveles de umbral de los micronutrientes Fe, Mn, Mo y B para el crecimiento de la Azolla fueron de 50, 20, 0,3 y 30 µg/L, respectivamente (6).

3.3.9.8. Métodos de cultivo, siembra y cosecha

Investigaciones recomiendan la siembra en estanques con profundidad entre 0,7 y 1,0 m, aunque se han obtenido buenos resultados a 0,4 m. Se considera que esta planta, al igual que el resto de las plantas acuáticas, tiene un ciclo de cosecha de 3 - 7 días y recomiendan dejar en el estanque el 25 % como semilla para el próximo cultivo, la forma más común de cosecha es la manual (3,4).

Una profundidad de agua superficial de 5 cm o menos es la mejor, aunque Azolla puede crecer satisfactoriamente a mayores profundidades (6).

Para producir helecho y lenteja de agua es necesario un canal pequeño, estrecho, con dimensiones de 2 a 4 metros de aproximadamente 30 a 40 cm de profundidad y con acceso a una fuente de residuales, preferiblemente porcinos. El largo del canal debiera guardar relación con el número de cerdos en la nave. Un cerdo, excreta (incluyendo el agua de baldeo) aproximadamente 30 y 40 litros por día con un canal de 2 metros de largo/cerdo. Señalan que se pueden cosechar diariamente o cada 2 días, pues su capacidad de recuperación está en función de la cantidad de plantas (semillas o inóculos) que se dejan en la

superficie del estanque. Esta planta al igual que otras macrófitas acuáticas puede ser cosechada por métodos manuales o mecánicos.

En datos relativos al rendimiento de *Azolla filiculoides* cultivada específicamente para un experimento de alimentación porcina que se sembró *Azolla* en estanques con 40 cm de profundidad, fertilizados con pollinaza a razón de 10 g/m² por día, reponiendo diariamente con agua fresca el 5 % del volumen del estanque para compensar la evaporación en el lugar; se cosecho *Azolla* con un contenido de proteína de 23 % en base seca y un rendimiento estimado de 39 t MS/ha por año, lo que equivaldría a la producción de 9 t de proteína/ha considerado como un valor alto.

Señalan que se pueden cosechar diariamente o cada 2 días, pues su capacidad de recuperación está en función de la cantidad de plantas (semillas o inóculos) que se dejan en la superficie del estanque. Esta planta al igual que otras macrófitas acuáticas puede ser cosechada por métodos manuales o mecánicos. En Asia, la compañía Lemna Corporation diseñó rejillas de plástico que flotan en las lagunas con macrófitas acuáticas, para facilitar la recolección de la planta por medio de maquinaria.

Las plantas acuáticas como *Azolla*, *Salvinia* y *Lemna* se integran en los sistemas de producción animal, crecen en lagunas que recolectan purines de cerdo y luego se utilizan para alimentar a los cerdos. Sin embargo, a pesar del hecho de que millones de pequeños agricultores alimentan a sus cerdos con plantas acuáticas en el mundo, especialmente en Asia, prácticamente no hay información disponible sobre su valor nutricional. (46).

3.3.9.9. Rendimiento

La simbiosis *Azolla*-*Anabaena* es sobresaliente debido a su alta productividad combinada con su capacidad de fijar nitrógeno a altas velocidades. Debido a esto, en las últimas décadas, se han realizado innumerables estudios sobre esta asociación, pero con una síntesis y coordinación insuficientes (6).

En aguas cálidas con un alto contenido de nutrimentos, el crecimiento es muy rápido y en un corto tiempo un colchón vegetal puede cubrir completamente la superficie acuática. Sánchez obtuvo elevados rendimientos en los llanos occidentales de Colombia, donde este helecho produjo 432 t/ha/año en base húmeda en lagos de 0,5-1 m de profundidad (3).

Azolla duplica su biomasa en 3-10 días, dependiendo de las condiciones, y alcanza fácilmente un cultivo en pie de 8-10 toneladas/ha de peso fresco en los arrozales asiáticos. De acuerdo con Ferentinos *et al.* se encontró que la capacidad de fijación de nitrógeno de Azolla variaba de 53 a 1.000 kg/ha con una producción de materia seca de 39 a 390 toneladas/ha, en ciclos de cultivo de 40 a 365 días. La fase de crecimiento lineal generalmente está entre 6 y 21 días y se caracteriza por bajas fracciones de lignina y pared celular (26).

Becerra *et al.* obtuvieron un rendimiento estimado de 39 t MS/ha por año, con un equivalente a la producción de 9 t de proteína/ha (30).

En un estudio realizado por Méndez-Martínez *et al.*, donde se sembraron 25 g/m² de semilla de *Azolla filiculoides* fresca, con un volumen total de agua por estanques de 0,25 m³, el cultivo de fertilizado con excreta porcina permitió obtener rendimientos favorables de biomasa fresca de 5,76 g/m²/día que representan 20,75 t/ha/año en las condiciones específicas del Valle del Cauto (Cuba) (2).

Según Caraballo y Sanchez, el rendimiento anual de Azolla en crecimiento en canales de irrigación en China reveló resultados de 150 – 187 t/ha. Una hectárea de Azolla es capaz de producir de 1 – 2 t de forraje fresco por día, equivalente a 10 – 30 kg de proteína/día.

Peña señala que en un mes 1ha de Azolla produce de 6 – 8t de MS con 540 – 720 kg de proteína cruda y alrededor de 100 – 1564 kg de N: ha/año. La tasa de crecimiento del helecho varía de acuerdo al porcentaje de la radiación solar y a la aplicación de fósforo. Presenta un consumo de fósforo requerido para su

crecimiento normal y la fijación de nitrógeno para obtener la máxima tasa relativa de crecimiento medio de 44,5 g/m²/día de Materia Fresca.

De este helecho se obtuvo en condiciones de invernadero un rendimiento de 30,9 – 69,10 g/m²/día de Materia Fresca.

En estudios realizados por Dolberg *et al.*, reportan valores de rendimiento en aguas fertilizadas de 168 t/ha/año.

Los valores de rendimiento reportados por Pablos y Gonzáles estriban entre las 5 y 168 t/MS/ha/año.

Molinet y Domínguez evaluaron varias plantas acuáticas y obtuvieron un valor máximo de la tasa de crecimiento del cultivo de Azolla de 3,7 – 4,0 g/MS/m²/día y la máxima tasa de crecimiento de este cultivo (Base Seca) fue medido y obtuvieron entre 1,0 – 1,89 kg/m². Por otra parte, Taheruzzaman y Prosad alcanzaron en las aguas contaminadas del río Ganga una producción de materia seca promedio de 1,84 g/m²/día considerada como alta.

El manejo del cultivo de las plantas acuáticas (Azolla) se conoce desde hace tiempo, se manifiesta que poseen un potencial productivo y un tiempo para duplicar la proteína en biomasa celular bastante aceptable de 67 – 120 h y 9 – 16 t/ha/año (4).

3.3.9.10. Composición química

La composición química de la Azolla suele variar según el lugar donde crece, el cambio de estación y el contenido de nutrientes del agua. La composición química de esta planta, depende del balance de nutrientes en la columna de agua y del manejo del cultivo para lograr una óptima composición (4).

- **Factores antinutricionales**

No se han encontrado factores antinutricionales en las macrófitas *Lemna* spp., *Azolla* spp. e *Ipomoea aquatica* que pudieran limitar su uso en alimentación animal, lo que las hace muy atractivas en este sentido (30).

- **Materia seca**

El porcentaje de materia seca de las diferentes especies de *Azolla* varía ampliamente y hay poco acuerdo entre los datos publicados sobre este tema, los valores del 5 al 7 por ciento pueden, sin embargo, tomarse como estimaciones justas (26).

- **Proteína**

Se destaca que las Azollaceas contienen uno de los más altos porcentajes de proteína bruta dentro del reino vegetal, cultivadas en condiciones favorables. El nivel proteico no solamente es alto, sino de muy buena calidad en términos de aminoácidos, vitaminas y enzimas, lo cual puede ser mejorado con la fertilización. Esto se puede explicar por el hecho de que la planta se compone, fundamentalmente, de material metabólicamente activo, pues no necesita desarrollar material estructural y de soporte (2).

Se reportaron valores de 23,4 – 43 % de proteína bruta en la materia seca para la *Azolla* (2,4,26,30,40).

- **Fibra**

Debe esperarse que sea rica en fracciones de fibra, aunque no se considera que la pared celular esté lignificada de la misma manera que en las plantas terrestres, donde es necesario poseer estructuras rígidas de sostén (30).

Se ha demostrado que a medida que el cultivo de *Azolla* envejece, el contenido de lignina se incrementa desde 3 a 24% y aunque la concentración de nitrógeno permanece prácticamente constante. Aumenta el nitrógeno asociado a la fibra y

por tanto la digestibilidad de la materia seca y el nitrógeno disminuye significativamente. El contenido de fibra varía del 5 – 16,5 % (4,26,30).

Se reporta una composición de Azolla sp. con 11,3% hemicelulosa, 23% Lignina en base seca (40).

- **Cenizas**

Azolla tiene altos contenidos de cenizas, que varían entre 12,5 - 21,12 por ciento en base a MS (4,26,30).

- **Grasas**

El valor es alrededor de 0,78 - 6 por ciento en base a MS (4,26,30)

- **Carbohidratos y valor energético**

Se reportan valores de energía bruta de 16,32 a 17,77 kJ/g de MS para Azolla (4,30). Se reporta un ELN de 49,1 (40).

- **Vitaminas**

El contenido de caroteno y xantofilas de estos tipos de helecho (Caroteno 421 mg/kg y Xantofilas 2808 mg/kg mostraron estar presentes en proporciones de importancia (4,30).

- **Minerales**

El contenido de calcio reportado va de 0,4 – 1,7 %, el de fósforo de 0,2 a 1,6 % (3,4,40), el potasio de 0,3 a 6,0 % (3), sodio 0,48 a 1,24 % (30), magnesio 0,15– 0,65 %, hierro 0,2 a 0,6 % (4,30), manganeso 0,20 - 0,27 %, cobre 15,90 - 17,55 ppm y Cinc 46,77 - 71,75 ppm (30).

- **Aminoácidos esenciales (AAEE)**

Otros autores manifiestan que la *Azolla* sp. Aparenta ser una fuente de aminoácidos pues al ácido aspártico y glutámico representa más del 60% de los aminoácidos no esenciales.

Tal vez uno de los aspectos que deben llamar más la atención, es que esta al igual que otras macrófitas parece contener un nivel relativamente bajo de metionina, lo que debe tenerse en cuenta si la proteína de estas plantas contribuye con una alta proporción al alimento de los animales. Destacándose además el contenido relativamente alto de triptófano en la *Azolla* (0,44%). Como es sabido, este es otro aspecto importante a tener en cuenta, sobre todo cuando se manipulan alimentos no convencionales, cuya composición química no es muy conocida. En este sentido, llamar la atención sobre la necesidad de conocer el contenido de ciertos aminoácidos, como todos los azufrados, y el triptófano, no es ocioso (4).

Por lo general, estas especies son bajas en metionina, pero altas en lisina (excepto *A. pinnata*). *A. microphylla* es más rico en todos los AAEE, excepto en metionina. La especie más pobre con respecto a la mayoría de los AAEE es *A. filiculoides*, aunque los contenidos de lisina y metionina en esta especie son moderados. La composición de AAEE de las especies de *Azolla* es comparable a la de las plantas acuáticas comúnmente utilizadas como ingredientes de alimento para peces. Los contenidos de lisina y metionina de la mayoría de las especies de *Azolla* parecen ser más altos que algunas fuentes de proteínas vegetales "convencionales" (26).

Los datos filipinos con respecto a la composición en aminoácidos de muestras de *Azolla* aparecen en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Composición en aminoácidos de Azolla. Datos filipinos

Aminoácidos esenciales	% en materia seca
Arginina	1,24
Histidina	0,45
Isoleucina	1,29
Fenilalanina	1,46
Leucina	2,43
Lisina	1,27
Metionina	0,54
Treonina	1,20
Triptófano	0,44
Valina	1,57
Aminoácidos no esenciales	% en materia seca
Alanina	1,82
Acido aspártico	2,31
Acido glutámico	4,88
Glicina	1,64
Prolina	1,04
Serina	1,19
Tirosina	1,06

Fuente: Castillo *et al.* (30)

CAPÍTULO IV.

DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Enfoque de investigación:

Cuantitativo:

Se caracteriza por analizar la realidad objetiva de manera secuencial, utilizando la lógica deductiva y fundamentándose en las mediciones estadísticas (43).

4.2. Tipo de investigación:

- Descriptiva:

La investigación descriptiva observa y cuantifica una o más características en un grupo, sin establecer relaciones entre estas (47).

- Explicativa:

Pretende establecer las causas de los sucesos o fenómenos que se estudian (43).

4.3. Método de investigación:

Deductivo:

La lógica para obtener conclusiones parte de lo general a lo particular (de las leyes y teoría a los datos) (43).

4.4. Técnicas e instrumentos de investigación

Cuadro 14. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Objetivo	Técnicas	Instrumentos	Aplicación
Cuantificar el rendimiento de biomasa húmeda de <i>A. filiculoides</i> en función de la fertilización con Curinaza.	Experimentación	- Balanza de precisión de 1 g con capacidad de 7 kg. - Planilla para toma de datos (Ver anexos 5 y 6).	Biomasa cosechada de <i>A. filiculoides</i> de un ensayo preexperimental y un ensayo experimental.
Determinar la composición nutricional de <i>A. filiculoides</i> fertilizada con Curinaza.	Experimentación	Informe de Ensayo del Laboratorio de investigación y Diagnóstico Veterinario de Cochabamba (LIDIVECO).	Biomasa cosechada de <i>A. filiculoides</i> de un ensayo preexperimental.
Estimar el rendimiento de biomasa seca de <i>A. filiculoides</i> en función de la fertilización con Curinaza.	Experimentación	- Registro de datos de la biomasa fresca. - Informe de Ensayo de LIDIVECO.	Biomasa cosechada de <i>A. filiculoides</i> de un ensayo preexperimental.

Elaboración propia (2019)

4.5. Fuentes de información

4.5.1. Primarias

Datos obtenidos mediante los instrumentos de recolección de datos, directamente de la unidad de análisis (biomasa de *Azolla filiculoides*).

4.5.2. Secundarias

Libros, tesis, reportes, páginas web y artículos académicos.

4.6. Diseños de investigación:

4.6.1. Preexperimental:

Consiste en un solo grupo con mínimo grado de control de las fuentes de invalidación interna, no cumpliendo con los requisitos de un experimento “puro”

o “verdadero” (manipulación de la variable independiente con niveles o grupos de contraste) por lo cual, no es posible establecer relaciones de causalidad (43).

Se utilizaron dos ensayos preexperimentales, en el primero la unidad experimental consistió en un estanque para cultivo de *Azolla* con superficie de 4 m² y volumen de 2 m³ (1 m x 4 m x 0,5 m), la cual se utiliza con los siguientes fines:

- Adaptación de *Azolla filiculoides* a las condiciones experimentales.
- Producción de semilla de *Azolla filiculoides* para el diseño experimental.
- Cuantificación del rendimiento de biomasa de *Azolla filiculoides* fertilizada con 2142 g de Curinaza; dosificada en función a una concentración de 15/mg/N/L (teniendo 5,89 mg/P/L y 19,11 mg/K/L).

Un ulterior ensayo preexperimental se realizó posterior al ensayo experimental con DCA, se efectuó en tres estanques para cultivo de *Azolla* con área de 2 m² (2 m x 1 m) y volumen de 0,8 m³ (2 m x 1 m x 0,4 m), cada uno fertilizado con la dosis de Curinaza que produjo el mayor rendimiento de biomasa de *Azolla filiculoides* (857 g). La finalidad de este ensayo fue el de obtener una muestra representativa para el análisis nutricional de *Azolla filiculoides*.

4.6.2. Experimental (diseño completamente aleatorizado):

El diseño experimental utilizado es el diseño completamente aleatorizado (DCA), denominado así porque todas las corridas experimentales se realizan en orden aleatorio completo, repartiendo así los efectos ambientales y temporales de forma equitativa entre las unidades experimentales (48).

Las unidades experimentales para este estudio consistieron en nueve estanques para cultivo de *Azolla* con área de 2 m² (2 m x 1 m) y volumen de 0,8 m³ (2 m x 1 m x 0,4 m).

Modelo matemático: El modelo utilizado fue el aditivo lineal.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} : Variable dependiente

μ : Media general de todos los tratamientos

α_i : Efecto asociado a la administración del i-ésimo nivel del factor en estudio.

ϵ_{ij} : Error experimental.

Los criterios de validez para el experimento fueron los siguientes:

- Validez interna:

El estudio apoyó la comparación de tres grupos incluyendo un control o testigo asignados aleatoriamente, el agua para las unidades experimentales se obtuvo de una misma fuente (pozo de la propiedad) a la cual se le aplicó un análisis físico-químico descrito en el diagnóstico y la semilla también se obtuvo de una misma fuente (ensayo preexperimental).

- Validez externa:

Se obtuvo una muestra representativa de la población para las unidades experimentales, de las cuales cada una tuvo tres repeticiones y se realizó en un contexto de campo para evitar “artificialidad” de las condiciones.

Tratamientos:

Fueron tres tratamientos que se puntualizan en el cuadro 15.

Cuadro 15. Tratamientos y su concentración de macronutrientes

Tratamiento	Dosificación de Curinaza	Concentración de macro elementos		
		Nitrógeno (mg/L)	Fósforo (mg/L)	Potasio (mg/L)
T ₀	0 g	0	0	0
T ₁	571 g	10	3,92	12,73
T ₂	857 g	15	5,89	19,11

Fuente: Elaboración propia.

El croquis de campo para la corrida experimental se hizo tomando números aleatorios mediante el programa Decision Analyst STATS™ 2.0 (Figura 2).

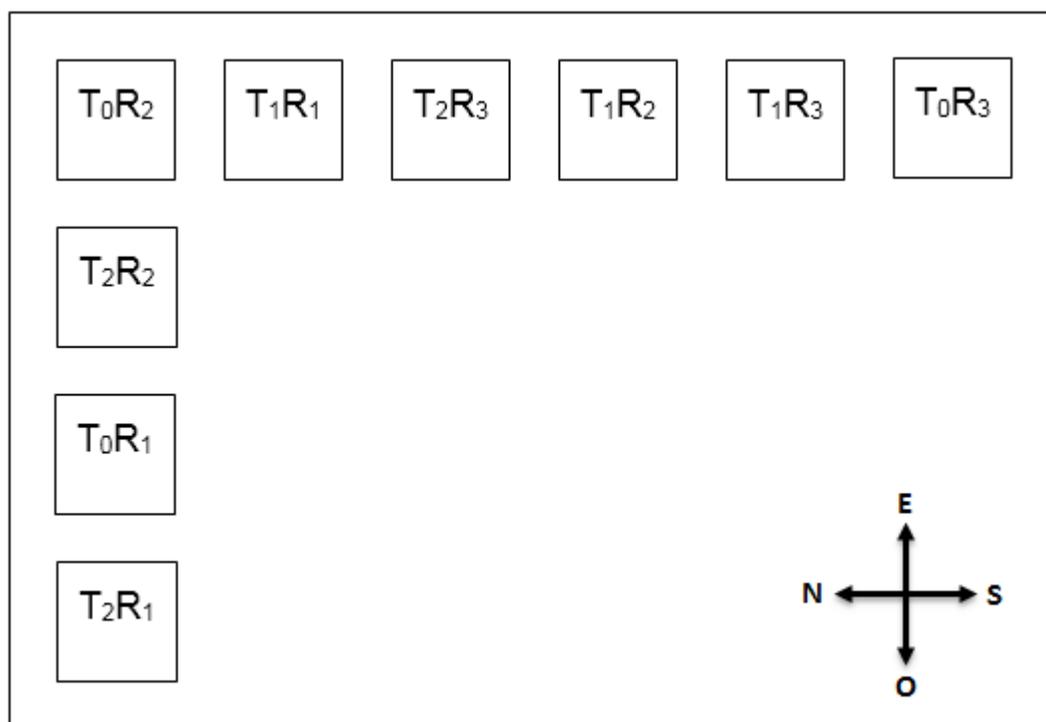


Figura 3. Croquis de campo para el experimento

Fuente: Elaboración propia

4.7. Diseño muestral

4.7.1. Población de estudio

Biomasa de *Azolla filiculoides* de la laguna Coña Coña del municipio de Cercado (**Ver anexo 7**).

4.7.2. Método de muestreo

El método para selección de la muestra elegido fue el muestreo probabilístico por conglomerados, método que consiste en dividir la población en conglomerados o grupos; para luego seleccionar una muestra a partir de estos conglomerados de forma aleatoria. Siendo más fácil y rápido que el muestreo aleatorio simple o el estratificado (49).

El protocolo para la obtención de una muestra representativa de *Azolla filiculoides* consistió en lo siguiente:

- 1) Delimitación de las zonas de crecimiento de *Azolla filiculoides* en la laguna Coña Coña (**Ver anexo 8**).
- 2) Delimitación de los conglomerados (**Ver anexo 9**).
- 3) Selección aleatoria de los conglomerados obteniendo números aleatorios mediante el programa Decision Analyst STATS™ 2.0 (**Ver anexo 10**).
- 4) Toma de 1 kg de muestra de cada conglomerado.

4.7.3. Unidad muestral

Zonas de crecimiento de *Azolla filiculoides* en la laguna Coña Coña.

4.7.4. Unidad de análisis

Biomasa obtenida de *Azolla filiculoides*.

4.8. Acciones y/o actividades:

4.8.1. Cuantificar el rendimiento de biomasa húmeda de *Azolla filiculoides* en función de la fertilización con Curinaza

1) Obtención de una muestra representativa de *Azolla filiculoides* de la laguna Coña Coña.

2) Cuantificación en un primer ensayo de adaptación (preexperimental) (**Ver anexo 11**).

- Preparación los estanques de cultivo y fertilización con Curinaza
- Siembra de las muestras obtenidas de *Azolla filiculoides*.
- Cosecha cuando el cultivo llenó la superficie de los estanques (ocho días).
- Cuantificación del peso por metro cuadrado mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg.
- Toma de datos en planilla.
- Siembra del 25 % del peso de la Azolla obtenida.
- Cosecha al día 16.
- Cuantificación del peso por metro cuadrado mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg.
- Toma de datos en planilla.
- Siembra del 25 % del peso de la Azolla obtenida.
- Cosecha al día 24.
- Cuantificación del peso por metro cuadrado mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg.
- Toma de datos en planilla.
- Siembra del 25 % del peso de la Azolla obtenida.
- Cosecha al día 32.
- Cuantificación del peso por metro cuadrado mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg.

- Toma de datos en planilla.
- Siembra del 25 % del peso de la Azolla obtenida.
- Cosecha al día 40.
- Cuantificación del peso por metro cuadrado mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg.
- Toma de datos en planilla.

3) Cuantificación en un segundo ensayo (diseño experimental completamente aleatorizado) (**Ver anexo 12**):

- Obtención de Azolla del cultivo preexperimental y siembra de 300 g en cada unidad experimental.
- Cosecha a los siete días, cuando el cultivo llenó la superficie de las unidades experimentales
- Cuantificación de la biomasa obtenida mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg en tres mediciones.
- Toma de datos en planilla.
- Siembra de 300 g de Azolla en cada unidad experimental; obtenida de su misma unidad experimental.
- Cosecha a los 14 días.
- Cuantificación de la biomasa obtenida mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg en tres mediciones.
- Toma de datos en planilla.
- Siembra de 300 g de Azolla en cada unidad experimental; obtenida de su misma unidad experimental.
- Cosecha a los 21 días.
- Cuantificación de la biomasa obtenida mediante balanza digital de precisión de 1 g y capacidad de 7 kg en tres mediciones.
- Toma de datos en planilla.

4.8.2. Determinación de la composición nutricional de *Azolla filiculoides* fertilizada con Curinaza

- Toma de 5000 g de biomasa de *Azolla* obtenida de un ensayo pre experimental (tercer ensayo).
- Mezcla de los 5000 g de biomasa para seleccionar al azar 800 g.
- Envío de los 800 g de biomasa al Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario de Cochabamba (LIDIVECO).
- Remisión con el nombre del remitente y los parámetros requeridos (MS, proteína, fibra, carbohidratos, cenizas, grasa y valor energético).

4.8.3. Estimación del rendimiento de biomasa seca de *Azolla filiculoides* en función de la fertilización con Curinaza

- Estimación del rendimiento en materia seca del diseño experimental y preexperimental en función de los resultados del rendimiento de biomasa húmeda y del análisis nutricional.

CAPÍTULO V.

PRESENTACIÓN DE HALLAZGOS, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS MISMOS

5.1. Rendimiento de biomasa húmeda de *Azolla filiculoides* en función de la fertilización con Curinaza

El rendimiento de biomasa húmeda de *Azolla filiculoides* se cuantificó en dos ensayos, un ensayo preexperimental y un ensayo experimental con diseño completamente aleatorizado.

5.1.1. Resultados del ensayo preexperimental

El ensayo se realizó con la finalidad de obtener el rendimiento de *Azolla filiculoides* fertilizada con Curinaza y al mismo tiempo obtener semilla adaptada a las condiciones experimentales. De este ensayo, realizado en un estanque de 4 m² de superficie y 2000 L de capacidad (50 cm de profundidad), fertilizado con 2142 g de Curinaza (equivalente a una concentración de 15 mg/N/L, 5,89 mg/P/L y 19,11 mg/K/L), se obtuvieron los resultados presentes en el cuadro siguiente:

Cuadro 16. Rendimiento total y rendimiento por metro cuadrado de superficie

Días	Azolla sembrada (g)	Azolla obtenida (g)	Rendimiento total (g)	Rendimiento por m ² (g)
0 - 8	4000	5295	1295	323,75
8 - 16	1324	5947	4623	1155,75
16 - 24	1487	4702	3215	803,75
24 - 32	1176	4249	3073	768,25
32 - 40	1062	2796	1734	433,5
Total	9049	22989	13940	3485

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel 2016)

En lo referente al tiempo, la cosecha se realizó a los 8 días, siendo este el tiempo en que el colchón formado por la macrófita completó la superficie del estanque, sabiendo que esta tiene un ciclo de cosecha de 3-7 días (4,30).

Del total de 13940 g de biomasa de Azolla en base húmeda en los 40 días de ensayo, con intervalos de cosecha de 8 días; se obtuvo un rendimiento promedio en base húmeda de 87,125 g/m²/día, este rendimiento podría ser equivalente a 0,87 t/ha/día o 317 t/ha/año, aunque no es recomendable hacer tal inferencia debido a los múltiples factores que condicionan el crecimiento de Azolla a lo largo de un año.

El cuadro 17 compara el valor obtenido en cuanto a rendimiento de biomasa húmeda de 87,125 g/m²/día con valores del marco teórico que van desde 5,76 a 200 g/m²/día.

Cuadro 17. Comparación de valores de referencia

Rendimiento del ensayo preexperimental (g/m²/día)	Rendimientos reportados en el marco teórico (g/m²/día)
87,125	5,76 (2)
	40.02 - 44.5 (4)
	80 – 100 (26)
	118 (3)
	100 – 200 (4)

Fuente: Elaboración propia

La figura 4 cuantifica la Azolla sembrada, la obtenida y el rendimiento total:

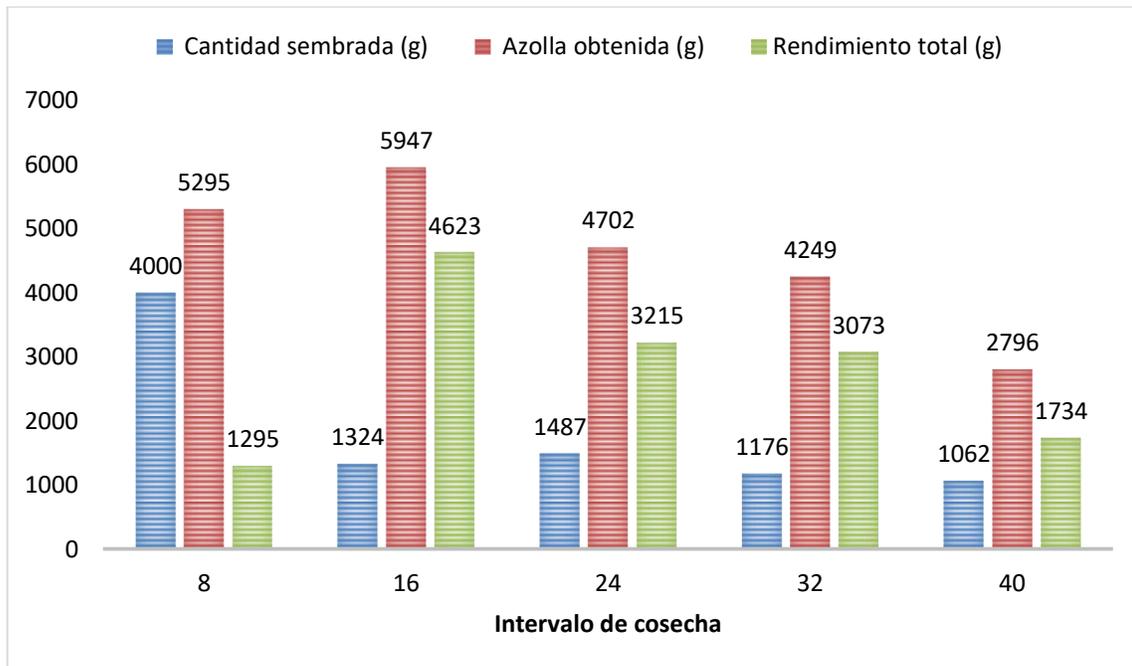


Figura 4. Azolla sembrada, obtenida y rendimiento total

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel 2016)

El bajo rendimiento en función de la cantidad de semilla obtenido durante la primera medición (día 8) podría deberse a la densidad de los pelos radicales (**Ver anexo 13**), los cuales presentaban mayor densidad y por ende mayor contribución al peso fresco en la Azolla extraída de la laguna Coña Coña, en las posteriores cosechas tal densidad se redujo. El desarrollo de los pelos radicales parece estar controlado indirectamente por el microsimbionte *Anabaena azollae*, ya que en ausencia de este la contribución de las mismas al peso fresco es mayor (8). El mayor rendimiento se obtuvo durante la segunda medición y fue decreciendo hasta la última.

5.1.2. Resultados del diseño completamente aleatorizado (DCA).

Este ensayo experimental, compuesto por tres grupos en comparación, cada uno con tres repeticiones dos con Curinaza dosificada a razón de 857 g (T_2), 571 g (T_1) y un control sin dosificación de Curinaza (T_0) en estanques de 2 m² de superficie y 800 L de capacidad (40 cm de profundidad), se realizó para obtener niveles de contraste, evidenciando la cantidad de Curinaza dosificada en función del contenido de nitrógeno que proporcione un mayor rendimiento de *Azolla filiculoides*. Dicho ensayo tuvo una duración de 21 días, con intervalo de cosechas de 7 días (tres en total).

La cosecha se realizó a los 7 días por ser el tiempo en que el cultivo llenó la superficie del estanque, ya antes habiendo mencionado que el ciclo de cosecha de Azolla va de 3 - 7 días (3,4).

El rendimiento total para cada tratamiento; detallado en el cuadro 18, demostró valores que van desde 3148 g, 7141 g, 8088 g para los tratamientos (T_0 , T_1 y T_2 respectivamente) en 21 días de duración del ensayo o corrida experimental.

La duración del ensayo fue de 21 días debido a que a partir de la tercera medición los rendimientos fueron mínimos, en la cuarta no hubo crecimiento y solo se observó crecimiento de algas verdes en los estanques fertilizados con Curinaza (**Ver anexo 14**). Esto presumiblemente sucedió por la exposición a pleno sol (26,29), sumado a la proximidad de los meses de invierno.

Cuadro 18. Rendimiento total de *Azolla filiculoides* en la corrida experimental

Tratamiento	Azolla obtenida en 21 días de ensayo			Rendimiento total (g)*
	Primera cosecha (día 7)	Segunda cosecha (día 14)	Tercera cosecha (día 21)	
T0R1	1059	550	288	997
T0R2	1159	534	279	1072
T0R3	1041	581	357	1079
Total				3148
T1R1	1861	1099	545	2605
T1R2	1833	971	343	2247
T1R3	1652	1072	465	2289
Total				7141
T2R1	1765	1100	431	2396
T2R2	1759	1180	518	2557
T2R3	2129	1371	535	3135
Total				8088
*Se descuenta la cantidad de semilla para cada siembra (300 g)				

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel ver. 2016)

El rendimiento promedio se detalla en el cuadro 19.

Cuadro 19. Rendimiento promedio para los grupos en comparación

Rendimiento promedio				
Tratamiento	Observaciones			Promedio
0	997	1072	1079	1049,33
1	2605	2247	2289	2380,33
2	2396	2557	3135	2696,00

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel ver. 2016)

Con estos datos se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor en el programa InfoStat Ver. 2018E, con la finalidad de identificar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en comparación (Cuadro 20).

Cuadro 20. Análisis de varianza (ANOVA) de la corrida experimental

```
Nueva tabla : 02/07/2019 - 13:33:02 - [Versión : 20/09/2018]

Análisis de la varianza

Variable  N  R²  R² Aj  CV
Rendimiento  9  0,92  0,90  12,37

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)
F.V.      SC      gl      CM      F      p-valor
Modelo    4582717,56  2  2291358,78  35,92  0,0005
Tratamiento 4582717,56  2  2291358,78  35,92  0,0005
Error     382769,33  6   63794,89
Total     4965486,89  8
```

Fuente: Elaboración propia (Programa InfoStat Ver. 2018E)

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) manifiestan con un 95 % de confiabilidad ($P < 0,05$) diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en comparación. No obstante, aunque el T₂ produjo el mayor incremento de biomasa; no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con Curinaza (T₁ y T₂) con ninguna prueba de diferencia de medias (Duncan, LSD Fisher y Tukey) (Cuadros 21, 22 y 23; Figura 5); por lo cual, no se pudo evidenciar estadísticamente que la dosis de Curinaza de 857 g sea superior en rendimiento de biomasa a la dosis de Curinaza de 571 g en estanques de 800 L de capacidad.

Cuadro 21. Prueba de diferencia de medias de DUNCAN para la corrida experimental

```
Test:Duncan Alfa=0,05
Error: 63794,8889 gl: 6
Tratamiento Medias  n  E.E.
T2           2696,00  3  145,83  A
T1           2380,33  3  145,83  A
T0           1049,33  3  145,83  B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)
```

Fuente: Elaboración propia (Programa InfoStat Ver. 2018E)

Cuadro 22. Prueba de diferencia de medias LSD Fisher

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=504,62126				
Error: 63794,8889 gl: 6				
Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T2	2696,00	3	145,83	A
T1	2380,33	3	145,83	A
T0	1049,33	3	145,83	B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Fuente: Elaboración propia (Programa InfoStat Ver. 2018E)

Cuadro 23. Prueba de diferencia de medias de Tukey

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=632,76364				
Error: 63794,8889 gl: 6				
Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T2	2696,00	3	145,83	A
T1	2380,33	3	145,83	A
T0	1049,33	3	145,83	B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Fuente: Elaboración propia (Programa InfoStat Ver. 2018E)

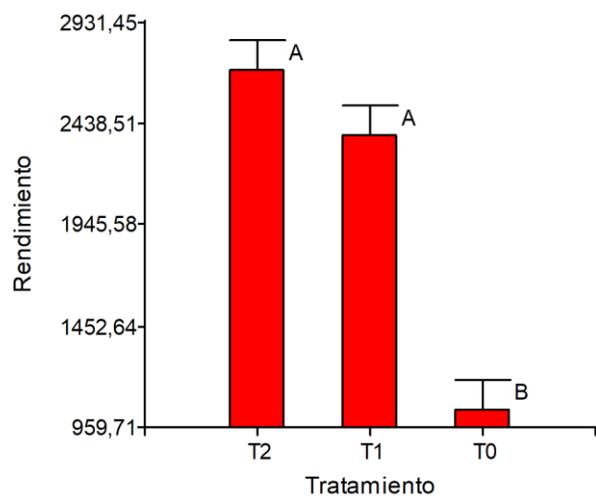


Figura 5. Diferencia de medias LSD Fisher

Fuente: Elaboración propia (Programa InfoStat Ver. 2018E)

El hecho de que no se hayan encontrado diferencias entre los grupos fertilizados con Curinaza puede deberse a la duración del experimento, dado que este solo se realizó durante 21 días y al contrario del diseño preexperimental, que produjo 5 mediciones, este solo produjo durante tres mediciones. No obstante, en un experimento similar realizado por Méndez-Martínez *et al.* (2), donde se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, con tres réplicas y los tratamientos (T) consistieron en aplicar: T₁ (control), T₂ (20 g de dos minerales combinados: 18 de Nitrato de amonio y dos de superfosfato triple), T₃ y T₄ (280 y 560 g de excreta porcina), se halló que el rendimiento en biomasa fresca, no difiere entre los tratamientos con fertilización (T₂, T₃ y T₄), pero si con respecto al T₁ (testigo), dando un resultado similar al de la presente investigación.

5.2. Valor nutricional de *Azolla filiculoides*

En última instancia, se realizó un segundo ensayo preexperimental para determinar la composición nutricional de *Azolla filiculoides* fertilizada con la cantidad de Curinaza que produjo el mayor rendimiento de biomasa observada, mas no estadísticamente significativa; la dosis de Curinaza de 857 g (15 mg/N/L, 5,89 mg/P/L y 19,11 mg/K/L). Los ensayos realizados por el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario de Cochabamba – LIDIVECO (**Ver anexo 15**) expresaron los resultados del cuadro 24.

Se debe recalcar que para este ensayo la cosecha se realizó a los 14 días, puesto que la biomasa de *Azolla filiculoides* redujo su crecimiento y ese fue el tiempo que cubrió la superficie de los estanques. Se presume, al igual que en el experimento previo que se debe a la exposición a pleno sol (26,29), sumado a estar próximos los meses de invierno.

Cuadro 24. Resultados del análisis nutricional de *Azolla filiculoides* fertilizada Curinaza

Ensayo realizado	Unidades	Resultado obtenido	
		Base húmeda (93,36 %)	Materia seca (6,64 %)
Proteína	%	1,40	21,08
Cenizas	%	1,33	20,03
Fibra	%	0,95	14,31
Hidratos de Carbono	%	2,90	43,67
Grasas	%	0,08	1,2
Valor energético	Kcal/g	18,04	18,04

Fuente: Elaboración propia

La composición química de la Azolla suele variar según el lugar donde crece, el cambio de estación y el contenido de nutrientes del agua (4). Haciendo hincapié en los factores ambientales se menciona que la temperatura media anual en la zona de estudio va de 12 y 18 ° C, con una variación entre el mes más cálido y el más frío de no más 5 ° C (18). El crecimiento y la fijación de N₂ en *A. filiculoides* son casi nulos a 10°C, incrementándose exponencialmente hasta los 25°C, pero por encima de los 30°C decrecen rápidamente y las exposiciones prolongadas a 40°C son letales (8).

En cuanto a la humedad relativa se menciona que la óptima es de 85-90 %, aseverando que la Azolla se vuelve seca, frágil y no crece a una humedad relativa inferior al 60 por ciento (26,29). La humedad en la zona de estudio varía de 32 – 49 % (18), no obstante pese a la humedad relativa de la zona si se mostró crecimiento de Azolla en todos los experimentos, siendo menor en el último.

Proteína, cenizas y fibra:

La Azolla se caracteriza por su riqueza en proteína cruda y cenizas. Debe esperarse que sea rica en fracciones de fibra, aunque no se considera que la pared celular esté lignificada de la misma manera que en las plantas terrestres, donde es necesario poseer estructuras rígidas de sostén (30).

Se determinó un porcentaje de proteína limitado al 21,08 %, teniendo valores de referencia entre 19 – 43% (2,4,26,30,40); el contenido de cenizas representa el 20,03 %, indicándose que Azolla tiene altos contenidos de cenizas, que varían entre 12,5 - 21,12 por ciento en base a MS (4,26,30). A su vez, el contenido de fibra es del 14,31 %, siendo los valores de referencia del 5 – 16,5 % (153-155).

Dado que leng *et al.* (2) observaron que el contenido de fibra y cenizas es mayor y la concentración de nitrógeno menor en colonias de Azolla con crecimiento lento; se puede argüir que el crecimiento dado en este ensayo influyó en el contenido de estos elementos (mínimo en proteína y elevado en fibra y cenizas).

Otro factor a considerar en el contenido de proteína es el nitrógeno, pues este llegó a 17,6 mg/N/L con el nitrógeno presente en el agua y la Curinaza, mencionándose valores óptimos de 10 a 15 mg/N/L (4,6). No pudiendo reducirse este, dado que no puede reducirse la cantidad de Curinaza para reducir el nitrógeno porque se disminuiría los otros dos macroelementos que son de mayor importancia. La influencia de este elemento radica en el argumento de Fay, que conjuntamente con Peters & Calvert afirman que se observó cierta tendencia hacia una mayor actividad nitrogenasa en las plantas crecidas sin nitrógeno, a su vez una mayor actividad nitrato reductasa en aquellas plantas crecidas con suplemento nitrogenado; el sentido de que el sustrato induce la síntesis y la actividad de la nitrato reductasa y a la vez la carencia de Nitrógeno en el sustrato, capacita a los simbioses a fijar la proporción de Nitrógeno para cubrir las necesidades (25).

Grasas:

El contenido graso representa el 1,2 %. Los valores de referencia oscilan entre 0,78 - 6 % (4,26,30).

Hidratos de carbono y valor energético:

Se obtuvo un contenido de carbohidratos de 43,67 %. El valor de referencia reporta 49,1 % (40).

El valor energético de 18,04 kcal/g, superó el valor de referencia, pues se reportan valores de energía bruta de 16,32 a 17,77 kJ/g de MS para Azolla, equivalentes a 3,9 – 4,25 kcal/g (4,30).

5.3. Rendimiento de biomasa seca de *Azolla filiculoides*

La materia seca representó el 6,64 %, teniéndose valores de referencia del 5 al 7 % (26).

Uno de los elementos minerales que pueden aportar al elevado contenido de humedad en *Azolla filiculoides* podría ser el potasio, pues con la dosificación de Curinaza se llegó a una concentración de 26,91 mg/L de este elemento, siendo los niveles mínimos para el crecimiento de Azolla 15,6 a 23,5 mg/L (6). No se puede corroborar tal afirmación, dado que no se tienen referencias en cuanto a niveles superiores en el caso de Azolla. No obstante, estudios en la macrófita *Lemna gibba* indican que el peso fresco de la misma se incrementa entre un 20,5 y 22,7% al elevar la concentración de potasio en el medio de cultivo de 3,0 a 9,0 mg/L, mientras que el peso seco no varía con el incremento de potasio del medio de cultivo; por tanto, al favorecer el peso fresco mas no el peso seco, el incremento de potasio del medio de cultivo reduce el contenido de materia seca en la planta (50).

Resultados del ensayo preexperimental

Las estimaciones del rendimiento en MS para los datos del diseño preexperimental se describen en el cuadro 25 y la figura 6.

Cuadro 25. Comparación entre el rendimiento en BH y MS

Rendimiento BH (g)	Rendimiento MS (g)
1295	195
4623	696
3215	484
3073	463
1734	261
Total 13940	Total 2099

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel ver. 2016)

Se estima que de un total de 13940 g de biomasa de Azolla en BH puede obtenerse 2099 g de Azolla en MS en los 40 días de ensayo, con intervalos de cosecha de 8 días, lo que representaría $13,12 \text{ g/m}^2/\text{día}$.

Podría indicarse que este rendimiento es equivalente a $0,13 \text{ t/ha/día}$ o $47,9 \text{ t/ha/año}$, recordando que no son válidas tales inferencias; dado que son múltiples los factores que pueden influir en tal respuesta a lo largo de un año.

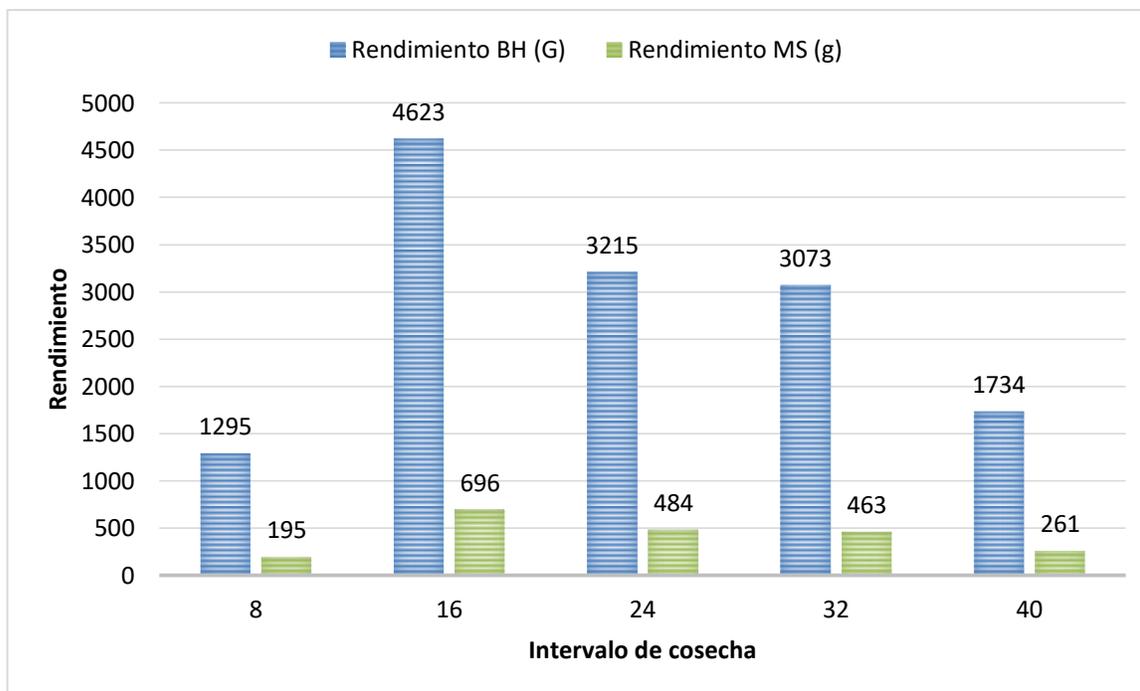


Figura 6. Rendimiento de Azolla en base húmeda y seca
Fuente: Elaboración propia (Programa Excel ver. 2016)

En cuanto a los valores de referencia del rendimiento en base seca, estriban entre 1,37 a 106,85 g/m²/día (4,30).

El principal problema de las plantas macrófitas radica en su alto contenido de agua, en este caso tomando la humedad un valor de 93,36 %, esto genera problemas para el secado en zonas tropicales. Sin embargo, se indica que en zonas de altitud resulta fácil y rápido eliminar el contenido de humedad (168,169), estando el municipio de Arbieto ubicado a una altitud considerable de 2.550 a 2.800 msnm (18).

Se manifiesta que es posible eliminar el agua por métodos sencillos de secado, muy conocidos, y también no solamente reducirlas a harina, sino también conservarlas en forma de ensilado (30). Aun así, hay estudios que revelan que Azolla puede suministrarse húmeda en la ración (1,3).

Resultados del diseño completamente aleatorizado

Las estimaciones del rendimiento en MS para los datos del diseño experimental completamente aleatorizado se describen en el cuadro 26 y la figura 7.

Cuadro 26. Rendimiento de Azolla en base seca (DCA)

Tratamiento	Rendimiento en BH	Rendimiento en MS	Comparación de medias (LSD Fisher)
T ₀	997	150,15	B
T ₀	1072	161,45	
T ₀	1079	162,50	
Promedio	1049,33	158,03	
T ₁	2605	392,32	A
T ₁	2247	338,40	
T ₁	2289	344,73	
Promedio	2380,33	358,48	
T ₂	2396	360,84	A
T ₂	2557	385,09	
T ₂	3135	472,14	
Promedio	2696,00	406,02	

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel ver. 2016)

Se mantienen las inferencias del rendimiento en base húmeda: los resultados del análisis de varianza (ANOVA) manifiestan con un 95 % de confiabilidad ($P < 0,05$) diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos en comparación. Siendo el T₂ la mayor diferencia observada (no significativa en relación al T₁) (Figura 7).

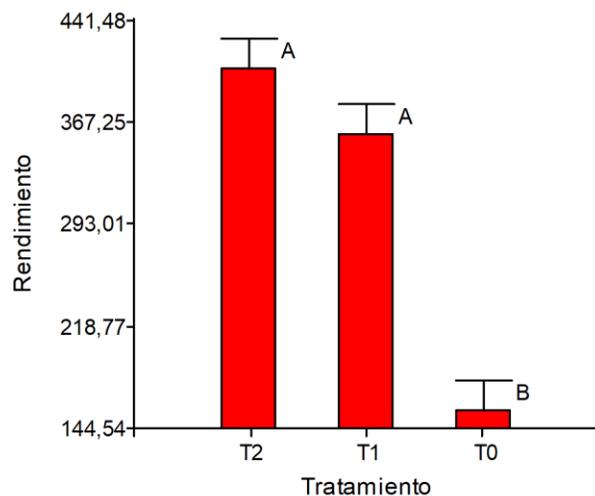


Figura 7. Diferencia de medias LSD Fisher (Programa InfoStat Ver. 2018E)

La figura 8 compara el rendimiento de biomasa húmeda y seca de los tres tratamientos.

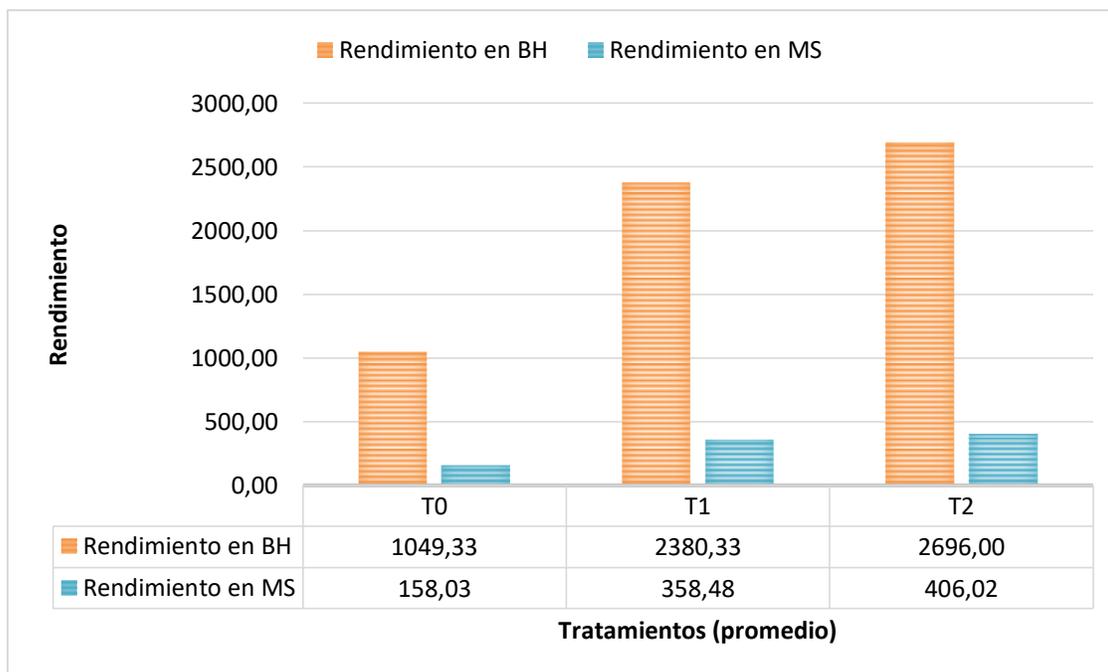


Figura 8. Rendimiento de biomasa húmeda y seca (DCA)

Fuente: Elaboración propia (Programa Excel ver. 2016)

CONCLUSIONES

El rendimiento de biomasa fresca de *Azolla filiculoides* se encuentra dentro los valores de referencia, lo cual indica que la Curinaza puede utilizarse como fertilizante para la producción de *Azolla filiculoides*. En cuanto a la dosis ideal, no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las fertilizaciones de 571 y 857 g de Curinaza en 800 L de agua, aunque esto podría deberse a la duración del estudio y la intensidad lumínica dado que los cultivos estuvieron expuestos a pleno sol, por lo que se recomienda tomar estos resultados con cautela.

El valor nutricional de *Azolla filiculoides* fertilizada con Curinaza se encuentra en un rango óptimo dentro los valores de referencia, pudiendo indicarse que puede utilizarse como insumo para alimentación animal por su contenido de proteína.

También se debe considerar que la composición de la Curinaza puede variar dependiendo de su manejo y el sistema de alimentación que se efectúe en la explotación cuyícola, por tanto, los resultados de esta investigación pueden extrapolarse únicamente a sistemas de producción similares (alimentación básica), siendo necesarios estudios en sistemas con otro tipo de alimentación. Por otro lado, el rendimiento de *Azolla* también puede ser influenciado por las estaciones del año, siendo otro motivo para tener cautela al generalizar los resultados de este estudio.

En cuanto a las estimaciones del rendimiento de materia seca se puede concluir que la misma se encuentra dentro los valores de referencia y que estando el municipio de Arbieto ubicado a una altitud considerable de 2.550 a 2.800 msnm, puede resultar sencillo eliminar el contenido de humedad.

RECOMENDACIONES

Evaluar la fertilización con Curinaza en el cultivo de *Azolla filiculoides* tomando en cuenta otros factores que afectan su crecimiento; por ejemplo, la intensidad lumínica y el pH, así como también su dosificación conjunta con otros elementos minerales como el fósforo (estiércol reforzado), a su vez, debe analizarse también el contenido de microminerales de la Curinaza.

Realizar comparaciones en cuanto a la fertilización con otros residuos (estiércol) de origen animal, fertilizantes inorgánicos y residuos sometidos a algún tratamiento de descomposición y/o humificación.

Evaluar la producción de *Azolla filiculoides* con Curinaza obtenida en sistemas de alimentación con concentrados.

Realizar estudios con mayor duración, tomando datos a lo largo de las estaciones del año. A su vez, como los resultados del rendimiento de *Azolla* en base seca de este estudio son nada más estimaciones; es recomendable tomar el rendimiento en base seca aplicando procesos de secado a la *Azolla* cosechada para tener resultados que contemplen las pérdidas que generen dichos procesos.

Evaluar la influencia de *Azolla filiculoides* en la alimentación de cuyes y otras especies.

REFERENCIAS

1. Pinto-Santini L, Escobar A, Messa HF, Ruiz-Silvera C. Evaluación de tres núcleos proteínicos en la dieta de cerdos alimentados con jugo de caña de azúcar y Azolla sp. *Livest Res Rural Dev* [Internet]. 2005 [citado 4 de junio de 2018]; Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Pinto_Santini_L/publication/294406760_Partial_substitution_of_soya_bean_meal_by_fish_meal_in_a_diet_for_growing_pigs_composed_of_sugar_cane_juice_palm_oil_and_azolla/link/s/588d2c86a6fdcc8e63c98292/Partial-substitution-
2. Méndez-Martínez Y, Torres-Navarrete YG, Pérez-Tamames Y, Reyes-Pérez JJ, Ramírez de la Ribera JL, Batista Casaco AR, et al. Efecto de la fertilización en el rendimiento de Azolla filiculoides , un alimento para acuicultura - Effect of fertilization in performance of Azolla filiculoides , feed for aquaculture. 2017;1-8. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121217/121708.pdf>
3. Suárez J, García E. Las plantas acuáticas en un contexto de aprovechamiento sostenible de los recursos naturales. I. Azolla spp. *Pastos y Forrajes* [Internet]. 1998;21(1):1-13. Disponible en: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01190067/>
4. Méndez-Martínez Y, Pérez-Tamames Y, ... JP-, 2018 U. Azolla sp., UN ALIMENTO DE ALTO VALOR NUTRICIONAL PARA LA ACUICULTURA. *biotecnia.unison.mx* [Internet]. 2018 [citado 18 de septiembre de 2018]; Disponible en: <http://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/527>
5. Buenaño-Buenaño J, Nuñez-Torres P, Barros-Rodríguez M, Rosero-Peñaherrera, M Lozada-Salcedo E, Guishca-Cunuhay C, Zurita-Vásquez H. Efecto de la inclusión de Azolla en la dieta de codornices japonesas sobre el consumo voluntario, digestibilidad aparente y producción de huevos. *scielo.org.pe* [Internet]. 2018; Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172018000100016&script=sci_arttext
6. Wagner G. Azolla: A Review of Its Biology and Utilization. *Bot Rev* [Internet]. 1997;63(1). Disponible en: [http://www.eriksjudin.net/projects/theazollacookingandcultivationproject/research/Azolla, a review of its biology and utilization.pdf](http://www.eriksjudin.net/projects/theazollacookingandcultivationproject/research/Azolla,_a_review_of_its_biology_and_utilization.pdf)
7. Ramos J. Sustitución del maíz por harina de azolla (*A. caroliniana*) en raciones para el crecimiento-engorde de cobayos [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2012 [citado 7 de junio de 2018]. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/5406>

8. Sevillano F, Subramaniam P, Rodríguez-Barrueco C. La asociación simbiótica fijadora de nitrógeno atmosférico. Azolla - Anabaena [Internet]. Centro de Edafología y Biología Aplicada, C.S.I.C. 1982. Disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/85747/1/La asociación simbiótica fijadora de nitrógeno atmosférico Azolla-Anabaena.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/85747/1/La%20asociaci3n%20simbi3tica%20fijadora%20de%20nitr3geno%20atmosf3rico%20Azolla-Anabaena.pdf)
9. Chaux G, Caicedo JR, Fernández JE. Tratamiento de efluentes piscícolas (tilapia roja) en lagunas con Azolla pinnata. Biotecnol en el Sect Agropecu y Agroindustrial [Internet]. 2013;11(2):46-56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612013000200006&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a06.pdf
10. Merino MA, Vásconez OP. Evaluación de la eficiencia de biorremediación en la recuperación de efluentes porcinos in vitro con helecho Azolla filiculoides mediante análisis DQO y DBO5 [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2014. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6721>
11. Parhizkar H, Khoraskani RA, Tahbaz M. Green facade system for indoor air purification Green façade system for indoor air purification [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/325472626>
12. Bond, Compean Guillermo Valdez, Delgado Kenia Mayela Vázquez, Martínez Guadalupe Lozano RD. Estrategias ambientales de control. En: Manual para la vigilancia y el control del paludismo en Mesoamérica [Internet]. Primera. Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2008. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/32231591/manual_malaria.pdf?response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DManual_malaria.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20190815%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4_re
13. Finck A. Fertilizantes y fertilización: fundamentos y métodos para la fertilización de los cultivos. Barcelona, España: Reverté; 1985. 439 p.
14. Terán LM. Efecto de la aplicación de cuatro dosis de curinaza y gallinaza en el cultivo de acelga (Beta Vulgaris L.) [Internet]. Universidad Técnica del Norte; 2016. Disponible en: [http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4801/1/03 AGP 090 Trabajo grado.pdf](http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4801/1/03%20AGP%20090%20Trabajo%20grado.pdf)
15. Martínez Otero PV. Los adolescentes ante el estudio: causas y consecuencias del rendimiento académico. Primera. Madrid, España: Fundamentos; 1997. 23 p.

16. Aranda Usón JA, Ortego Bielsa A. Integración de energías renovables en edificios. Primera. Zaragoza, España: Prensas Universitarias de Zaragoza; 2011.
17. Marín Rodríguez ZR. Elementos de Nutrición Humana. EUNED; 1998.
18. HAMA (Honorable Alcaldía del Gobierno Autónomo Municipal de Arbieta), AMDECO (Asociación de Municipios de Cochabamba). Ajuste Plan de Desarrollo Municipal de Arbieta 2005-2009 [Internet]. Cochabamba; 2012. Disponible en: https://es.slideshare.net/doctora_edilicia/pdm-arbieta
19. PUA (Promoción de Uso de Azolla). Sumidero de Carbono – Azolla para Todos [Internet]. 2017 [citado 1 de julio de 2019]. Disponible en: <https://azollaparatodos.com/2017/07/25/sumidero-de-carbono/>
20. Gobierno Autónomo Departamental de Cochabamba. Municipios de Arbieta y Cliza Festejan sus aniversarios con presencia del gobernador [Internet]. 2018 [citado 2 de julio de 2019]. Disponible en: http://www.gobernaciondecochabamba.bo/article/es_BO/Prensa/Noticias/MUNICIPIOS+DE+ARBIETO+Y+CLIZA+FESTEJAN+SUS+ANIVERSARIOS+CON+PRESENCIA+DEL+GOBERNADOR/1482/?F968219130311QXUM1I=_
21. Crespo W, Mendoza N. Informe de país Bolivia [Internet]. Disponible en: http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/proyecto/139jpn/document/4red/T-SIRT/infopais/BOLIVIA/bolivia.pdf
22. UF (Universidad de Florida). Análisis de estiércol [Internet]. Florida; 2013. Disponible en: <http://soilslab.ifas.ufl.edu>
23. McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA. Nutrición Animal.pdf. Quinta. Acribia; 1969.
24. Álvarez JL. Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico. Segunda. Antioquía, Colombia: Universidad de Antioquía; 2008.
25. Lenti JM, Aplicada ACR-E, 2002 U. Evaluación de parámetros bioquímicos y morfogenéticos en la simbiosis Azolla Filiculoides Anabaena Azollae como respuesta a la interacción de la calidad de luz y. redalyc.org [Internet]. 2002; Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/341/34100114/>
26. Hassan MR, Chakrabarti R. Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture [Internet]. Vol. 531, Aquaculture. FAO; 2009. 135 p. Disponible en: <http://www.lavoisier.fr/notice/fr286371.html>
27. Chauca de Zaldivar L. Producción de cuyes (cavia porcellus) FAO. Roma. Revista Producción y Sanidad. La Molina, Perú: FAO, (Organización de

- las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura); 1997.
28. Martín LV. UF0161 - Operaciones auxiliares de abonado y aplicación de tratamientos en cultivos agrícolas. Quinta. España: Elearning; 2015. 416 p.
 29. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). China: Propagación de la azolla y tecnología del biogás a pequeña escala [Internet]. 1981. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/ar796s/ar796s.pdf>
 30. Ly J. Macrofitas Acuáticas Flotantes En Sistemas Integrados De Producción Animal. Inst Investig Porc [Internet]. 2003;89-111. Disponible en: www.avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/...no.../conferencia-8.pdf
 31. Thompson LM (Louis M, Troeh FR. Los suelos y su fertilidad. Cuarta. Barcelona: Reverté; 1980.
 32. Itrubide Á. Apuntes Sobre Pasturas Tropicales. San José, Costa Rica: IICA; 1980. 31 p.
 33. Vivas Tórrez JA, Carballo D. Especies alternativas: Manual de crianza de Cobayos (*Cavia porcellus*). [Internet]. Managua, Nicaragua; 2013. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/2472/1/RENLO1V856.pdf>
 34. Avilés D, Martínez A, ... VL-AG, 2014 U. El cuy (*Cavia porcellus*): un recurso andino de interés agroalimentario The guinea pig (*Cavia porcellus*): An Andean resource of interest as an agricultural food. cambridge.org [Internet]. 2014; Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/animal-genetic-resources-resources-genetiques-animales-recursos-geneticos-animales/article/el-cuy-cavia-porcellus-un-recurso-andino-de-interes-agroalimentario-the-guinea-pig-cavia-porcellus-an-andean-resource-of-int>
 35. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). Reunión técnica sobre la conservación para el desarrollo de los recursos genéticos animales de América Latina. En Costa Rica; 1993. p. 113.
 36. Morales G, Checa B, Diéguez-Santana K, Sablón C. COMPARACIÓN DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y AMBIENTAL DE CUYES EN LA AMAZONÍA Y EN LA SIERRA ECUATORIANA. researchgate.net [Internet]. 2017; Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Neyfe_Sablon_Cossio/publication/321345968_COMPARACION_DEL_SISTEMA_DE_PRODUCCION_Y_AMBIENTAL_DE_CUYES_EN_LA_Para_citar_esto_articulo_puede_utilizar_el_siguiete_formato/links/5a1e037ea6fdccc6b7f86241/COMPARACION-

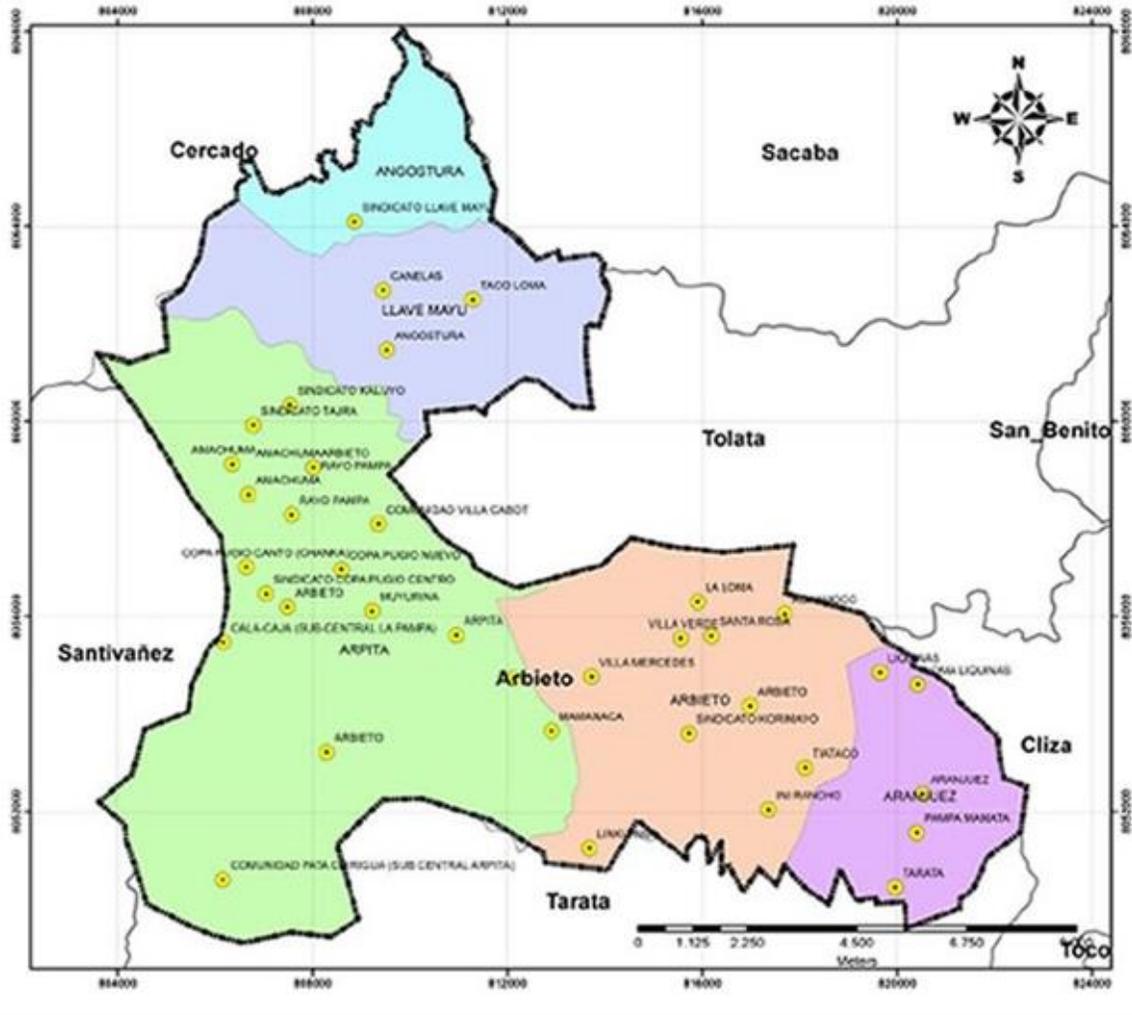
DEL-SIS

37. Sacancela Q. Elaboración de compost a partir del estiércol de cuy (calvia porcellus) y su aplicación en la comuna Lumbisí (sector Cumbayá). 2017; Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13006>
38. Numbela ER. Elaboración de compostaje orgánico con residuos sólidos y orgánicos del cuy. En: II Taller Internacional: Capacitación a capacitadores e intercambio de experiencias en la cadena de producción de cuyes. Cochabamba, Bolivia: Universidad Mayor de San Simón, Proyecto Mejocuy; 2018.
39. Arroyave M del P. La lenteja de agua (Iemna minor L.): una planta acuática promisoría. [scielo.org.co](http://www.scielo.org.co) [Internet]. 2004;1:33-8. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372004000100004
40. Tacon A. NUTRICION Y ALIMENTACION DE PECES Y CAMARONES CULTIVADOS. MANUAL DE CAPACITACIÓN. [Internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1989 [citado 5 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB492S/AB492S09.htm>
41. ILRI (INSTITUTE INTERNATIONAL LIVESTOCK RESEARCH). ILRI 1999 : Hacer que la revolución ganadera beneficie a los pobres. Nairobi, Kenya; 2000. 25 p.
42. Leng R. DUCKWEED [Internet]. Duckweed a tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment. 1999 [citado 23 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/Dw2.htm>
43. Hernández-Sampieri R, Fernández CC, Pilar BM. Metodología de la Investigación Científica. Sexta. Vol. 39. México, DF: Mc Graw Hill - Interamericana; 2014. 561-563 p.
44. Carrapiço F, Teixeira G, Diniz A. Azolla as a biofertiliser in Africa. A challenge for the future. ResearchGate [Internet]. 2000; Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/284652532_Azolla_as_a_biofertiliser_in_Africa_A_challenge_for_the_future
45. Abbayes H, Chadefaud D, Feldmann J, De Ferré I, Gausson H, Grassé P, et al. Botánica. Vegetales inferiores. Barcelona: Reverté; 1989.
46. Leterme P, Londono A, Munoz J, ... JS-AFS, 2009 U. Nutritional value of aquatic ferns (Azolla filiculoides Lam. and Salvinia molesta Mitchell) in pigs. Elsevier [Internet]. 2009; Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840108001478>

47. Arias FG. El Proyecto de Investigación. Introducción a la Metodología Científica. Quinta. Caracas, Venezuela: Episteme; 2006.
48. Gutiérrez HP, De la Vara RS. Análisis y diseño de experimentos. Tercera. México, DF: Mc Graw Hill - Interamericana; 2012. 594 p.
49. Webster AL. WEBSTER - Estadística aplicada a los negocios y la economía. Bogotá, Colombia: Mc Graw Hill - Interamericana; 2001.
50. Clostre G, Suni M. Efecto del nitrógeno, fósforo y potasio del medio de cultivo en el rendimiento y valor nutritivo de *Lemna gibba* L. (Lemnaceae). Rev Peru Biol [Internet]. 2007;13(3):231-6. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000100015

ANEXOS

Anexo 1. Mapa del municipio de Arbieta



Fuente: <https://bo.reyqui.com/2017/09/arbieta-municipio-cochabambino-bolivia.html>

Anexo 3. Resultados del análisis de macro elementos de la Curinaza

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMON
 FAC. de CS. AGRICOLAS y PECUARIAS
 y FORESTALES "Martín Cárdenas"
 Dpto. de Ingeniería Agrícola

LABORATORIO de SUELOS Y AGUAS



ANALISIS FISICO QUIMICO DE ABONOS ORGANICOS



Interesado: DANIEL MANCILLA C.

Proyecto Tesis: INFLUENCIA DE LA CURINAZA EN RENDIMIENTO DE AZOLLA SPP.

Procedencia: Comunidad Villa Cabot, Municipio Arbioto.

N °. Laboratorio	42	
Identificación	No.	curinaza
Ceniza	%	
Densidad Aparente	g/cm ³	
Densidad real	g/cm ³	
Porosidad	%	
pH (suspensión 1:5)		
C.E. Milimhos/cm	(susp. 1:5)	
Cationes en %	Calcio	
	Magnesio	
	Sodio	
	Potasio	1,784
Equiv. Neutralización (1) (CO ₃ Ca) %		
Carbonato de Calcio	%	
Boro	%	
Hierro	%	
Yeso (2)		
Fósforo total**	%	0,550
Materia Orgánica	%	
Carbono Organico	%	
Nitrógeno Total	%	1,400
Relación C/N		

C.E. = Conductividad eléctrica

Tr. = traza

** = Met. Diges. Nitrico-perclórica -colorimetría de vanadato

(1) = Met. Según A.O.A.C.

(2) = como CaSO₄.2H₂O.

Fecha: Cbba. Febrero de 2019.

v. Petrolera Km 4,5 Tel. 4237506-FAX: 4762385-Cbba.
 l: lab_suelos@agr.umss.edu.bo

Ing. A. Alfredo Cáceres C.
 JEFE DE LABORATORIO
 DE SUELOS Y AGUAS
 FCAP y UMSS



Anexo 4. Resultados del análisis de agua de la propiedad

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMON
FAC. de CS. AGRICOLAS, PECUARIAS
y FORESTALES "Martín Cárdenas"
Dpto. Ingeniería Agrícola



LABORATORIO DE SUELOS Y AGUAS

ANÁLISIS QUÍMICO DE AGUAS
Calidad de Agua para Riego



Interesado: DANIEL MANCILLA CASTRO
Proyecto Tesis de Grado: Influencia de la Curinaza en el Rendimiento de Azolla spp.
Procedencia: Villa Cabot, Municipio Arbieto.

Nº. LAB	38			
Identificación	agua			
Fuente	pozo			
pH	6,7			
C.E. micromhos/cm	550			
CATIONES me/lt	Ca ⁺⁺			
	Mg ⁺⁺			
	Na ⁺			
	K ⁺	0,20		
ANIONES me/lt	CO ₃ ⁼⁼			
	HCO ₃ ⁼⁼			
	Cl ⁻	1,40		
	SO ₄ ⁼⁼			
Boro ppm				
S.E me/lt				
S.P. me/lt				
RAS				
P.S.S.				
Fosfato (PO4) ppm	Tr			
C.S.R. me/lt				
N (nitratos) ppm	1,40			
N (amoniacal) ppm *	2,80			
CLASE *	C1-S1			

S.E: Salinidad efectiva tr = traza

S.P: Salinidad potencial

RAS: Relación de Adsorción de Sodio

PSS: Porcentaje de Sodio Soluble

CSR: Carbonato de Sodio Residual

* = según RICHARDS, 1954 (U.S. Salinity Laboratory), modificada por el Comité de Consultores Universidad California 1972, (Riverside, California).

Fecha: Cbba., Febrero de 2019.

Daniel Mancilla Castro
Ing. Daniel Mancilla Castro C.
JEFE DE LABORATORIO
DE SUELOS Y AGUAS
FCAPVF - UMSS

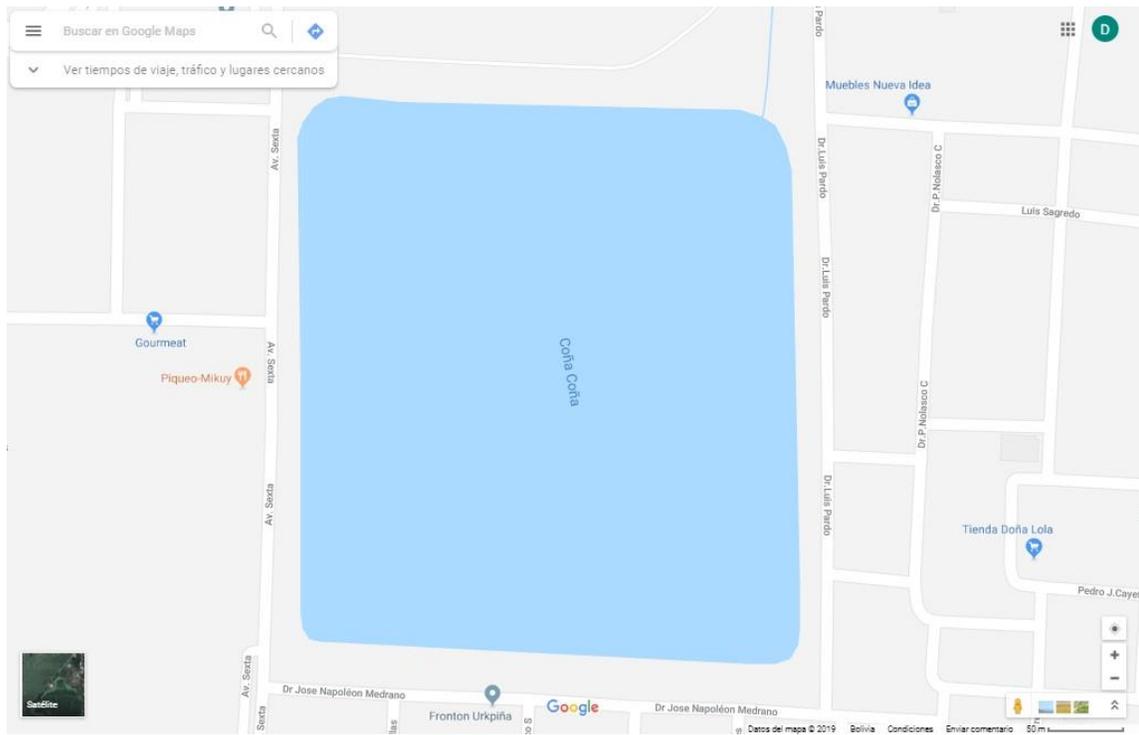


Anexo 5. Planilla de toma de datos para el diseño pre experimental

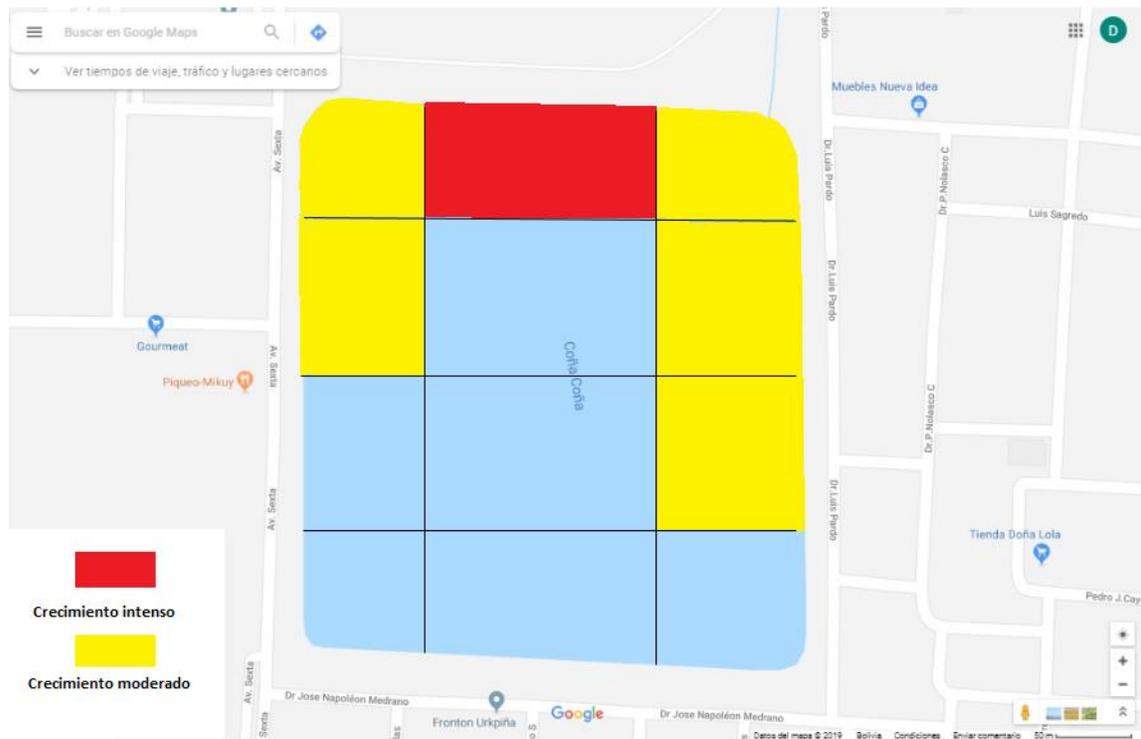
Planilla de toma de datos para el diseño pre experimental

Fecha	Día de cosecha	Azolla sembrada	Azolla obtenida	Semilla (25 %)	Rendimiento
19/03/19	8	4000 g	5295 g	1324 g	1295 g
27/03/19	16	1324 g	5947 g	1487 g	9623 g
4/04/19	24	1487 g	4702 g	1176 g	3215 g
12/04/19	32	1176 g	4249 g	1062 g	3073 g
20/04/19	40	1062 g	2796 g	699 g	1734 g

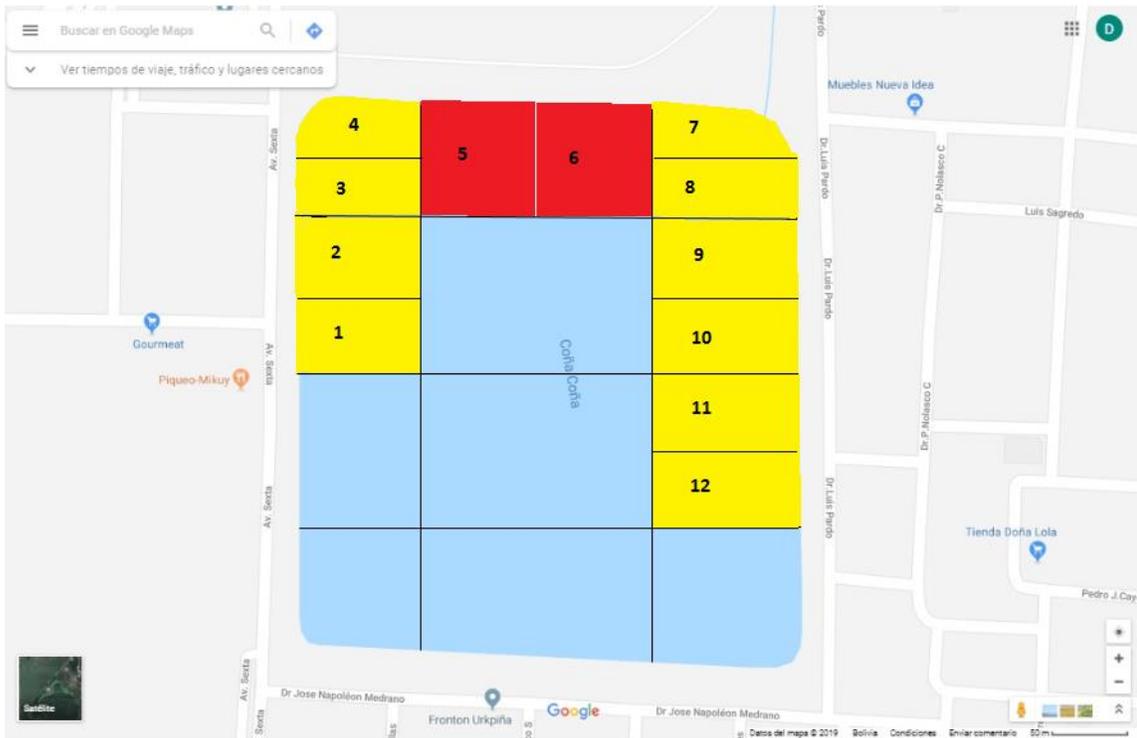
Anexo 7. Laguna Coña Coña. Cercado - Cochabamba



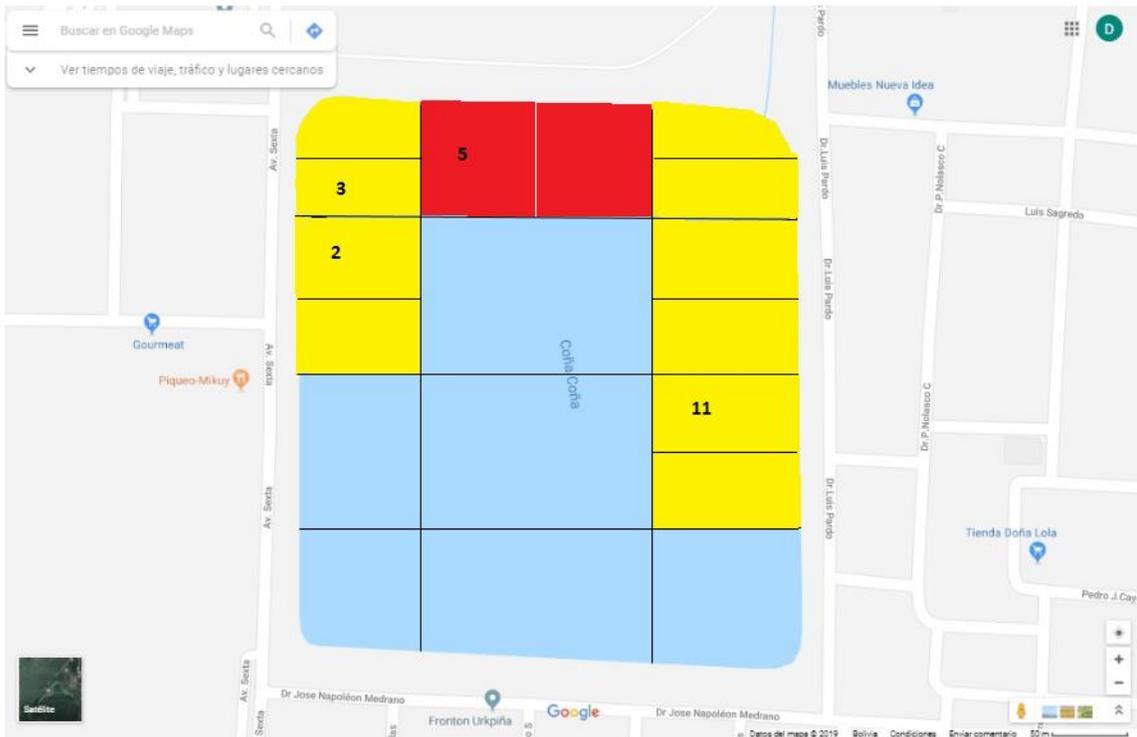
Anexo 8. Zonas de crecimiento de *Azolla filiculoides* en la laguna Coña Coña



Anexo 9. Delimitación de los conglomerados



Anexo 10. Conglomerados seleccionados



Anexo 11. Diseño pre experimental









Anexo 12. Diseño completamente aleatorizado









Anexo 13. Pelos radicales de *Azolla filiculoides* obtenida de la laguna Coña Coña y la del ensayo preexperimental.



***Azolla filiculoides* obtenida de la laguna Coña Coña**

***Azolla filiculoides* obtenida del ensayo preexperimental**

Anexo 14. Presencia de algas en el ensayo experimental (DCA)





Anexo 15. Resultados del Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario de Cochabamba (LIDIVECO)

MINISTERIO DE DESARROLLO RURAL Y TIERRAS
 SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA E INOCUIDAD ALIMENTARIA - SENASAG
 LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN Y DIAGNÓSTICO VETERINARIO COCHABAMBA
LIDIVECO

R-LAA-017

Nº de Revisión: 01

Fecha de Emisión: 2019/12/20

Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYO

Nº Código:	19711	Acta de muestreo:	-
Propietario o Nombre del establecimiento:	DANIEL MANCILLA CASTRO	Solicitante:	DANIEL MANCILLA CASTRO
Producto:	HELECHO DE AGUA (AZOLLA FILICULOIDES)	Dirección:	Km 5.5 Blanco Galindo Telf: 72222589
Marca:	-	Objeto de análisis:	CONTROL INTERNO
Descripción del producto:	1 BOLSA DE HELECHO DE AGUA (AZOLLA FILICULOIDES) CANT. APROX. 800 g		
Fecha de elaboración:	-	Nº de Lote:	-
Fecha Vencimiento:	-	Fecha y hora de recepción (Lab.):	2019-05-17 16h 00 min
Fecha y hora de muestreo:	2019-05-16	Fecha y hora inicio de ensayo:	2019-05-21 9h 00min
Muestreado por:	Daniel Mancilla	Fecha final del ensayo:	2019-05-23 9h 30min



RESULTADOS

FISICOQUIMICO:

ENSAYO REALIZADO	Referencia del Método	UNIDADES	Resultado obtenido	Límite Permitido		Referencia del Límite
				Mínimo	Máximo	
FÍSICOS:						
Humedad	NB-074-2000	%	93.36	S/L	-	-
Cenizas	NB-075-2000	%	1.33	S/L	-	-
Hidratos de Carbono	NB-668-1996	%	2.90	S/L	-	-
Valor Energético	NB-312032-2006	Kcal/g	18.04	S/L	-	-
QUÍMICOS:						
Proteína	NB-35002-2014	%	1.40	S/L	-	-
Fibra	NB-312005-2002	%	0.95	S/L	-	-
Grasa	NB-103-1997	%	0.08	S/L	-	-



OBSERVACIONES:

- Ensayos a realizar a solicitud del remitente.
- Sin límites permitidos el laboratorio no cuenta para el producto en específico.
- Los datos registrados en el informe de ensayo fueron proporcionados por el remitente.
- Los resultados están expresados en base húmeda.
- Para el análisis de la muestra se realizó un pool de las muestras remitidas al laboratorio



NO REPRODUCIR ESTE INFORME DE ENSAYO DE MANERA TOTAL O PARCIAL
 Cualquier alteración, sustitución, adulteración o raspadura en el Informe de ensayo, anula su validez.
 Fecha de impresión 28/05/2019 7:45:00

Dirección: Av. Blanco Galindo, Km. 12,5 Calle Cincinato Prado s/n Quillacollo
 Teléfono/Fax: (591) 4-4260633 • Email: contacto.lidiveco@senasag.gob.bo
 Cochabamba - Bolivia