

Efecto de la Concentración de Nutrientes en el Desarrollo y Fijación de Nitrógeno de *Azolla filiculoides*¹

I. Vidal*, L. Longeri*, M. Leal*

ABSTRACT

The effects of P, K, Ca, Mg and Fe concentrations in the growth rate and nitrogen fixing capacity of a strain of *Azolla filiculoides*, collected in Chillán, Chile, were studied under greenhouse conditions. The results showed that the optimum foliar levels correspond to P = 0.16%, K = 1.3% - 7.0%, Ca = + 0.25%, Mg = + 0.15%, Fe 250 ppm - 550 ppm and the optimum concentrations in the nutrient solution were P = + 0.92 ppm, K = 5 ppm - 125 ppm, Ca = + 125 ppm, Mg = + 16 ppm and Fe = 0.25 ppm - 0.55 ppm.

INTRODUCCION

El helecho flotante denominado *A. filiculoides* Lam. es posible encontrarlo en Chile en esteros, lagunas, aguas estancadas y arrozales (17). Durante los últimos años, esta planta ha atraído la atención de científicos, por su rápido crecimiento y habilidad para fijar el N atmosférico, gracias a su asociación simbiótica con una cianobacteria (*Anabaena azollae* Stras.) y por su posibilidad de uso como biofertilizante en arroz (7, 11, 14). *Azolla* posee también un tejido rico en minerales y proteínas, lo que hace posible utilizarlo como forraje y alimento para aves (4).

En condiciones óptimas *Azolla* dobla su biomasa en dos o tres días, y fija de 2 kg a 4 kg N/ha/d (16, 18) y contiene de 4% a 6% de N en su tejido seco. Entre 25 d y 35 d, *Azolla* puede fácilmente fijar suficiente N para producir 1840 a 3680 kg/ha de arroz (9).

Azolla ha sido usada como biofertilizante, en forma extensiva, solamente en China y Vietnam. Se han

COMPENDIO

Se determinó, en condiciones de invernadero, el efecto de diferentes concentraciones de los nutrientes P, K, Ca, Mg y Fe sobre la tasa de crecimiento y capacidad de fijación de N en una cepa de *Azolla filiculoides* recolectada en Chillán, Chile. Los resultados mostraron que los niveles foliares óptimos corresponden a P = 0.16%; K = 1.3% - 7.0%; Ca = + 0.25%; Mg = + 0.15%; Fe = 250 ppm - 550 ppm, y las concentraciones más adecuadas en el medio nutritivo fueron P = + 0.92 ppm; K = 5 ppm - 125 ppm; Ca = + 125 ppm; Mg = + 16 ppm y Fe = 0.25 ppm - 0.55 ppm.

Palabras clave: *Azolla*, fijación de nitrógeno, nutrientes, biofertilizante.

efectuado investigaciones en países de Asia, Africa y Norteamérica y hay considerable interés por su uso en Latinoamérica (12).

El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de los nutrientes P, K, Ca, Mg y Fe sobre el crecimiento y fijación de nitrógeno de la especie *A. filiculoides*.

MATERIALES Y METODOS

Esta experiencia se realizó en condiciones de invernadero, durante el período de octubre de 1987 a febrero de 1988. Plantas de *Azolla*, correspondientes a la especie *A. filiculoides*, se recolectaron en un arrozal ubicado 3 km al noroeste de Chillán (36° 34' latitud S y 72° 06' longitud O). Este ecotipo corresponde a la clave UCA-3 de la colección de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción.

Inicialmente, las plantas se reprodujeron vegetativamente en una solución Hoagland al 40%, libre de N, que contenía la siguiente composición KH₂PO₄, 5.45 mg/0.1 l; KCl, 14.9 mg/0.1 l; CaCl₂ x 2H₂O, 29.3 mg/0.1 l; MgSO₄ x 7H₂O, 19.7 mg/0.1 l; Sequestrene 330 Fe, 0.25 mg/0.1 l; MnSO₄ x H₂O, 0.003 mg/0.1 l; Na₂MoO₄ x 2H₂O, 0.015 mg/0.1 l; H₃BO₃, 0.5 mg/0.1 l; ZnSO₄ x 7H₂O, 0.05 mg/0.1 l; CuSO₄ x 5H₂O, 0.02 mg/0.1 l; CoCl₂ x 6H₂O, 0.05 mg/0.1 l. El pH de la solución se

¹ Recibido para publicación el 6 de julio de 1992.

Parte del Proyecto 91-0356 fue financiado por el Fondo de Investigación Científica y Tecnológica (FONDECYT), Chile.

* Depto. de Suelos, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán, Chile.

ajustó en un valor de 5.5, usando NaOH 0.1 N. Los requerimientos de *Azolla* fueron estudiados, suprimiendo individualmente del medio los siguientes elementos: P, K, Ca, Mg y Fe. Con el fin de determinar la concentración óptima para el crecimiento y el nivel crítico de cada elemento en el tejido de la planta, esta se cultivó en diferentes soluciones con concentraciones crecientes de cada uno de los elementos.

Las concentraciones usadas fueron las siguientes:

P: 0 - 0.2 - 0.8 - 3.2 - 12.8 ppm

K: 0 - 1 - 5 - 25 - 125 ppm

Ca: 0 - 1 - 5 - 25 - 125 ppm

Mg: 0 - 0.25 - 1 - 4 - 16 ppm

Fe: 0 - 0.25 - 0.5 - 1 - 1.5 - 2 ppm

Cada medio se inoculó con 1 g de *Azolla* fresca, colocada en depósitos plásticos de 195.5 cm², con capacidad para 900 ml de solución nutritiva. Las soluciones fueron cambiadas semanalmente. Con el propósito de estabilizar el material, se efectuaron dos cultivos sucesivos en un período de 15 d, sometidos a las diferentes concentraciones de los nutrimentos estudiados. Posteriormente se realizó la experiencia, utilizando como inóculo 1 g de peso fresco por cada depósito, con cuatro repeticiones por tratamiento; al cabo de 15 d de desarrollo, se evaluó el peso fresco, peso seco, fijación de N y tiempo de duplicación. Se analizó, además, la concentración en la planta de cada uno de los nutrimentos evaluados.

La actividad de la enzima nitrogenasa se determinó mediante la técnica de reducción de acetileno descrita por Hardy *et al.* (5). Para el análisis de N se usó el método semimicroKjeldahl (2) y nesslerización directa (8). La concentración de P, K, Ca, Mg y Fe en el tejido se precisó después de una digestión nitro-perclórica, entonces el P se evaluó por colorimetría, el Ca, Mg y Fe por absorción atómica y el K por fotometría de llama.

La tasa de crecimiento de *Azolla* se midió por medio del tiempo de duplicación y la tasa de crecimiento relativo (TCR), la cual corresponde a los gramos de peso fresco generado por cada gramo de inóculo durante un día y se calcula de acuerdo con Hunt (6), mediante la siguiente relación:

$$TCR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

Donde:

W_2 = peso de la planta al tiempo final;

W_1 = peso de la planta al tiempo inicial;

t_2 = tiempo de crecimiento (final) en días;

t_1 = tiempo inicial en días.

Para el cálculo del tiempo de duplicación se usa la fórmula:

$$t = \frac{\ln 2}{TCR}$$

Donde:

t = tiempo de duplicación (d);

TCR = tasa de crecimiento relativo (g/g/d).

RESULTADOS Y DISCUSION

Fósforo

El comportamiento de *Azolla* en los distintos niveles de P, se presenta en la Fig. 1 y en el Cuadro 1. El desarrollo de la planta se afectó, en mayor grado, con una concentración igual o menor de 0.2 ppm de P en el medio, alcanzando una producción inferior a un 50% del potencial máximo. En estas condiciones, se presentaron síntomas de deficiencia, caracterizados por una coloración rojiza que comienza en el centro de las hojas, y que se extiende, luego, hacia el margen. Junto con esto, las raíces también tomaron esta tonalidad y crecieron largas y muy frágiles, tendiendo fácilmente a separarse de la planta.

En los medios con 0.8 ppm, 3.2 ppm y 12.8 ppm de P, se encontraron las plantas con mejor desarrollo, y con pocas variaciones en los indicadores de rendimiento y fijación de nitrógeno. El nivel crítico de P se define como aquella concentración en la que se alcanza el 90% de la producción máxima, y corresponde a 0.16% de P en el tejido, valor muy similar al nivel crítico de 0.15% informado por Ali y Watanabe (1), asociado con una concentración en el medio de 0.92 ppm de fósforo. Esto concuerda con lo declarado por Yatazawa *et al.*, (21),

Cuadro 1. Efecto de diversos niveles de P, K, Ca, Mg y Fe en el crecimiento de *A. filiculoides*, fijación de nitrógeno y actividad nitrogenásica, en un medio libre de nitrógeno (período de desarrollo 15 días).

Concentración de nutrimento (ppm)	Materia seca (g/m ²)	Tiempo de duplicación (1) (d)	Nitrógeno fijado (mg/m ²)	Actividad nitrogenásica ($\mu\text{mC}_2\text{H}_4/\text{m}^2/\text{h}$)	Tasa crecimiento relativo (g/g/d)
Fósforo					
0	345 ± 25	5.09 ± 0.19	240 ± 1	3.1 ± 1.4	0.14
0.2	924 ± 37	3.35 ± 0.05	864 ± 22	132.2 ± 7.7	0.21
0.8	1 324 ± 39	2.98 ± 0.03	1 553 ± 68	180.0 ± 33.1	0.23
3.2	1 344 ± 91	2.87 ± 0.05	2 008 ± 39	163.9 ± 31.5	0.24
12.8	1 491 ± 86	2.88 ± 0.05	1 966 ± 28	202.7 ± 44.9	0.24
Potasio					
0	150 ± 16	9.09 ± 0.99	160 ± 10	24.2 ± 4.3	0.08
1.0	546 ± 18	4.10 ± 0.06	1 240 ± 27	295.3 ± 10.8	0.17
5.0	739 ± 64	3.64 ± 0.11	1 662 ± 233	587.9 ± 20.4	0.19
25.0	870 ± 96	3.43 ± 0.14	1 597 ± 138	596.9 ± 49.3	0.20
125.0	928 ± 45	3.35 ± 0.05	1 349 ± 68	473.5 ± 6.2	0.21
Calcio					
0	*	*	*	*	*
1.0	147 ± 37	9.75 ± 2.20	149 ± 31	23.6 ± 5.3	0.07
5.0	468 ± 36	4.39 ± 0.15	510 ± 20	103.8 ± 21.6	0.16
25.0	658 ± 33	3.80 ± 0.08	702 ± 61	154.6 ± 33.0	0.18
125.0	1 317 ± 61	2.99 ± 0.04	1 888 ± 108	158.0 ± 15.9	0.23
Magnesio					
0	*	*	*	*	*
0.25	*	*	*	*	*
1.00	252 ± 17	6.09 ± 0.25	357 ± 23	99.4 ± 11.1	0.11
4.00	1 018 ± 152	3.26 ± 0.18	1 163 ± 201	292.3 ± 19.3	0.21
16.00	1 367 ± 54	2.95 ± 0.03	1 962 ± 54	15.8 ± 31.5	0.23
Hierro					
0	669 ± 10	4.31 ± 0.10	876 ± 21	33.6 ± 2.4	0.16
0.25	1 330 ± 139	3.59 ± 0.15	1 893 ± 210	378.7 ± 92.5	0.19
0.50	957 ± 100	3.79 ± 0.13	1 524 ± 153	341.5 ± 47.4	0.18
1.00	545 ± 47	4.70 ± 0.18	789 ± 95	206.4 ± 13.4	0.15
1.50	155 ± 21	10.20 ± 1.23	176 ± 21	38.6 ± 5.1	0.07
2.00	61 ± 15	45.55 ± 25.74	65 ± 10	5.3 ± 1.4	0.01

Inóculo equivalente a 50 g/m² de materia fresca.

(1) Cálculos efectuados con base en materia seca.

(*) Sin evaluación por muerte de la planta.

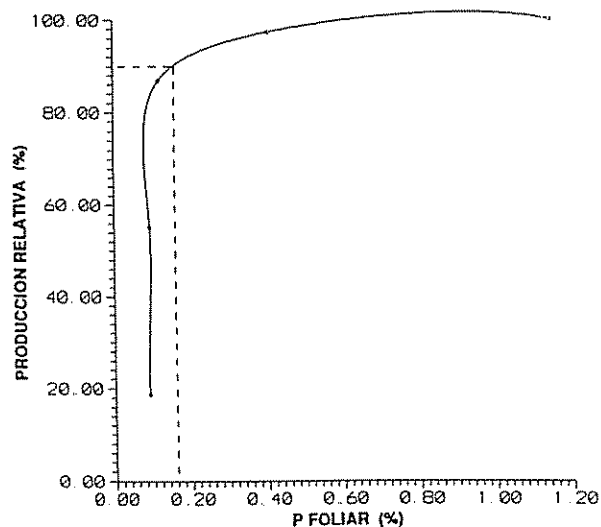


Fig. 1. Relación entre el contenido de fósforo en la planta de *Azolla filiculoides* y producción relativa.

quienes encontraron que el crecimiento y la fijación de N en *Azolla* se ven afectados si la solución nutritiva tiene menos de 0.93 ppm de P (0.03 mmol P/l).

Se apreció en los niveles óptimos de P en el medio que un inóculo equivalente a 50 g/m² de *Azolla* fresca produce, en un período de 15 d, alrededor de 1400 g de material fresco, con un tiempo de duplicación de 2.88 días. Por otra parte, con 3.2 ppm de P, se alcanzó el valor más alto de fijación de N (2008 mg N/m²).

De acuerdo con los resultados, la deficiencia de P inhibió el crecimiento y la fijación de nitrógeno. Se comprobó, además, la capacidad de la planta para acumular P en su tejido, pues alcanzó niveles cercanos a 1.2%, valores excepcionales en cualquier tejido vegetal. En efecto, Lumpkin y Plucknett (10) indican que concentraciones de P mayores de 0.23% y hasta 1.59% en la planta, se consideran como un consumo excesivo o de lujo, lo que demuestra que *Azolla* es capaz de almacenar seis veces los requerimientos de este nutriente, útil en períodos de déficit.

Potasio

En relación con el Cuadro 1 el desarrollo de *Azolla*, se vio más afectado en los medios con una concentración de 0 ppm y 1 ppm de K, y alcanzó con esta última una producción equivalente al 80% de la producción máxima. En estas concentraciones no se presentaron síntomas morfológicos visuales de deficiencia, situación

muy similar a lo indicado por Watanabe *et al.* (18), a quienes les fue difícil confirmar deficiencias con este nutriente, ya que las plantas no desarrollaron cambios de coloración.

El mejor desarrollo de la planta se manifestó en las concentraciones de 5 ppm a 125 ppm de K en el medio, y el nivel crítico foliar de deficiencia correspondió a 1.3% (Fig. 2). Al respecto, Quintero (13) menciona una concentración óptima en el tejido foliar de 1% a 2% y Yatazaw *et al.* (21) obtuvieron un nivel crítico de 15 ppm en el medio nutritivo.

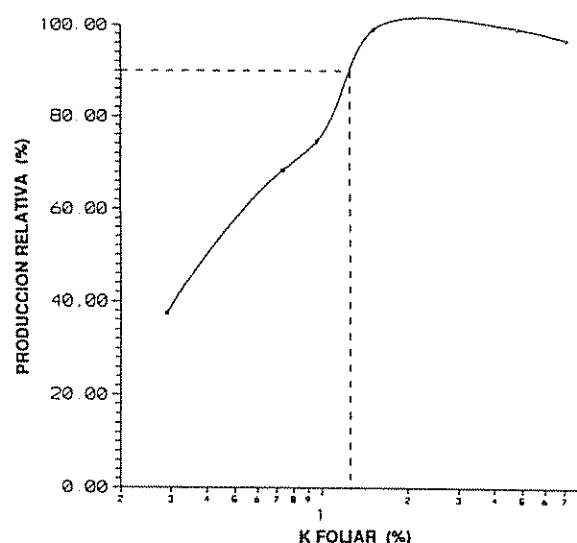


Fig. 2. Relación entre el contenido de potasio en la planta de *Azolla filiculoides* y la producción relativa.

Con una concentración de 5 ppm de K en el medio, se alcanzó el valor más alto de contenido de N en la planta. Por otra parte, se aprecia que en niveles de 5 ppm, 25 ppm y 125 ppm de K en el medio, inóculos de 50 g/m² de *Azolla* producen alrededor de 900 g de material fresco, con un tiempo de duplicación de 3.35 días.

Según los resultados obtenidos, la deficiencia de K no presentó un efecto tan pronunciado en la inhibición del crecimiento y la fijación de nitrógeno. Además, la enzima nitrogenasa no se vio afectada; por eso se mantuvo activa aún en concentraciones deficitarias, lo que concuerda con los resultados logrados por Watanabe *et al.* (18).

Calcio

En la Fig. 3 se presenta la relación entre la producción de materia seca, como porcentaje de la producción máxima observada y el contenido de Ca en la planta, después de 15 d de desarrollo en concentraciones de 0 ppm a 125 ppm de calcio.

La deficiencia de Ca limitó considerablemente el desarrollo de *Azolla*, y se manifestó la muerte de la planta antes de los 15 d en el tratamiento sin calcio. En el nivel de 1 ppm, la planta mostró una sintomatología clara de deficiencia, que se declaró como necrosis y coloración pardo rojiza de las frondas.

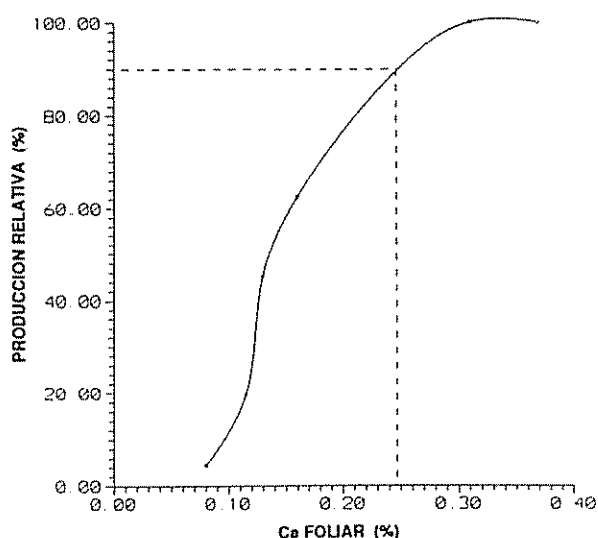


Fig. 3. Relación entre el contenido de calcio en la planta de *A. filiculoides* y producción relativa.

La producción de materia seca se incrementó directamente, hasta una concentración de 125 ppm de Ca en el medio y de 0.37% en el tejido foliar. El 90% de la producción máxima se obtuvo con una concentración de 0.25% de Ca en el tejido.

En el Cuadro 1 se presenta el efecto de la concentración de Ca en el medio sobre la producción de materia seca, el tiempo de duplicación, el N fijado, la actividad nitrogenásica y la tasa de crecimiento relativo. Estos resultados corroboran lo señalado anteriormente y manifiestan una concentración de Ca mayor de 125 ppm, en el medio, como la óptima para el crecimiento de la planta y la fijación de nitrógeno. El tiempo de duplicación varió de 9.75 d a 2.99 d; este último valor

corresponde a lo informado por otros autores (12, 13, 15), como una tasa óptima de crecimiento. La tasa de crecimiento relativo se presentó en un rango de 0.07 g a 0.23 g por gramo de inóculo al día.

La fijación de N y la actividad de la enzima nitrogenasa, se vieron directamente favorecidas con el incremento de Ca en el medio, llegando a una acumulación máxima de 18.9 kg N/ha en un período de 15 d y 158.05 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{m}^2/\text{h}$, respectivamente. Con ausencia de Ca, de acuerdo con observaciones microscópicas, el alga no estaba presente en la planta.

Magnesio

El crecimiento de *Azolla* en los medios con 0 ppm y 0.25 ppm de Mg fue deprimido totalmente; primero se observó una necrosis generalizada, luego la muerte y la destrucción de las plantas (Cuadro 1). Esto tuvo como consecuencia una actividad nitrogenásica prácticamente nula. El análisis de contenido de nitrógeno y el porcentaje de Mg de la planta no se pudieron realizar en estos tratamientos, por el escaso material recolectado.

El desarrollo de las plantas en niveles de 1 ppm y 4 ppm de Mg, en el medio, fue notable; sin embargo se observaron síntomas morfológicos de deficiencias de Mg, más acentuados en el tratamiento de 1 ppm, que comenzaron con un leve amarillamiento de las hojas, pasando luego a un color pardo grisáceo, seguido de la súbita muerte de frondas en algunas plantas.

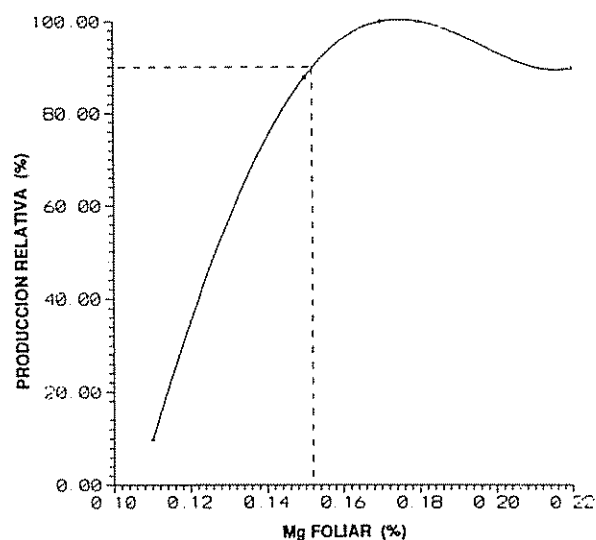


Fig. 4. Relación entre el contenido de magnesio en la planta de *A. filiculoides* y producción relativa.

El máximo crecimiento se manifestó en el nivel de 16 ppm de Mg en el medio, asociado a una concentración en la planta de 0.17% de magnesio. El nivel crítico en el tejido foliar correspondió a 0.15%, el valor más bajo señalado por Quintero (13), quien indica como nivel óptimo un 0.5% de Mg en la planta.

En relación con el efecto de la concentración de Mg en el medio sobre la producción de materia fresca, el tiempo de duplicación, el N fijado, la actividad de la enzima nitrogenasa y la tasa de crecimiento relativo, se puede observar que con una concentración de 16 ppm de Mg en el medio, un inóculo de 50 g/m² de *Azolla* fresca produce, al cabo de 15 d, 1367 g/m² de material fresco, con un tiempo de duplicación de 2.95 días. La tasa final de fijación de N fue de 19.6 kg/ha y la actividad final de la enzima nitrogenasa de 316 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{m}^2/\text{h}$. Los resultados demuestran la gran influencia del Mg en el crecimiento de la planta y la fijación del N; eso indica que, en concentraciones deficitarias inferiores a 1 ppm de Mg en el medio nutritivo, la muerte de planta es inevitable. Esto concuerda, ampliamente, con los resultados de las investigaciones realizadas sobre contenido de nutrientes en *A. pinnata* cultivada en una solución carente de Mg, en las que se obtuvo una producción de materia fresca de sólo un 6%, en relación con el control (18).

Hierro

El óptimo desarrollo de la planta y fijación de N se produjeron en concentraciones de 0.25 ppm a 0.55 ppm de Fe en el medio (Cuadro 1), asociadas en 250 ppm y 550 ppm de Fe en la planta (Fig. 5). Por lo tanto, estos últimos valores corresponden a los niveles críticos inferior y superior de concentración foliar, respectivamente.

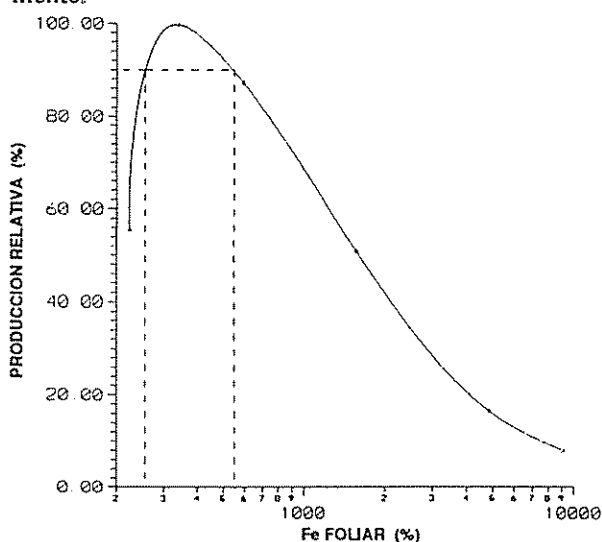


Fig. 5. Relación entre el contenido de hierro en la planta de *A. filiculoides* y producción relativa.

Por otro lado, el Fe al estar en concentraciones superiores a 0.55 ppm en el medio tuvo un claro efecto inhibitorio en el desarrollo de *Azolla*, y se llegó, con una concentración de 2 ppm, solamente al 8% de la producción máxima. Este efecto se vio asociado directamente a la concentración foliar de Fe, que se presentó en un rango de 224 ppm a 9095 ppm, una manifestación de la capacidad de acumulación de metales pesados de este helecho. Característica corroborada por Lumpkin y Plucknett (10), quienes señalan la particularidad de esta planta para acumular Fe, Mn, Cu y Zn.

Llama la atención que la mayoría de los autores (13, 20) utilizan medios nutritivos con una concentración entre 2 ppm y 5 ppm de Fe, en la forma de citrato de Fe o Fe-EDTA. En la presente experiencia se utilizó como fuente Fe-DTPA (Sequestrene 330 Fe), el que, posiblemente asociado a pH de carácter ácido en la solución, aporta la mayoría del Fe como ión ferroso y, por consiguiente, queda más disponible para su absorción.

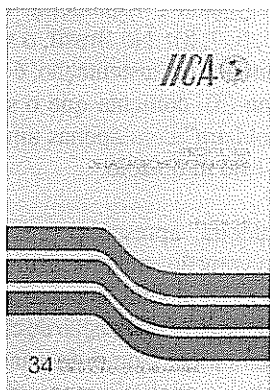
De acuerdo con los resultados alcanzados, se deduce que el rango óptimo en cuanto a la concentración de Fe en el medio y en la planta, es muy estrecho en comparación con otros nutrientes, por lo cual, la disponibilidad de este elemento sería un factor clave en el manejo de *Azolla*.

LITERATURA CITADA

1. ALI, S; WATANABE, I. 1986. Response of *Azolla* to P, K, and Zn in different wetland rice soils in relation to chemistry of floodwater. *Soil Science and Plant Nutrition* 32(2):239-253.
2. ALLEN, O.N. 1957. Experiments in soil bacteriology. 3 ed. Minneapolis, Minnesota, Burgess Publishing Co. 117 p.
3. BECKING, J.H. 1979. Environmental requirements of *Azolla* for use in tropical rice production. In *Nitrogen and rice*. Los Baños, Philippines, IRRI. p. 345-373.
4. BUCKINGHAM, K.W. *et al.* 1978. Nutritive value of the nitrogen fixing aquatic fern *Azolla filiculoides*. *Agricultural and Food Chemistry* 26(5):1230-1234.
5. HARDY, R.W.F. *et al.* 1968. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation; laboratory and field evaluation. *Plant Physiology* 43(8):1185-1207.
6. HUNT, R. 1982. Concepts in plant growth analysis. In *Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis*. Scotland, Edward Arnold. p. 14-46.
7. KONDO, M; KOBAYASHI, M.; TAKAHASHI, E. 1989. Effect of phosphorus on *Azolla* and its utilization in rice culture in Niger. *Plant and Soil* 120:165-170.
8. LONGERI, L.; ETCHEVERS, J.; VENEGAS, J. 1979. Metodología de perfusión para estudios de nitrificación en suelo. *Ciencia e Investigación Agraria (Chile)* 6(4):295-299.

9. LUMPKIN, T.A.; PLUCKNETT, D.L. 1980. *Azolla*: Botany, physiology, and use as a green manure. *Economic Botany* 34(2):111-153.
10. LUMPKIN, T.A.; PLUCKNETT, D.L. 1982. *Azolla* as a green manure: Use and management in crop production. Boulder, Colorado, Westview Press. 230 p.
11. MIAN, M.H.; AZMAL, K.M. 1989. The response of *Azolla pinnata* R. Brown to the split application of phosphorus and the transfer of assimilated phosphorus to flooded rice plants. *Plant and Soil* 119:211-216.
12. PETERS, G.A. et al. 1980. *Azolla-Anabaena* association: Morphological and physiological studies. In *Nitrogen fixation*. Newton and Orme-Johnson (Eds.). Univ. Park Press, Baltimore. v. 2, p. 293.
13. QUINTERO, R. 1988. Evaluación y uso del biofertilizante *Azolla* en arroz (*Oryza sativa*) bajo condiciones de invernadero. Tesis M.Sc. Chapingo, Méx., Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Centro de Edafología. 215 p.
14. SING, A.L.; SINGH, P.K. 1989. A comparison of the use of *Azolla* and blue-green algal bio-fertilizers with green manuring, organic manuring and urea in transplanted and direct-seeded rice. *Experimental Agriculture* 25:485-491.
15. SUBUDHI, P.R.; SINGH, P.K. 1979. Effect of macronutrient and pH on the growth, nitrogen fixation and soluble sugar content of water fern *Azolla pinnata*. *Biologia Plantarum* 21(1):66-70.
16. TALLEY, S.N.; RAINS, D.W. 1980. *Azolla filiculoides* Lam as a fallow-season green manure for rice in a temperate climate. *Agronomy Journal* 72:11-18.
17. VIDAL, I.; LONGERI, L. 1990. Prospección de la asociación simbiótica *Azolla filiculoides* - *Anabaena azollae* en arrozales en Chile. *Ciencia e Investigación Agraria* 17(1-2):27-32.
18. WATANABE, I. et al. 1977. Utilization of the *Azolla-Anabaena* complex as a nitrogen fertilizers for rice. Manila, Philippines, IRRI. Research Paper Series no. 11. 14 p.
19. WATANABE, I. et al. 1981. The *Azolla-Anabaena* complex and its use in rice culture. Manila, Philippines, IRRI. Research Paper Series no. 69. 11 p.
20. WATANABE, I. 1982. *Azolla-Anabaena* symbiosis its physiology and use in tropical agriculture. In *Microbiology of tropical soils and plant productivity*. Y.R. Dommerges, H.G. Diem (Eds.). Martinus Nijhoff, The Netherlands. p. 169-185.
21. YATAZAWA, M. et al. 1980. Nitrogen fixation in *Azolla Anabaena* symbiosis as affected by mineral nutrients status. *Soil Science and Plant Nutrition* 26(3):415-426.

LIBRO RECOMENDADO



US\$5.00

Prospectiva de las Agrobiotecnologías. No. 34. Rodolfo Quintero. Programa II. 164 p. Serie Documentos de Programas (ISSN 1011-7741).

Consciente de la importancia de la biotecnología, el IICA ha desarrollado una serie de actividades de apoyo a los países miembros, tendientes a la formulación de políticas apropiadas para la difusión y la generación de agrobiotecnologías. En este contexto se ubica esta publicación, producto de una consultoría realizada por el Dr. Rodolfo Quintero, con el apoyo de ACDI.

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.