

Comportamiento de la azolla (*Azolla* spp.) bajo diferentes condiciones ambientales y de manejo

Behavior of azolla (*Azolla* spp.) under different
environmental and handling conditions

Leonor Rivera Intriago
Universidad Técnica de Machala
(Ecuador)
lriviera@utmachala.edu.ec

Oliverio Vargas González
Universidad Técnica de Machala
(Ecuador)
ovargas@utmachala.edu.ec

Milton Cun Jaramillo
Universidad Técnica de Machala
(Ecuador)
mcun@utmachala.edu.ec

Irán Rodríguez Delgado
Universidad Técnica de Machala
(Ecuador)
irodriguez@utmachala.edu.ec

Revista Cumbres Vol.3 N°2
Versión impresa ISSN 1390-9541
Versión electrónica ISSN 1390-3365
<http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres>

RESUMEN

En la actualidad debido al incremento de la población a nivel mundial y la degradación continua de los sistemas productivos se requiere de la utilización de alternativas de alimentación amigables con el ambiente, siendo la *Azolla* spp., un helecho acuático con altas potencialidades alimenticias en especies acuáticas y terrestres, que se adapta a ambientes contaminados, pudiéndose emplear en procesos de biorremediación y es capaz de remover nutrientes en efluentes piscícolas. La investigación se desarrolló con el objetivo de determinar la influencia de las condiciones ambientales y de manejo en el crecimiento de la *Azolla*, a través de la medición de su biomasa total, que posibilite el conocimiento de las potencialidades de adaptación y producción de este helecho acuático. Para ello, se utilizó un diseño completamente al azar, en el cual se establecieron cuatro tratamientos asociados con el uso de sustrato orgánico húmedo, o bajo película de agua y en condiciones de sombra o luz. La *Azolla* se trasplantó hacia las unidades experimentales de un reservorio establecido como cepario de plantas madres en la finca agrícola El Cisne, Cantón Pasaje y se efectuaron las mediciones de biomasa total al mes de trasplantada. Se concluye que es una planta de fácil propagación en medios húmedos y a temperaturas cálidas, alcanzando su mayor peso y desarrollo en el tratamiento donde se utilizó sustrato orgánico con columna de agua sin techo (2340,5 g) valor superior y diferente estadísticamente a los demás tratamientos objeto de estudio.

Palabras clave: *Azolla*, sustrato orgánico, manejo, condiciones climáticas, producción de biomasa.

ABSTRACT

At present, due to the increase of the population worldwide and the continuous degradation of the productive systems, it is necessary to use environmentally friendly alternatives. *Azolla* spp. is an aquatic fern with high nutritional potential among aquatic and terrestrial species. It adapts to polluted environments and is capable of removing nutrients from fish effluents, enabling its use in processes of bioremediation. This study was developed with the objective of determining the influence of the environmental and management conditions on the growth of *Azolla* spp., through the measurement of its total biomass. It would allow the knowledge of the adaptation and production potential of this aquatic fern. For this purpose, a completely random design was used, which established four treatments associated with the use wet organic substrate or under a water film and conditions of shadow or direct light. *Azolla* spp. was transplanted to the experimental units of a reservoir established as a mother plant in "El Cisne" agricultural farm located in Pasaje. Measurements of total biomass were conducted after the month of its transplantation. It is concluded that it is a plant of easy propagation in humid environments and at warm temperatures, reaching its greater weight and development in the treatment in which organic substrate was used with

a column of water without roof superior value (2340,5 g) and different statistically to the other treatments under study.

Keywords: Azolla, organic substrate, management, climatic conditions, biomass production.

INTRODUCCIÓN

El incremento de la población a nivel mundial, unido al aumento de tierras destinadas a la agricultura, ganadería y producción acuícola, con la finalidad de suplir las necesidades alimentarias de los seres humanos, ha generado impactos negativos en los ecosistemas y la disminución de bosques primarios, secundarios y manglares.

Ante la necesidad de producir alimentos sin generar alteraciones en los ecosistemas naturales, se deben crear condiciones para el aprovechamiento de las bondades que brindan una gran cantidad de cultivos alternativos de fácil manejo y producción, dentro de las que se encuentra la Azolla (*Azolla* spp.), la cual constituye un alimento natural para peces, aves, cerdos y ruminantes (Singh, Kumar, & Sanmukh, 2010; Labib, Mabrouk, & Zaki, 2010).

La Azolla pertenece a un género de la familia Azollaceae, helechos criptógamos que flotan libremente. El nombre se deriva de las palabras griegas Azo (secar) y ollya (matar) lo que significa que al helecho lo destruye la sequía, por lo que debe permanecer siempre en lugares húmedos y con poca luminosidad.

Presenta un corto tallo ramificado, con 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 rojizo y carmelita, coloración que puede estar asociada con la fertilización del reservorio acuático, contaminación o exceso de luz solar. Prefiere lugares sombreados (Peters, Calvert, Kaplan, Ito, & Toia Jr, 1982).

El género Azolla presenta diversas especies identificadas mediante el uso de técnicas moleculares. En el Sur de África se realizó un extenso muestreo con la finalidad de identificar las especies de Azolla existentes mediante secuenciación, encontrándose que 24 muestras correspondían a la especie *A. cristata*, la que constituye un pariente más cercano de *A. filiculoides* y un huésped adecuado, según ensayos de especificidad (Madeira *et al.*, 2016).

Según Espinas, Bibja, Del Rosario, & Watanabe (1979) citado por Ly (2000) el género Azolla cuenta con seis especies conocidas: *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 tropical y subtropical).

El tamaño de la planta de Azolla varía entre las diferentes especies; *A. pinnata*, por ejemplo, alcanza entre 1-2 cm de diámetro y en *A. nilotica* es de unos 15 cm. El color varía desde verde hasta purpurino rojo. Las raíces ad-

venticias cuelgan verticalmente en el agua y pueden penetrar en el sustrato o suelo; su longitud varía con las especies y es de 1 a 2 cm en *A. pinnata* (FAO, 1978).

Madeira *et al.* (2013) determinaron el origen geográfico real de la exótica de Florida para el descubrimiento de agentes de control biológico eficaces mediante criterios moleculares y morfológicos, a través de los que se distinguieron tres subespecies de *A. pinnata* con la exótica de Florida que coincide con la australiana *A. pinnata subsp. pinnata* y se caracterizó como *A. caroliniana*. Además, mencionan que debido al descubrimiento de una *Azolla* ecuatoriana, que antes parecía ser un ancestro paterno de *A. caroliniana*, se considera a esta como especie híbrida.

La *Azolla* realiza simbiosis con cianobacterias de la especie *Anabaena azollae* (Calvert, Pence, & Peters, 1985), la cual vive en las cavidades de las frondas del helecho, siendo capaz de usar su propia energía fotosintética para fijar el nitrógeno atmosférico y producir amonio, lo que es aprovechado por la *Azolla* para cubrir sus propios requerimientos de nitrógeno. Sin embargo, 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* (Naegel, 1998). Su capacidad para realizar simbiosis posibilita su uso en el cultivo de arroz, donde tiene un efecto positivo en el incremento del rendimiento agrícola (Castro, Novo, & Castro, 2002)

Su cultivo es muy sencillo, puede crecer en aguas claras y frescas, así como en aguas con cierto nivel de contaminación, incluso tiene la capacidad para remover fósforo. Además, se considera como biofiltro y atrapante de metales pesados en aguas contaminadas (Singh, Kumar, & Sanmukh, 2010; Labib, Mabrouk, & Zaki, 2010).

Estudios realizados por Iwao (2000), consideran a la *Azolla* como un suplemento nutricional para animales de granja, especialmente en aves, ganado y cerdos, destacando que se podría fomentar este tipo de alimento en otras especies como los peces.

Por otro lado, Marcillo y Recalde (2003) afirman que el género *Azolla* es un recurso alimenticio que presenta un gran potencial, ya que tiene elevada tasa de crecimiento, una gran producción de biomasa, alto contenido de nutrientes, ausencia de factores antinutricionales y fina consistencia.

Investigaciones realizadas por Redding, Tood, & Midlen (1997) demuestran que la *Azolla* es un helecho que tiene la capacidad de remover nutrientes en efluentes piscícolas como nitrógeno amoniacal en un 95 % y fosfatos en un 62 %. Por otro lado, Da Silva (2006) plantean que la *A. filiculoides* remueve nitrógeno y fósforo en efluentes colectados en el fondo de estanques de cría de tilapia.

En la especie *A. filiculoides*, se realizaron investigaciones que consistieron en preparar y estabilizar el Hierro Nano Cero Valente (NZVI) en una planta acuática modificada, para demostrar su potencial para la adsorción/reducción de iones de Pb (II) y Hg (II) de medios acuosos, concluyendo que el NZVI revestido con *A. filiculoides* suprimió la oxidación rápida y la agregación del NZVI inmovilizado, aumentó la probabilidad de transporte ambiental y se redujo la sedimentación y el potencial de toxicidad (Arshadi, Abdolmaleki

M, Mousavinia, Foroughifard, & Karimzadeh, 2017).

Además, Chaux, Caicedo & Fernández (2013) demostraron en experimentos realizados para tratar los efluentes de los cultivos de las tilapias, que la *A. pinnata* logra disminuir significativamente al nitrito, nitrato, demanda biológica de oxígeno, amonio y pH.

Rosales *et al.* (2002) realizaron trabajos con la Azolla como alimento para cerdos, para ello realizaron análisis de cenizas (20,6-24,5 g por Kg seco), fibras totales (500 g), proteínas (280 g por kg seco) y el perfil de aminoácidos que fue favorable para la elaboración de la dieta. Sin embargo, no se obtuvieron los resultados esperados, ya que su nivel de inclusión en la dieta del 35 % en el forraje, disminuyó considerablemente la digestibilidad de la materia seca, las proteínas y la energía en las dieta, aunque probablemente sea debido a su nivel de inclusión muy alto, por eso sugieren los autores potencializar más el estudio de las plantas acuáticas como alimento para los cerdos, ya que las propiedades de la Azolla demuestran ser favorables para la elaboración de las dietas.

La FAO (1978) ha referenciado mejoras en la digestión de alimentos en cerdos cuando es utilizada la Azolla, como forraje, en forma fresca o como harina.

El uso de la Azolla como fertilizante natural en cultivos, especialmente en arroz, está ampliamente estudiada. En trabajos realizados por investigadores de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), en los cuales se ha logrado producirla y propagarla con el objetivo de ser utilizada como fertilizante, se ha obtenido como resultado una propagación de 22,5 t ha⁻¹ mes, equivalente a 600 Kg N ha⁻¹ año; un peso seco del 5%, produce un 7% de aporte de nitrógeno en base seca y un 37,5 % de proteína (PROMSA, 2004).

Montaño (2011) hace referencia a la fijación de nitrógeno y los costos de su utilización en cultivo de arroz, en el caso de la aplicación de urea se obtiene un rendimiento productivo de 4,0 t ha⁻¹ y \$180,00 por costo de su aplicación y para la Azolla una producción de 5,7 t ha⁻¹ y \$25,00 de costo de su aplicación.

En cultivos de peces, en especial en *Labeo rohita*, también se han realizados investigaciones con la Azolla, donde Datta (2011) realizó un estudio comparativo para examinar la tasa de crecimiento, la producción de biomasa y la composición aproximada de seis especies diferentes de Azolla. También, se analizaron los aminoácidos esenciales de diferentes especies de Azolla en fase de crecimiento lineal y se realizó un ensayo de alimentación en los tanques cementados (8,0 x 1,25 m x 1,0 m) para examinar la eficacia de la mezcla seca de Azolla como ingrediente de pienso en la dieta de *Labeo rohita* en porcentajes del 15-25-35 %, obteniendo el mayor aumento de peso con la dieta que contenía 25% de mezcla de Azolla con una tasa de crecimiento específico de 0,7468%/día.

La implementación de sistemas mixtos de alimentación, donde se incluya la utilización de plantas acuáticas podría ser un aporte importante para solucionar las deficiencias proteicas en las dietas, ya que estas pueden producirse fácilmente en la finca a bajo costo, durante todo el año y con un buen contenido de proteína que puede ser aprovechado por animales omnívoros

(Rosales *et al.*, 2002).

La Azolla es un helecho acuático con altas potencialidades alimenticias en especies acuáticas y terrestres, además se adapta a ambientes contaminados, pudiéndose emplear en procesos de biorremediación.

El objetivo de la investigación consistió en determinar la influencia de las condiciones ambientales y de manejo en el crecimiento de Azolla, a través de la medición de su biomasa total, que posibilite el conocimiento de las potencialidades de adaptación y producción de este helecho acuático.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación fue realizado durante el mes de octubre del 2016, en la finca agrícola El Cisne ubicada en la Parroquia Loma de Franco de Cantón Pasaje, Provincia de El Oro, en las coordenadas UTM: 634755.63 m longitud Este y 9630107.73 m de Latitud Sur. El Cantón Pasaje posee un clima caluroso-húmedo con temperaturas que oscilan entre los 20 y 35 °C y precipitaciones que varían entre 500-1250 mm anuales, caracterizado como clima tropical con presencia de períodos secos (GAD Municipal del Cantón Pasaje, 2015) (Figura 1).

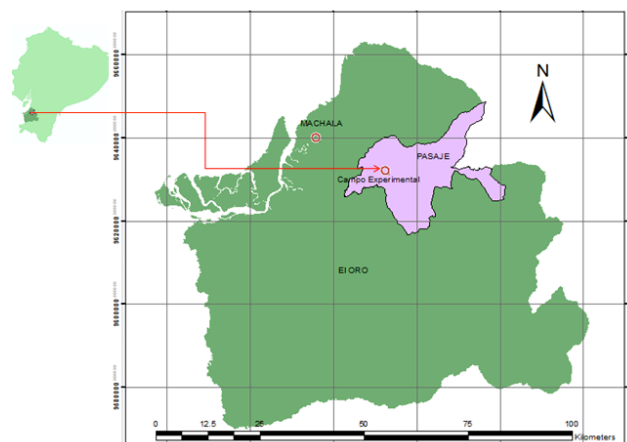


Figura 1. Mapa temático que muestra la ubicación georreferenciada del área experimental.

Para el desarrollo del estudio se utilizó como material de siembra Azolla, procedente de su medio natural, presente en la Universidad Técnica de Machala, la cual fue trasladada y posteriormente trasplantada hacia un estanque en la Finca en el mes de julio de 2016, con una película de agua de 10 cm y que constituyó el reservorio de la cepa madre hasta su posterior establecimiento en cada unidad experimental.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), debido a la presencia de condiciones homogéneas en el material y entorno experimental, con cuatro repeticiones para cada tratamiento objeto de estudio; para lo cual se construyeron 16 estanques de cemento, los que constituyen las unidades

experimentales del estudio; de 1,5 m de largo por 1,6 m de ancho, con una altura de 50 cm, a los mismos que se le adicionó una película de agua dulce de 10 cm (Figura 2).



Figura 2. Estanques de cemento construidos para el desarrollo del experimento.

Los tratamientos objeto de estudio fueron estructurados a partir de la aplicación de sustrato orgánico y en las unidades experimentales se mantuvieron húmedos y en otras con columna de agua. Además, en algunos tratamientos se colocó cubierta para la protección de rayos solares. Estos elementos fueron utilizados como criterio de conformación de grupo para posteriormente efectuar el procesamiento estadístico de los datos (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos del objeto de estudio.

TRATAMIENTO	CONDICIÓN AMBIENTAL Y DE MANEJO
I	Sustrato orgánico húmedo sin techo
II	Sustrato orgánico húmedo con techo
III	Sustrato orgánico con columna de agua con techo
IV	Sustrato orgánico con columna de agua sin techo

Para evitar la afectación de los rayos solares de forma directa y evitar daños de aves se cubrió el área experimental con una maya Sarán al 60%.

En cada uno de los estanques, al inicio de la investigación, se colocaron 40 g de Azolla (para una densidad inicial de 40 g/m²), situadas de forma homogénea en el extremo de cada estanque y se aplicaron 10 kg de humus de lombriz como sustrato orgánico, el cual fue producido en la propia finca.

Se utilizó la balanza electrónica digital (marca OHAUS, modelo C305-S), como instrumento de medición para determinar las densidades iniciales y finales de Azolla y el peso del sustrato orgánico utilizado para cada estanque.

En el laboratorio de suelos de la UTMach se determinaron los porcentajes de materia orgánica por el método de Walkley & Black (1947) modificado, el pH en agua en una relación suelo:solución 1:2,5 (peso/volumen; p/v) (McLean, 1982) y conductividad eléctrica (CE) a partir de pasta saturada con agua des-

tilada, suelo:agua 1:1 (Primo & Carrasco, 1973) y lectura en conductivímetro portátil (marca HANNA).

La cosecha de Azolla se efectuó a los 30 días de trasplantada y se determinó la biomasa total en estado fresco para cada estanque.

Con la finalidad de determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos objeto de estudio se aplicó un análisis de varianza de un factor intersujetos. Previamente se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad, independencia de datos y homogeneidad de varianzas y se aplicó la prueba de rangos múltiples de Duncan cuando fueron significativas las diferencias entre los tratamientos en función del peso de la Azolla al mes de trasplantada. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software estadístico SPSS versión 22 de prueba para Windows, con una confiabilidad del 95% ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones climáticas presentes en el periodo analizado responden a un clima tropical, con temperaturas entre 20 y 35°C con periodos secos como lo señala el informe emitido por el Gobierno Autónomo Descentralizado (GAD) Municipal del Cantón Pasaje (2015), aspecto que puede ser un referente para futuras investigaciones por ser la Azolla una especie acuática que se adapta mejor a condiciones húmedas y no tan cálidas.

El sustrato orgánico utilizado presentó un pH ácido (6,47), un porcentaje alto de materia orgánica (9,3%) y una conductividad eléctrica de 4,32 dmhos/cm, que lo caracteriza como medianamente salino, lo que demuestra que es una especie que se adapta a condiciones de salinidad y contaminación, lo cual se corrobora con lo obtenido por Chandra (2012), quien demostró que la especie *A. caroliniana* es capaz de tolerar la toxicidad provocada por metales pesados, y puede ser utilizada para la fitorremediación del estanque.

El ANOVA realizado muestra un $F=12,649$ y una $\text{sig.}=0,001$; presentándose diferencia significativa que indica que al menos uno de los tratamientos objeto de estudio es diferente de los demás en relación con la biomasa total de Azolla (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados del Análisis de Varianza de una vía para la variable Biomasa Total de Azolla (g).

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	gl*	Media cuadrática	F*	Sig.*
Entre grupos	13808457,552	3	4602819,184	12,649	0,001
Dentro de grupos	4366594,188	12	363882,849		
Total	18175051,739	15			

*gl=grados de libertad. F= Estadígrafo de prueba calculado. Sig.=Valor de significación obtenido en la prueba.

La prueba de Rangos múltiples de Duncan indica que el tratamiento con sustrato orgánico con columna de agua sin techo muestra los mayores valores de biomasa de Azolla (2340,5 g), lo que puede estar asociado al mejoramiento del proceso metabólico de la materia orgánica y que los gases que se gene-

ran, como el CO_2 , no son retenidos, el cual es liberado por la presencia del viento, por lo que se evita la creación de un medio tóxico para su proceso fisiológico. Es diferente estadísticamente a los demás tratamientos, aunque el sustrato orgánico húmedo sin techo alcanzó el segundo mejor resultado (1338,0 g) diferente a sustrato orgánico húmedo con columna de agua con techo (150,0 g) y al valor obtenido con el sustrato orgánico húmedo con techo (94,5 g) los cuales no presentaron diferencias entre ellos, evidenciándose que la planta para su mejor desarrollo necesita una alta radiación y oxigenación que favorezcan los procesos de respiración y fotosíntesis (Figura 3).

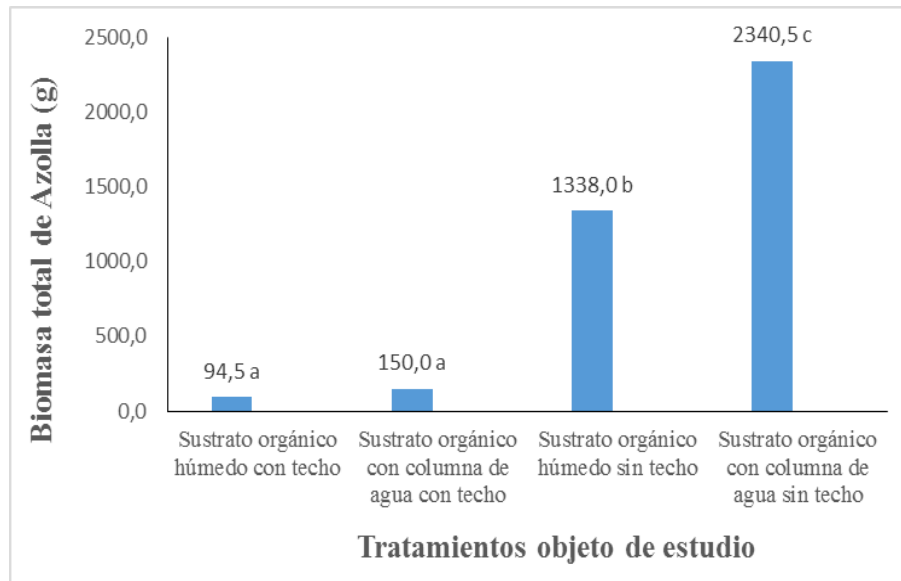


Figura 3. Medias de biomasa total de Azolla obtenida en la prueba de rangos múltiples de Duncan para cada tratamiento.

*Letras diferentes difieren estadísticamente para p -valor < 0,05.

Es de significar que para todos los tratamientos el helecho acuático presentó un rápido crecimiento y desarrollo, lo que se corrobora con lo obtenido por Chen, Deng, Yang, Huang, & Liu (2012) quienes confirman sus altas tasas de crecimiento y propagación; y además destacan la fuerte capacidad fotosintética de liberación de O_2 y alto valor nutricional. También, determinaron la eficacia de la capacidad de suministro de oxígeno de Azolla en una vida controlada. Para esta investigación se construyó una cámara de ensayo cerrada, que representa un Sistema de Apoyo a la Vida Ecológica Controlada, que incluye un dispositivo de cultivo húmedo de Azolla para medir los cambios en las concentraciones atmosféricas de O_2 y CO_2 dentro de la cámara en presencia de Azolla, peces y hombres coexistentes; y concluyeron que la Azolla tiene una fuerte capacidad de liberación de O_2 fotosintético, lo que equilibra las concentraciones de O_2 y CO_2 dentro de la cámara a favor de la supervivencia humana y verifica el potencial de Azolla para aplicaciones espaciales.

El tratamiento a base de sustrato orgánico con columna de agua sin techo presentó un incremento de biomasa fresca de $76,67 \text{ g/m}^2\text{d}$, resultado que se corrobora con lo obtenido por Caicedo (2005), quien en estudios realizados

en la lenteja de agua (*Lemna minor* L.), planta acuática de libre flotación, sembrada en aguas residuales con pretratamiento y sin pretratamiento, observó valores entre 54-90 g/m².d y 326-384 g/m².d respectivamente.

CONCLUSIONES

La Azolla presentó potencialidades de adaptación a condiciones de salinidad y contaminación debido a que se desarrolló de forma adecuada en un sustrato orgánico con pH ligeramente ácido (6,47) y condiciones medias de salinidad (conductividad eléctrica de 4,32 dmhos/cm). La mayor producción de biomasa del helecho acuático se obtuvo bajo la condición climática de columna de agua sin techo (2430,5 g), valor superior y diferente estadísticamente a los demás tratamientos objeto de estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arshadi, M., Abdolmaleki M, K., Mousavinia, F., Foroughifard, S., & Karimzadeh, A. (2017). Nano modification of NZVI with an aquatic plant *Azolla filiculoides* to remove Pb(II) and Hg(II) from water: Aging time and mechanism study. Original Research Article. *Journal of Colloid and Interface Science*, 296-308.
- Bhaskaran, S. K., & Kannappan, P. (2017). Protective effect of *Azolla microphylla* on biochemical, histopathological and molecular changes induced by isoproterenol in rats. Original. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 473-481.
- Castro, R., Novo, R., & Castro, R. I. (2002). Uso del género *Azolla* como Biofertilizante en el cultivo del arroz (*Oriza sativa*). *Cultivos tropicales*, 23(4), 5-10.
- Chandra, V. (2012). Phytoremediation of heavy metals from fly ash pond by *Azolla caroliniana*. *Ecotoxicology and Environmental*, 8-12.
- Chaux, G., Caicedo, J. R., & Fernández, J. E. (2013). Tratamiento de efluentes piscícolas (tilapia roja) en lagunas con *Azolla pinnata*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 46-56.
- Chen, M., Deng, S., Yang, Y., Huang, Y., & Liu, C. (2012). Efficacy of oxygen-supplying capacity of *Azolla* in a controlled life support system. Original. *Advances in Space Research*, 487-492.
- Da Silva, J. (2006). Fito tratamiento de efluente de acuicultura com *Azolla filiculoides*. *Tese de Mestre em Zootecni Porto Alegre (Brasil): Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia*, 118 p.
- Datta, S. N. (2011). Culture of *Azolla* and its efficacy in diet of *Labeo rohita*. *Aquaculture*, 310, 376-379.
- FAO. (1978). *Boletín 41 de suelos de la FAO.* /www.fao.org/soils-portal/resources/soils-bulletins/es/ .
- Iwao, W. (2000). Biological Nitrogen Fixation and its Use in Agriculture. *Cantho Env. Hyh*, 28. Obtenido de www.fao.org/.../Overview_and_Case_studies_on_Biological_Nitr.

- Labib, E. H., Mabrouk, H., & Zaki, M. A. (2010). *Trial to improve the utilization of water lettuce (*Ulva lactuca*) and water fern (*Azolla pinnata*) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets*. El Cairo (Egypt): Proceedings of the 3rd Global Fisheries and Aquaculture Research Conference, Foreign Agricultural Relations (FAR).
- Madeira, P. T., Center, T. D., Coetzee, J., Pemberton, R., Purcell, M., & Hill, M. (2013). Identity and origins of introduced and native *Azolla* species in Florida. *Aquatic Botany*, 9-15.
- Madeira, P., Hill, M., Dray, F., Coetzee, J., Paterson, I., & Tipping, P. (2016). Molecular identification of *Azolla* invasions in Africa: The *Azolla* specialist, *Stenopelmus rufinasus* proves to be an excellent taxonomist. *South African Journal of Botany*, 299-305.
- Marcillo, E., & Reclade, J. (2003). *Estudio preliminar comparativo de la eficiencia de la Azolla spp en la alimentación del híbrido rojo de tilapia en la etapa de pre-cría*. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bits-tream/123456789/1546/3/3060.pdf>
- Montaño, M. d. (2011). *Azolla anabaena nuevo paradigma de la agricultura, ganadería, salud, medio ambiente y economía en la perspectiva de ecosistema Guayas* *Conocimiento tropical*. Guayaquil: Banco Mundial LAC- ESPOL 2011-7-14. Obtenido de www.dspace.espol.edu.ec/.../browse?type...Montaño+Armi-jos%2C+Mariano...Jesús
- PROMSA. (2004). *Aplicación de la Simbiosis Diazotrófica entre Azolla y Anabaena como abono verde para el cultivo del arroz en el Litoral Ecuatoriano (IG-CV-053)*. Guayaquil: Programa de Modernización de los Servicios Agropecuarios. Reporte Técnico final del Proyecto. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/.../1/Promsa%20Informe%20técnico%20final.pdf>
- Redding, T., Tood, S., & Midlen, A. (1997). The Treatment of Aquaculture Wastewaters: A Botanical Approach. *Journal of Environmental Management*, 50(3), 283-299.
- Rosales, A., Quintero, J., Buritica, A., Londono, A., Sarria, P., Leterme, P., . . . Buldgen, A. (2002). *Valor nutricional de las plantas acuáticas, Azolla y Salvinia en cerdos*. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. sede Palmira. Departamento de Ciencia animal. Universidad Nacional de Colombia. Faculté Universitaire des Sciences agronomiques, Gembloux, Bélgica. Obtenido de <https://orbi.ulg.ac.be/.../Valor%20nutricional%20de%20las%20plantas%20acuaticas>.
- Singh, S. S., Kumar, A., & Sanmukh, R. (2010). Potentiality of *Azolla* as a suitable P-biofertilizer under salinity through acid phosphatase activity. *Ecological Engineering*, 36, 1076-1082. Obtenido de www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_