



SELEÇÃO DE ESPÉCIES E ECÓTIPOS DE AZOLLA



BOLETIM DE PESQUISA N.º 6

ISSN 0101 - 9732

Julho, 1987

SELEÇÃO DE ESPÉCIES E ECÓTIPOS DE *AZOLLA*

Alaídes Puppim Ruschel



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão – CNPAF
Goiânia, GO

Copyright © EMBRAPA – 1987
EMBRAPA – CNPAF. Boletim de Pesquisa, 6

Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao
CNPAF – Setor de Publicações
Rodovia GYN 12 – km 10
(Antiga Rodovia Goiânia/Nerópolis)
Telefone: (062) 261-3022
Telex: 062.2241
Caixa Postal 179
74000 - Goiânia, GO

Tiragem: 2.000 exemplares

Comitê de Publicações

Ricardo José Guazzelli (Presidente)
José Aloísio Alves Moreira
José Francisco da Silva Martins
Ricardo Silva Araujo

Assessoria Técnico-Científica

Alberto Baeta dos Santos
Heloísa Torres da Silva
Morel Pereira Barbosa Filho

Editoração:

Coordenação : Ana Lúcia Delalibera de Faria
Composição : Maria Auxiliadora A. Alves
Programação visual : Antonio Pereira da Silva Filho
Revisão de Português : Pedro Ferreira da Costa
Distribuição : Ana Alice Borges de Carvalho

Ruschel, Alaídes Puppín

*Seleção de espécies e ecótipos de azolla. Goiânia,
EMBRAPA - CNPAF, 1987.*

20 p. (EMBRAPA-CNPAF. Boletim de Pesquisa, 6)

*1. Azolla (gênero) – espécies – ecótipos – seleção.
2. Azolla (gênero) – pigmentação. I. Empresa Brasileira de
Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Ar-
roz e Feijão, Goiânia, GO. II. Título. III. Série.*

CDD 587.31

AGRADECIMENTO

O Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), agradece ao **Programa Nacional de Aproveitamento Racional de Várzeas Irrigáveis (PROVÁRZEAS NACIONAL)**, o patrocínio deste Boletim de Pesquisa.

SUMÁRIO

Resumo/Abstract	07
Introdução	09
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	13
Conclusões	18
Referências Bibliográficas	19

SELEÇÃO DE ESPÉCIES E ECÓTIPOS DE *AZOLLA*

Alaides Puppín Ruschel¹

RESUMO. Foram feitos dois experimentos no campo, com 10 (dez) ecótipos de diferentes espécies, em diferentes épocas (maio a novembro de 1985), com o objetivo de selecionar-se espécie/ecótipo de *Azolla* eficientes, observando-se a produção (peso da matéria viva), taxa de crescimento relativo ($\text{g/g de inóculo.dia}^{-1}$), tempo de duplicação e pigmentação (clorofila e antocianina), bem como o acúmulo de N nas plantas. Observaram-se diferenças entre ecótipos e épocas de cultivo para as diferentes variáveis analisadas. Na época de menor desenvolvimento (junho), a produção e o N acumulado variaram, respectivamente, de 77 a 161 g/m^2 e 88-208 mg/m^2 , enquanto que, na época de maior desenvolvimento (novembro), estiveram na ordem de 286-1726 g/m^2 e 360-3220 mg/m^2 , em dez dias. A *Azolla filiculoides*, ecótipo CNPAF 6, apresentou maior peso e acúmulo de N. A taxa de duplicação foi de 1,5 a 6,1 dias variando de acordo com a época de cultivo e com o ecótipo de *Azolla*. A pigmentação da *Azolla* mostrou ser um caráter varietal, sendo estável em determinados ecótipos, enquanto que, em outros, foi influenciada por fatores do meio ambiente.

¹ Eng. — Agr., Dr., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), Caixa Postal 179, CEP 74000 Goiânia, GO.

SELECTION OF AZOLLA SPECIE/ECOTYPE

ABSTRACT. Two field experiments were conducted each with ten (10) Azolla ecotypes. These experiments were repeated at different times (from May to November, 1985) to select Azolla specie/ecotype efficient for yield (weight of living plants) and N accumulation. Also relative growth rate, time of Azolla duplication ($\text{g/g of inoculum.day}^{-1}$), pigmentation (chlorophyll and antocyanin), were analysed. Differences were observed among ecotype and period of cultivation for the different variables studied. During slow Azolla growth period (June) the weight and accumulated-N varied from 77 to 161 g/m^2 and 88-208 mg/m^2 respectively, while in the time of maximum growth (November) they varied from 286-1726 g/m^2 and 300-3220 mg/m^2 for 10 days of growth. *A. filiculoides*, ecotype CNPAF 6, showed highest weight and accumulated N. Duplication rate varied from 1.5-6.1 days according to growth period and Azolla ecotype. Azolla pigmentation was demonstrated to be a varietal character, stable on same ecotypes, whereas in others the character was influenced by environmental factors.

INTRODUÇÃO

A seleção de espécies e ecótipos de *Azolla*, quanto à produção de massa e acúmulo de N é importante, tendo em vista a variabilidade de resposta obtida sob condições de campo com esta planta.

O sistema *Azolla*-*Anabaena* é constituído por uma samambaia (Pteridófito) a *Azolla*, que possui folhas com dois lóbulos; no superior, clorofilado, existe uma cavidade onde se localiza a alga (cianobactéria), denominada *Anabaena azollae*, que é capaz de fixar o nitrogênio molecular (N₂) em altas taxas (Saubert 1949, Moore 1969). Sua significância agrônômica reside no fato de ser produtora fotossintética de fertilizante nitrogenado (Sing 1981), sendo utilizado, na China, desde a antiguidade, como adubo verde na cultura arrozeira. A *Azolla* contém de 3-5% de N e, conseqüentemente 22-37% de proteína crua, tomando por base o peso da planta seca. Rica em proteína, pode ser utilizada também em rações animais (Buckingham et al. 1978), necessitando, neste caso, de uma suplementação dos aminoácidos, leucina, histidina e metionina, de que a *Azolla* é deficiente. Outra utilização desta planta é na compostagem (Tran & Dao 1973).

A *Azolla* possui um crescimento vegetativo rápido, conseguindo duplicar-se em 3-6 dias, podendo, com um inóculo de 100 g/m², alcançar produções de 15-20 t/ha em 20 dias. A *Azolla*, cultivada durante todo o ano, permite alcançar, em 22 colheitas, de 200-250 t/ha de massa (Khan 1983).

Existem sete espécies conhecidas de *Azolla* (Lumpkin & Plucknett 1982): na seção Pteridophyta — *A. caroliniana*, *A. filiculoides*, *A. microphylla*, *A. mexicana* e *A. rubra*; na seção Rhizosperma — *A. nilotica* e *A. pinnata*. No Brasil, porém, não existem referências de ocorrência das quatro últimas citadas. Todas são comumente encontradas sob condições de campo, em lagos e águas correntes de baixa velocidade. Nas regiões de clima temperado desenvolvem-se mais no final da primavera e início do verão. De acordo com Lumpkin & Plucknett (1982), na China, somente a *Azolla caroliniana* e a *A. filiculoides* conseguem desenvolver-se de fevereiro a dezembro, enquanto que as demais crescem somente de maio a início de novembro. No Brasil (Piracicaba, SP), o experimento em que se estudaram cinco espécies, sob condições de campo, em sistema fechado, mostrou um efeito da época do ano no desenvolvimento da *Azolla* (Ruschel s.d.). Notou-se maior desenvolvimento da *A. caroliniana*, *A. filiculoides* e *A. microphylla*, nos meses de agosto a novembro; a *A. mexicana*,

em novembro e dezembro e a *A. pinnata* em dezembro. Maiores produções por períodos longos foram obtidas com a *A. microphylla* e *A. filiculoides*.

Tendo em vista a importância da simbiose *Azolla*-*Anabaena*, e a mesma ter sido encontrada em diversas regiões do Brasil, cumpre estudar a adaptabilidade de ecótipos a diferentes locais. Neste trabalho verificaram-se o desenvolvimento e a correspondente capacidade de acúmulo de nitrogênio em ecótipos de diferentes espécies de *Azolla*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ecótipos de *Azolla* foram avaliados em dois experimentos, repetidos em diferentes épocas do ano (maio a novembro de 1985), na Fazenda Palmital, CNPAF, em Goianira, GO. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com dez tratamentos (ecótipos) e cinco repetições.

Os ecótipos estudados, com seus respectivos locais de coleta ou origem, foram:

Experimento 1: *A. caroliniana*, CNPAF 3 (Iranduba, AM) e CNPAF 58 (Indaial, SC); *A. filiculoides*, CNPAF 6 (Guaíba, RS) e CNPAF 29 (Paraíso do Norte, PR); *A. microphylla*, CNPAF 68 (Paraguai) e CNPAF 65 (Equador); *A. mexicana*, CNPAF 9 (México); *Azolla* sp., CNPAF 49 (Ilha do Caribe); e *A. pinnata*, CNPAF 37 (Índia) e CNPAF 70 (Austrália).

Experimento 2: *A. caroliniana*, CNPAF 5 (Guaíba, RS), CNPAF 8 (Califórnia, EE.UU.), CNPAF 18 (Iranduba, AM), CNPAF 27 (Ilha do Marajó, PA) e CNPAF 67 (Ohio, EE.UU.); *A. filiculoides*, CNPAF 44 (Índia) e CNPAF 60 (Presidente Getúlio, SC); *A. mexicana*, CNPAF 10 (Califórnia, EE.UU.); *A. microphylla*, CNPAF 32 (Camará, PA); e *A. pinnata*, CNPAF 66 (Tailândia).

O experimento 1 foi executado em 1985, nas seguintes épocas, especificadas de acordo com a quinzena em que foi iniciado: 1a. quinzena de maio (3-13) e de junho (30/05-12/06), 2a. quinzena de julho (17-29) e de agosto (23/08-5/09) e 1a. quinzena de outubro (8-16) e de novembro (7-21). O experimento 2, na 1a. quinzena de julho (2-18), de agosto (6-20) e de setembro (5-19), e na 2a. quinzena de novembro (21/11-9/12).

Os experimentos foram instalados no mesmo local, numa superfície alagada, de 70 m²/bloco, com 20 cm de profundidade. Inicialmente, foi feita uma adubação básica, incorporando-se ao solo 100 kg P₂O₅ (superfosfato triplo - SFT), 50 kg K₂O (cloreto de potássio = KCl) e 50 kg

FTE completo BR-12, por hectare, respectivamente. Semanalmente, foi feita uma adubação de reposição, a lanço dos mesmos adubos, na seguinte proporção: 2 kg P₂O₅/ha, 1 kg K₂O/ha e 0,5 kg FTE/ha. As parcelas de 1 m² constituíam-se de quadros de madeira flutuantes, com camada de isopor na parte inferior, com forro de tela plástica pendente, para possibilitar que a Azolla ficasse contida nos quadros e evitar predadores das plantas.

O inóculo constituiu-se de 15 g de Azolla cultivada em solução nutritiva isenta de N, em casa de vegetação.

A época da colheita variou segundo a época de condução do experimento, de 7 a 17 dias após a inoculação, quando um dos tratamentos apresentasse todas as repetições em toda a área das parcelas tomada pela Azolla.

Na colheita, as plantas foram colocadas em sacos plásticos perfurados, mantidos em repouso à sombra, por 30 minutos para escoamento do excesso d'água. Logo após, foi feita a pesagem da matéria viva, e retirada amostra de 100 g de Azolla. As amostras foram secas em estufa, a 65°C, para determinação da % de umidade, e análise de nitrogênio, pelo método de Kjeldahl.

Foram determinados: a taxa de crescimento relativo (TCR), de acordo com Hunt (1982); tempo de duplicação (t); e a TCR/10 dias (W₁₀), de acordo com as fórmulas abaixo descritas (1, 2 e 3).

Foi analisado o N fixado e/ou absorvido/10 dias.

$$TCR = \frac{\ell_n \cdot W_2 - \ell_n W_1}{T_2 - T_1} \quad (1)$$

Onde:

W₂ = peso da planta no tempo final

W₁ = peso da planta no tempo inicial (inóculo)

T₂ = tempo de crescimento, em dias (final)

T₁ = tempo inicial, em dias (no caso igual a um)

Cálculo do tempo de duplicação da Azolla

$$t = \frac{\ell_n 2}{TCR} \quad (2)$$

Cálculo do peso para períodos intermediários

$$W_{10} = W_1 \cdot e^{TCR \cdot t} \quad (3)$$

t = tempo predeterminado, no caso igual a 10 (dez).

Foi feita observação da pigmentação (clorofila-verde e antocianina-vermelha) da Azolla, no dia anterior à colheita, atribuindo-se valores na seguinte escala:

Verde	Vermelho	Especificação	Nota
++		verde	7
++	+	verde avermelhado	6
+		verde claro	5
+	+	verde claro e vermelho	4
+	++	vermelho esverdeado	3
	+	vermelho claro	2
	++	vermelho	1

A fim de se correlacionarem os resultados do crescimento da Azolla, obtidos com as variações climáticas, foram feitos levantamentos de temperatura, radiação e precipitação (Tabela 1), de acordo com observações do posto meteorológico próximo ao experimento.

Tabela 1. Variações climáticas ocorridas em 1985 (Goiânia, GO), de maio a novembro, relativas a temperaturas, radiação e precipitação.

Parâmetro	Maio		Junho		Julho		Agosto		Setembro	Outubro	Novembro	
	1a. Q. *	1a. Q.	1a. Q.	2a. Q.	1a. Q.	2a. Q.	1a. Q.	2a. Q.	1a. Q.	1a. Q.	1a. Q.	2a. Q.
	3-15/5	30/5-12/6	2-18/7	18-28/7	6-20/8	23/8-5/9	5-19/9	8-16/10	7-21/11	21/11-9/12		
Temp. máxima (°C)	30	26	28	27	29	32	32	30	29	30		
Temp. mínima (°C)	14	6	9	7	10	13	14	17	18	18		
Temp. média (°C)	21	15	19	16	18	22	23	21	23	25		
Radiação (cal/cm ²)	523	526	426	566	585	541	562	494	554	462		
Precipitação (mm)	2,6	0	0	0	0	7,8	0	35,0	132	97		

* Q = quinzena, porém referente ao período em que o experimento foi conduzido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis pesquisadas mostraram variabilidade entre época de cultivo e entre ecótipos dentro da mesma época. A *Azolla* apresentou maior peso na colheita de outubro (Tabela 2). Nesta época, os pesos máximos estiveram na ordem de 980 e 1.726 g/m² e, o mínimo, em 286 g/m². O ecótipo CNPAF 6 (*A. filiculoides*) destacou-se dos CNPAF 58, 49, 37 e 70. Os menores pesos de massa verde das *Azollas* estudadas foram observados nos meses de junho, agosto e novembro, provavelmente devido a baixas temperaturas, ocorridas nos dois primeiros meses, e a alta radiação ou precipitação, em novembro. Em julho, apesar de o peso ser baixo, foi bem superior aos observados em junho para os dez ecótipos do primeiro experimento e maiores que os obtidos em agosto e setembro, no segundo experimento. Nota-se que, em julho (Tabela 1), a radiação solar foi menor que naqueles meses acima citados, o que indicaria um possível efeito deste fator climático sobre a *Azolla*, favorecendo o desenvolvimento desta planta.

Tabela 2. Peso de diferentes espécies e ecótipos de *Azolla* em diferentes épocas do ano (g/m².10 dias⁻¹). Média de cinco repetições.

Espécies/Ecótipos Exp. 1	1a. Quinz.	1a. Quinz.	2a. Quinz.	2a. Quinz.	1a. Quinz.	1a. Quinz.
	Maior*	Junho	Julho	Agosto	Outubro	Novembro
<i>A. caroliniana</i>						
CNPAF 3	424 bc**	93	276 abc	113 def	980 abcd	205 bcd
CNPAF 58	544 ab	111	283 abc	251 a	391 cd	136 def
<i>A. filiculoides</i>						
CNPAF 6	515 cde	119	270 abc	145 cde	1726 a	247 ab
CNPAF 29	363 cd	161	371 a	205 abc	1075 abc	238 abc
<i>A. microphylla</i>						
CNPAF 68	598 a	154	209 bcd	171 bcd	1224 ah	59 g
CNPAF 65	157 ef	67	117 d	96 ef	1187 ab	174 cde
<i>A. mexicana</i>						
CNPAF 9	396 bc	157	327 ab	223 ab	1078 abc	193 hcd
<i>A. não identificada</i>						
CNPAF 49	312 cde	113	341 a	201 abc	870 bcd	289 a
<i>A. pinnata</i>						
CNPAF 37	217 def	98	184 cd	171 bcd	791 bcd	117 ef
CNPAF 70	129 ef	77	348 a	70 f	286 d	91 f
dms (Tukey 5%)	169	99	129	62	785	71
Exp. 2	1a. Quinz.	1a. Quinz.	1a. Quinz.	2a. Quinz.		
	Julho	Agosto	Setembro	Novembro		
<i>A. caroliniana</i>						
CNPAF 5	220 ab	90	178	48 c		
CNPAF 8	224 a	85	218	35 c		
CNPAF 18	234 a	112	144	91 bc		
CNPAF 27	206 ab	100	166	143 ab		
CNPAF 67	180 bc	82	181	49 c		
<i>A. filiculoides</i>						
CNPAF 44	206 ab	107	188	54 c		
CNPAF 60	220 ab	85	171	79 bc		
<i>A. mexicana</i>						
CNPAF 10	196 ab	100	162	168 a		
<i>A. microphylla</i>						
CNPAF 32	229 a	83	170	82 bc		
<i>A. pinnata</i>						
CNPAF 66	149 c	78	179	60 c		
dms	41	35	128	68		

*Média de quatro repetições em maio.

**As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os ecótipos com maiores produções, em peso da matéria viva (Tabela 2), nas diferentes épocas, no Exp. 1, foram CNPAF 68 e 58, em maio; CNPAF 70, 29, 9 e 49, em julho; CNPAF 58, 9, em agosto; CNPAF 6, 68, 65 e 9, em outubro; e CNPAF 49 e 6, em novembro. No Exp. 2 foram CNPAF 8, 18 e 32, em julho, embora neste mês somente o CNPAF 66 se diferenciasse estatisticamente das demais; e CNPAF 10 e 27, no mês de novembro; no mês de agosto e setembro não houve diferença entre ecótipos neste experimento, bem como em junho no Exp. 1.

Observações semelhantes as citadas para produção podem ser feitas com relação ao N-total da planta (Tabela 3), pois este fator é determinado em função do peso. Em outubro, o ecótipo CNPAF 6 chegou a acumular 32 kg de N/ha em 10 dias, enquanto que o CNPAF 70 só produziu 3 kg de N/ha. Os ecótipos CNPAF 6 e CNPAF 29 (*A. filiculoides*) e CNPAF 49 (*Azolla* sp.) foram os que apresentaram maior acúmulo de N, por dois meses consecutivos (outubro a novembro). Nota-se que, nas épocas de menor produção, (junho) um ou dois kg de N/ha foram acumulados, em 10 dias.

Tabela 3. Nitrogênio acumulado em diferentes espécies e ecótipos de *Azolla* após dez dias de crescimento (mg/m²) em diferentes épocas do ano. Média de cinco repetições.

Espécies/Ecótipes Exp. 1	1a. Quinz. Maio*	1a. Quinz. Junho	1a. Quinz. Julho	2a. Quinz. Agosto	1a. Quinz. Outubro	1a. Quinz. Novembro
<i>A. Caroliniana</i>						
CNPAF 3	813 abc**	132	615 ab	184 cd	1386 bcd	930 ab
CNPAF 58	1044 ab	154	524 ab	703 a	537 cd	563 cde
<i>A. filiculoides</i>						
CNPAF 6	640 bcde	156	550 ab	336 bcd	3220 a	1115 a
CNPAF 29	678 bcde	254	791 a	390 bc	1629 bc	1157 a
<i>A. microphylla</i>						
CNPAF 68	1172 a	208	324 bc	330 bcd	2030 ab	201
CNPAF 65	249 cd	109	177 c	112 d	1727 bc	770 bcd f
<i>A. mexicana</i>						
CNPAF 9	807 abc	210	732 a	457 ab	1575 bcd	830 abc
<i>Azolla</i> sp.						
CNPAF 49	603 bcde	172	653 a	378 bc	1413 bcd	1136 a
<i>A. pinnata</i>						
CNPAF 37	466 cde	165	352 bc	360 bc	1278 bcd	454 def
CNPAF 70	212 c	88	784 a	102 d	360	309 ef
Média geral	669 AB	165,3 E	550,4 C	336,5 D	1515,4 A	746,6 AB
dms (Tukey 5%)		170	296	247	1218	344
Exp. 2	1a. Quinz. Julho	1a. Quinz. Agosto	1a. Quinz. Setembro	2a. Quinz. Novembro		
<i>A. caroliniana</i>						
CNPAF 5	333 abc	161 ab	339	96 c		
CNPAF 8	400 ab	173 ab	510	72 c		
CNPAF 18	451 ab	223 a	312	221 abc		
CNPAF 27	444 ab	194 ab	390	419 a		
CNPAF 67	375 ab	136 b	411	117 c		
<i>A. filiculoides</i>						
CNPAF 44	481 a	202 ab	407	99 c		
CNPAF 60	419 ab	202 ab	406	194 bc		
<i>A. mexicana</i>						
CNPAF 10	322 bc	207 ab	345	389 ab		
<i>A. microphylla</i>						
CNPAF 32	387 ab	152 ab	384	210 abc		
<i>A. pinnata</i>						
CNPAF 66	275 c	153 ab	383	164 c		
Média geral	389,9 A	180,1 B	389,1 A	180,1 B		
dms (Tukey 5%)	149	86	284	219		

* Média de quatro repetições em maio.

** As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

As taxas de crescimento variaram entre ecótipos e entre épocas. Na época de maior desenvolvimento (outubro), a TCR esteve na ordem de 0,32 a 0,47 g/g de inóculo.dia⁻¹, bem maiores que os obtidos na China por Lumpkin & Plucknett (1982), os quais obtiveram, em potes, 0,25 g/g.dia⁻¹ e, em condições de campo, 0,18 g/g.dia⁻¹. Nas épocas de menor desenvolvimento, a TCR ficou em torno de 0,12 a 0,27 g/g de inóculo.dia⁻¹. Estas taxas de crescimento indicam variabilidade no tempo de duplicação destas plantas. Em maio, junho e outubro observaram-se variações, respectivamente, na ordem de 1,7-3,8; 3,0-6,1; e 1,5-2,1 dias (Tabela 4). No mês de temperatura mínima mais baixa (junho), o tempo de duplicação foi bem menor que nas demais épocas analisadas (3,0-6,1 dias).

Tabela 4. Tempo de duplicação em dias, em diferentes épocas, espécies e ecótipos de *Azolla*. Média de cinco repetições.

Espécies/Ecótios	1a. Quinz. Maio	1a. Quinz. Junho	2a. Quinz. Julho	2a. Quinz. Agosto	1a. Quinz. Outubro	1a. Quinz Novembro
<i>A. caroliniana</i>						
CNPAF 3	2,3 c d e **	5,4 a b	2,4 b c	3,4 b c	1,7 b c	1,7 c
CNPAF 58	2,1 d e f	3,0 b	2,4 b c	2,4 c	2,2 a	3,3 b c
<i>A. filiculoides</i>						
CNPAF 6	2,5 c d	4,0 b	2,6 b c	3,1 b c	1,5 c	2,5 c
CNPAF 29	2,4 c d	3,7 a b	2,2 c	2,6 c	1,6 c	2,5 c
<i>A. microphylla</i>						
CNPAF 68	1,7 c d f	3,9 a b	2,6 b c	2,8 c	1,6 c	5,5 a
CNPAF 65	2,5 c d	5,8 a	3,4 a	4,0 a b	1,5 c	2,9 c
<i>A. mexicana</i>						
CNPAF 9	1,9 e f	3,7 a b	2,3 c	2,5 c	1,7 c	2,7 c
<i>Azolla</i> sp.						
CNPAF 49	2,6 b c	4,3 a b	2,3 c	2,7 c	1,8 b c	2,4 c
<i>A. pinnata</i>						
CNPAF 37	3,0 b	4,4 a b	2,8 b	2,9 c	1,9 a b c	3,5 b c
CNPAF 70	3,8 a	6,1 a	2,2 c	4,7 a	2,1 a b	4,2 b
dms (Tukey 5%)	0,4	2,6	0,5	1,0	0,4	4,8
Exp. 2	1a. Quinz. Julho	1a. Quinz. Agosto	1a. Quinz. Setembro	2a. Quinz. Novembro		
<i>A. caroliniana</i>						
CNPAF 5	2,6 b c	3,9	3,1	0		
CNPAF 8	2,5 c	4,0	2,6	7,7		
CNPAF 18	2,5 c	3,4	3,2	4,9		
CNPAF 27	2,6 b c	4,7	3,0	5,6		
CNPAF 67	2,7 b	4,1	2,8	7,3		
<i>A. filiculoides</i>						
CNPAF 44	2,6 b c	3,5	3,8	5,9		
CNPAF 60	2,6 b c	4,2	2,9	4,9		
<i>A. mexicana</i>						
CNPAF 10	2,7 b c	3,7	3,1	2,8		
<i>A. microphylla</i>						
CNPAF 32	2,5 c	4,6	3,0	4,2		
<i>A. pinnata</i>						
CNPAF 66	3,0 a	4,7	3,1	12,1		
dms (Tukey 5%)	0,2	2,0	1,2	22,2		

* Média de quatro repetições em maio.

** As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os ecótipos CNPAF 9 (*A. mexicana*) e CNPAF 49 (*Azolla* sp.) tiveram baixo tempo de duplicação durante todo o ano (exceto em junho), variando, respectivamente, de 1,7-3,7 e 1,8-4,3 dias.

O fator temperatura pode afetar o desenvolvimento da *Azolla*. Aston (1974) observou que a *A. filiculoides* pode crescer em uma gama de temperatura variável de 5 a 45°C. No entanto, a temperatura ótima para o desenvolvimento desta espécie estaria entre 22 e 25°C (Khan 1983). No primeiro experimento, *A. filiculoides* teve baixo tempo de duplicação, durante todo o ano, e, no segundo experimento, em julho, havendo portanto confirmação das observações de Aston (1974).

Na época de melhor desenvolvimento da *Azolla*, em outubro, as temperaturas mínima e máxima estiveram na ordem de 17°C, 30°C, com média de 21°C, sendo esta última inferior às observadas nos períodos experimentais em agosto (2a. quinzena), setembro e novembro, havendo indicações de que temperaturas médias mais baixas seriam ideais para o desenvolvimento da *Azolla* (Tabela 1). Observa-se, no entanto, que, em maio, a temperatura média foi semelhante àquela do período experimental ocorrido em outubro, no entanto, houve diferenças, comparando-se as produções de ambos os ensaios. Esta observação indica que não é somente o fator temperatura que poderia influenciar o desenvolvimento da *Azolla*. Segundo alguns autores, outro fator que afeta o crescimento da *Azolla* seria a luminosidade. De acordo com Aston & Walmsley (1976), quando a planta está sujeita à intensidade luminosa acima de 60.000 lux, o seu crescimento é retardado. Cinquenta por cento do máximo de luz do dia é o ideal para um bom desenvolvimento da *Azolla*. Esta característica indica a razão por que seria necessário um certo sombreamento para um melhor desenvolvimento da *Azolla*. Por conseguinte, na cultura de arroz em consórcio com *Azolla*, o sombreamento que normalmente ocorre, faz com que a *Azolla* tenha um bom desenvolvimento.

Numa tentativa de correlacionar os efeitos da radiação solar sobre a *Azolla*, observa-se que, em outubro (Tabela 1), a radiação esteve mais baixa que nos demais meses. Baixo nível de radiação ocorreu também no período experimental referente ao início de julho e final de novembro. Nestas épocas, os fatores que podem ter influenciado para a baixa produtividade da *Azolla* foram, respectivamente, baixa temperatura, em julho e chuvas intermitentes, em novembro. Altas precipitações provocam a diluição de nutrientes e dispersão do inóculo, bem como podem causar danos às plantas. Há, portanto, uma indicação de que a luminosidade poderá ser um fator limitante para a *Azolla* sob as condições de Goianira. Ressalva-se, a título de esclarecimento, que, nesta região, foi possível desenvolver *Azolla* em consórcio com arroz durante todo o ciclo desta plan-

ta, mesmo em épocas de alta luminosidade (novembro a abril).

A coloração da *Azolla* pode variar do verde (clorofilado) ao vermelho-púrpura (com antocianina), podendo chegar marrom, quando o estado de desnutrição é muito avançado. O verde é próprio de plantas saudias, não deficientes nutricionalmente. O vermelho e o marrom indicam proteção a altas luminosidades, pela formação de antocianina, pigmento protetor do mecanismo fotossintético (Khan 1983). Outro fator que pode provocar coloração avermelhada e mesmo marrom em *Azolla* é a deficiência de fósforo. *A. mexicana* torna-se marrom-avermelhada, mais nas beiradas das folhas, enquanto que a *A. pinnata* adquire uma coloração amarelo-esverdeada, iniciando-se no centro das folhas. Com o desenvolvimento, as plantas tornam-se vermelhas (Espinass et al. 1979). Embora deficiente em fósforo, plantas com coloração avermelhada ainda apresentam *Anabaena* ativa na fixação do nitrogênio, porque esta alga obtém energia própria através do processo de fotossíntese, mesmo em simbiose com a *Azolla*.

Os resultados deste trabalho evidenciam que a característica de cor está ligada ao ecótipo, pois determinados ecótipos apresentaram coloração verde ou vermelha persistente por longos períodos (Tabela 5). O CNPAF 6 (*A. filiculoides*) manteve-se sempre com coloração verde, enquanto que outros apresentaram espectro com coloração vermelha estável, como, por exemplo, o CNPAF 3 (*A. caroliniana*), e o CNPAF 9 (*A. mexicana*); o CNPAF 68 e o 65 (*A. microphylla*), ou o CNPAF 66, apresentaram espectro variável durante as diferentes épocas do ano. Tais observações levam a crer que estudos mais detalhados devam ser feitos, para se conhecerem os mecanismos de absorção de P dos diferentes ecótipos, bem como o efeito de P no desenvolvimento dos diferentes ecótipos e o efeito de estresses provocado com a alta luminosidade e, conseqüentemente, o efeito sobre a temperatura ambiente e da água versus absorção de nutrientes.

A coloração verde nem sempre está correlacionada com um maior acúmulo de N ou maior peso. No entanto, sugere-se que a seleção deverá ser feita no sentido de se obter ecótipos com pigmentação verde, com mais massa e, conseqüentemente, maior teor de N. Não se exclui a possibilidade de seleção para coloração vermelha, no caso de se utilizar esta planta para extração de antocianina.

Tabela 5. Variações de pigmentação da *Azolla* com notas atribuídas à gama de coloração entre verde = 7 (clorofilado) e vermelho = 1 (com antocianina), em diferentes espécies, ecótipos e épocas do ano. Média de cinco repetições.

Espécies/Ecótios Exp. 1	1a. Quinz. Maio*	1a. Quinz. Junho	2a. Quinz. Julho	3a. Quinz. Agosto	1a. Quinz. Outubro
<i>A. caroliniana</i>					
CNPAF 3	1,0 d**	1,2 c	1,0 c	1,0 d	2,0 d
CNPAF 58	6,7 ab	6,6 a	7,0 a	4,0 c	6,8 a
<i>A. filiculoides</i>					
CNPAF 6	7,0 a	7,0 a	7,0 a	7,0 a	7,0 a
CNPAF 29	5,7 ab	2,8 cde	1,0 c	3,0 d	4,2 bcd
<i>A. microphylla</i>					
CNPAF 68	7,0 a	3,6 cd	4,4 b	7,0 a	2,6 cd
CNPAF 65	6,2 ab	4,0 bc	1,0 c	7,0 a	7,0 a
<i>A. mexicana</i>					
CNPAF 9	5,2 b	1,8 de	1,0 c	6,0 b	3,4 bcd
<i>Azolla</i> sp.					
CNPAF 49	3,0 c	2,6 cde	1,0 c	4,0 c	5,0 abc
<i>A. pinnata</i>					
CNPAF 37	5,5 ab	5,8 bc	1,0 c	7,0 a	5,0 abc
CNPAF 70	3,0 c	5,6 ab	4,6 b	2,2 e	5,8 ab
dms (Tukey 5%)	1,6	1,9	1,6	0,7	2,6
Exp. 2	1a. Quinz. Julho	1a. Quinz. Agosto	1a. Quinz. Setembro	2a. Quinz. Novembro	
<i>A. caroliniana</i>					
CNPAF 5	6,8 a	7,0 a	1,6 b	4,0 bcd	
CNPAF 8	4,0 c	2,8 bc	2,8 ab	2,6 cd	
CNPAF 18	1,0 d	1,6 c	4,6 ab	1,8 cd	
CNPAF 27	5,2 b	7,0 a	4,6 ab	5,6 ab	
CNPAF 67	4,0 c	7,0 a	3,4 ab	3,8 bcd	
<i>A. filiculoides</i>					
CNPAF 44	7,0 a	4,0 b	3,4 ab	3,8 bcd	
CNPAF 60	7,0 a	7,0 a	4,0 ab	1,6 d	
<i>A. mexicana</i>					
CNPAF 10	7,0 a	4,0 b	7,0 a	4,4 abc	
<i>A. microphylla</i>					
CNPAF 32	4,0 c	7,0 a	6,4 ab	6,8 a	
<i>A. pinnata</i>					
CNPAF 66	1,0 d	6,4 a	4,6 ab	2,2 cd	
dms (Tukey 5%)	0,7	2,2	5,0	2,6	

*Média de quatro repetições em maio.

**As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

1. É possível o desenvolvimento de *Azolla* de maio a novembro na região circunvizinha a Goiânia.
2. A época de melhor desenvolvimento da *Azolla* dá-se em outubro.
3. Existe um efeito da época de cultivo sobre o desenvolvimento e acúmulo de nitrogênio em *Azolla*.
4. Na época de melhor desenvolvimento, a espécie *A. filiculoides* pode ser considerada como espécie promissora, em relação à massa e ao nitrogênio acumulado.
5. A taxa de duplicação da *Azolla* varia de 1,5 a 6,1 dias.
6. O desenvolvimento da *Azolla pinnata* é menor em comparação com outras espécies analisadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTON, P. J. The effects of some environmental factors on the growth of *Azolla filiculoides* Lane. In: ZINDEREN-BAKKER, E.M., ed. **The Orange River Program Report**. Bloemfontein, South Africa, Institute Environmental Science — University of Orange Free State, 1974. p. 123-38.
- ASTON, P. J. & WALMSLEY, R.D. The aquatic fern *Azolla* and its *Anabaena* symbiont. **Endeavour**, 35 (124):39-45, 1976.
- BUCKINGHAM, K. W.; ELA, S. H.; MORRIS J. G.; GOLDMAN, C.R. Nutritive value of nitrogen-fixing aquatic fern, *Azolla filiculoides*. **J. Agric. Food Chem.**, 26:1230-4, 1978.
- ESPINAS, C. R.; BERJA, N. S.; ROSARIO, D. C. del; WATANABE, I. Environmental conditions affecting *Azolla* growth. **Greenfields**, 9(8): 14-9, 1979.
- HUNT, R. Concepts in plant growth analysis. In: _____. **Plant growth curves; the functional approach to plant growth analysis**. Scotland, Edward Arnold, 1982. p.14-46.
- KHAN, M. M. **A primer on *Azolla* production and utilization in agriculture**. Los Baños, University of Philippines, 1983. 143p.
- LUMPKIN, T. A. & PLUCKNETT, D. L., eds. ***Azolla* as green manure: use and management in crop production**. Boulder, Westview Tropical Agricultural, 1982. 41p. (Series, 5).
- MOORE, A. W. *Azolla*-biology and agronomic significance. **Bot. Rev.**, 35:17-34, 1969.
- RUSCHEL, A. P. Efeito sazonal sobre o desenvolvimento e fixação biológica de nitrogênio de diferentes espécies de *Azolla*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília. No Prelo.
- SAUBERT, G. G. P. Provisional communication on the fixation of elementary nitrogen by a floating fern. **Ann. R. Bot. Gard.**, Buitenzorg, 51:177-97, 1949.

SING, P. K. Use of *Azolla* and blue-green algae in rice cultivation in India. In: VOSE, P. B. & RUSCHEL, A. P., eds. **Associative N₂-fixation**. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1981. v.2. p. 183-96.

TRAN, Q.T. & DAO, T.T. *Azolla*; a green compost. s. l., s.ed. 1973. p.119-27. (Vietnamese Studies, 38 — Agriculture Problems, Agronomy Data 4).