

PIGMENTAÇÃO E COMPOSIÇÃO MINERAL DE DIFERENTES ESPÉCIES DE AZOLLA¹

ALÁIDES PUPPIN RUSCHEL², AUSTRELINO SILVEIRA FILHO, ALBERTO BAETA DOS SANTOS³
e FRANCISCO JOSÉ P. ZIMMERMANN²

RESUMO - Foi realizado um estudo com a finalidade de pesquisar o desenvolvimento da pigmentação e composição mineral (P, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Mn e Fe) de diferentes ecótipos representativos das espécies *Azolla caroliniana*, *Azolla filiculoides*, *Azolla microphylla* e *Azolla mexicana*, desenvolvidas sob condições de cultivo no campo, em diferentes épocas (junho, agosto, setembro e outubro 1985). Os experimentos foram conduzidos no mesmo local, em blocos ao acaso, com cinco repetições. Não houve correlação entre o nível de nutrientes e a pigmentação da *Azolla*. O desenvolvimento, avaliado pelo peso da matéria seca e pela taxa de crescimento relativo (TCR), foi diferenciado em relação à espécie e à época de cultivo. As taxas de crescimento relativo mais altas foram de 0,232 e 0,466 g/g de inóculo . dia⁻¹, respectivamente para a época de menor (junho) e maior (outubro) desenvolvimento da *Azolla*. Houve um efeito da espécie e da época do ano na absorção de P, K, Mg e Ca, enquanto que a absorção de micronutrientes só foi modificada pela época de cultivo da *Azolla*. A pigmentação parece estar ligada fundamentalmente a um caráter genético da planta.

Termos para indexação: fixação de N, simbiose, clorofila, antocianina, ecótipos de *Azolla*.

PIGMENTATION AND MINERAL COMPOSITION OF DIFFERENT AZOLLA SPECIES

ABSTRACT - An experiment was conducted to study pigmentation (chlorophyll and anthocyanin) and mineral composition (P, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Mn, Fe) of different *Azolla* ecotypes representatives of *Azolla caroliniana*, *Azolla filiculoides*, *Azolla microphylla*, and *Azolla mexicana* species, growing under field conditions. The experiment was repeated at different periods (June, August, September and October, 1985), in the same area, in randomized blocks, with five replicates. There was no correlation between the level of plant nutrients and *Azolla* pigmentation. Dry matter weight and relative growth rate (RGR) were different among species and period of year. The highest relative growth rates varied from 0.232 and 0.466 g/g of inoculum.day⁻¹, for periods of low (June) and high (October) growth, respectively. There was an effect of plant species and period of the year on P, K, Mg and Ca absorption; however absorption of micronutrients was only affected by the period of the year. *Azolla* pigmentation seems to be linked to a genetic plant character.

Index terms: N-fixation, symbiosis, chlorophyll, anthocyanin, *Azolla* ecotypes.

INTRODUÇÃO

A *Azolla*, planta aquática que se desenvolve em simbiose com a alga cianofíceia (cianobactéria) *Anabaena azollae*, pode contribuir no enriquecimento em N, reciclagem de nutrientes e captação de íons poluentes, no meio ambiente. Revisão de literatura feita por Sampath Kumar et al. (1983) indicou a seguinte composição da *Azolla* em relação à matéria seca: teores de proteína crua, variáveis de 13% a 30%; substâncias gordurosas cruas, de 3,0% a 6,3%; água, de 80% a 95%; N, de 2% a 7%; relação C/N, de 6,7 a 15,0:1; fibras, de 9,1% a 9,5%; e cinzas, de 9,7% a 23,8%. As produções anuais foram de 57 a 333 t/ha.

Por outro lado, a composição mineral da *Azolla*, desenvolvida sob condições de altos níveis de todos os nutrientes, exceto N, de acordo com Malavolta et

al. (1978), é de 5,55% de N, 1,23% de P, 5,54% de K, 0,33% de Ca, 0,24% de Mg, e 1,73% de S. De micronutrientes (ppm): 884,3 de Fe, 23 de Mn, 56 de Zn, 17 de Cu, 9,0 de Mo, 2,5 de B. Outros elementos (ppm): 93 de Na e 248 de Al. Resultados semelhantes foram encontrados também por Watanabe et al. (1977).

Levando-se em consideração o curto tempo de duplicação desta planta, que varia de 1,8 a 7,0 dias (Sampath Kumar et al. 1983), 2,2 a 9,0 dias (Subudhi & Watanabe 1981), 1,7 a 6,0 dias, nas condições do Brasil central (Ruschel 1987), pode-se verificar a importância da *Azolla* como fonte de biomassa e nutrientes.

A pigmentação avermelhada pode estar correlacionada com deficiências de P (Cohn & Renlund 1953, Watanabe & Espinas 1976). A cor e a clorofila variam de acordo com o nível de P, onde a *Azolla* se desenvolve (Subudhi & Watanabe 1981, Watanabe et al. 1980), muito embora Ruschel (1987) tenha notado diferenças mais ligadas ao caráter varietal da planta. A observação da pigmentação da *Azolla* é de importância, tendo em vista que o pigmento verme-

¹ Aceito para publicação em 9 de agosto de 1988.

² Eng. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Caixa Postal 179, CEP 74000 Goiânia, GO.

³ Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/CNPAP.

lho contém, além da 3-desoxiantocianina, diferentes compostos fenólicos (Ishikura 1982). De acordo com Ray et al. (1978), a planta *Azolla* possui clorofila e ficocianina, enquanto a *Anabaena azollae* contém somente clorofila.

Singh (1980) observou que um dos importantes aspectos da utilização de tecnologia de *Azolla-Anabaena* é a seleção de variedades, tendo notado que ecótipos de *Azolla*, provenientes de diferentes origens na Índia, tornam-se vermelhos em altas temperaturas, alta intensidade de luz e na deficiência de fósforo, embora um ecótipo permanecesse verde sob estas condições. Existem diferenças entre espécies com relação à resistência a temperaturas elevadas, sendo notado que o máximo de desenvolvimento das espécies ocorre entre 25°C e 30°C (Peters et al. 1980), podendo alguns ecótipos, quando cultivados sob condições de altas temperaturas, excretar amônio (Watanabe & Berja 1983). Temperaturas elevadas, segundo Singh (1977), modificam a cor para marrom-avermelhada, diminuindo também o crescimento.

Embora a *Anabaena* independa da *Azolla*, por possuir mecanismo fotossintético próprio, a pigmentação avermelhada da *Azolla* é considerada como fator de efeito inibidor da atividade de nitrogenase. Esta atividade pode, também, variar de acordo com o espectro solar, alcançando dois picos diários: um, pela manhã, e outro, menor, à tarde, existindo evidências de que 24% do total diário da fixação biológica de N ocorre durante o período noturno (Kellar & Goldman 1979).

O objetivo desta pesquisa foi determinar os efeitos de épocas de cultivo de diferentes espécies de *Azolla*, no campo, na composição mineral da planta, e sua interação com o caráter morfológico de pigmentação.

MATERIAL E MÉTODOS

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

Os ecótipos estudados e seus respectivos locais de coleta ou origem foram: *A. caroliniana*, CNPAF 3 (Iranduba, AM) e CNPAF 58 (Indaial, SC); *A. filiculoides*, CNPAF 6 (Guafba, RS); *A. microphylla*, CNPAF 68 (Paraguai); *A. mexicana*, CNPAF 9 (México).

O experimento foi conduzido em 1985, nas seguintes épocas, especificadas de acordo com a quinzena: primeiras quinzenas de maio (3 a 13) e de junho (30.5 a 12.6), segundas quinzenas de julho (17 a 29), e de agosto (23.8 a 5.9) e pri-

meiras quinzenas de outubro (8 a 18) e de novembro (7 a 21). O experimento foi conduzido sucessivamente, no mesmo local, numa superfície alagada, de 70 m²/bloco, com 20 cm de profundidade, consistindo, o bloco, de cinco parcelas. Inicialmente, foi feita uma adubação básica, incorporando-se ao solo 100 kg/ha de P₂O₅ (superfosfato triplo), 50 kg/ha de K₂O (cloreto de potássio) e 50 kg/ha de FTE BR-12 e, semanalmente, foi feita adubação a lanço com os mesmos adubos, na seguinte proporção: 2 kg/ha de P₂O₅, 1 kg/ha de K₂O e 0,5 kg/ha de FTE. As parcelas, de 1 m², consistiam de quadros de madeira flutuantes, com camada de isopor na parte inferior, com um forro de tela plástica pendente, para possibilitar que a *Azolla* fosse contida nos quadros e para evitar predadores das plantas.

O inóculo inicial consistiu de 15 g de *Azolla* cultivada em solução nutritiva isenta de N, em casa de vegetação.

A época da colheita variou de sete a dezessete dias após a inoculação, quando um dos tratamentos apresentava toda a área das parcelas tomada pela *Azolla*.

Após a colheita, as plantas foram colocadas em sacos de plástico perfurados, mantidos em repouso, à sombra, por 30 minutos, para escoamento do excesso d'água. Em seguida, foi feita a pesagem da matéria viva, e retirada uma amostra de 100 g de *Azolla*. As amostras foram secadas em estufa, a 65°C, para determinação da percentagem de umidade e análise de N pelo método de Kjeldahl.

Foram determinados os seguintes parâmetros: o peso da matéria seca, a taxa de crescimento relativo (TCR), tomada em relação ao peso da matéria viva da planta, e a TCR/10 dias (W₁₀), de acordo com as fórmulas abaixo descritas. Foi analisado o N fixado e/ou absorvido/10 dias.

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

onde:

W₂ = peso da planta no tempo final
W₁ = peso da planta no tempo inicial (inóculo)
T₂ = tempo, em dias, de crescimento (final)
T₁ = tempo inicial, em dias (no caso, igual a um)

Cálculo do peso para períodos intermediários

$$W_{10} = W_1 \cdot e^{TCR \cdot t} \quad (2)$$

t = tempo pré-determinado, 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	Vermelha	Especificação	Nota
++		Verde	7
++	+	Verde-avermelhada	6
+		Verde-clara	5
+	+	Vermelha e verde-clara	4
+	++	Vermelho-esverdeada	3
	+	Vermelho-clara	2
	++	Vermelha	1

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento avaliado pelo peso da matéria seca e taxa de crescimento (Tabela 1) variou de acordo com as épocas de cultivo e as espécies de *Azolla*. Não houve diferença no peso da matéria seca entre espécies, em junho, talvez por causa do alto erro experimental, em razão das baixas temperaturas ocorridas na ocasião. Porém, nos meses subsequentes, estas diferenças foram aparentes, variando, no entanto, a espécie mais produtiva. A *Azolla mexicana* (CNPAF 9) produziu mais que a *A. microphylla* (CNPAF 68), em agosto; *A. caroliniana* (CNPAF 58) teve maior produção que as demais, em setembro; *A. filiculoides*, em outubro, produziu mais que todas as outras estudadas. Observou-se TCR diferente entre espécies, em junho, setembro e outubro,

o mesmo não acontecendo em agosto. Em junho, a CNPAF 58 (*A. caroliniana*) apresentou maior TCR que a CNPAF 3 (*A. caroliniana*), e CNPAF 68 (*A. microphylla*), respectivamente; em setembro, CNPAF 58 e CNPAF 9 tiveram maiores TCR que as demais e, em outubro, a TCR do ecótipo CNPAF 6 (*A. filiculoides*) também foi maior que a das demais, exceto a CNPAF 68 (*A. microphylla*).

A análise conjunta demonstrou que a TCR foi maior em outubro (Tabela 2), sendo *A. filiculoides* (CNPAF 6) e *A. mexicana* (CNPAF 9) as que apresentaram maiores taxas, mas diferiram estatisticamente apenas de *A. caroliniana* (CNPAF 3), a qual apresentou a menor TCR (Tabela 3). De acordo com Subudhi & Watanabe (1981), a taxa de crescimento pode estar relacionada com o nível de P. No presente trabalho, o decréscimo da taxa de crescimento pode

TABELA 1. Peso de matéria seca e taxa de crescimento relativo (TCR) de diferentes espécies de *Azolla*, após dez dias de crescimento¹.

Espécies	Peso de matéria seca (g/m ²)				TCR (g/g. inoc.dia ⁻¹)			
	Jun.	Ago.	Set.	Out.	Jun.	Ago.	Set.	Out.
<i>A. filiculoides</i> (CNPAF 6)	5,2	13,0 ab*	7,2 c	73,0 a	0,177 ab	0,280	0,226 b	0,466 a
<i>A. caroliniana</i> (CNPAF 3)	4,9	15,0 ab	5,6 c	36,0 bc	0,144 b	0,291	0,201 c	0,407 b
(CNPAF 58)	5,15	14,2 ab	15,1 a	13,8 c	0,232 a	0,292	0,281 a	0,316 c
<i>A. microphylla</i> (CNPAF 68)	6,7	9,5 b	7,9 bc	44,7 b	0,192 b	0,263	0,243 b	0,430 ab
<i>A. mexicana</i> (CNPAF 9)	7,8	17,4 a	11,3 b	43,6 b	0,197 ab	0,307	0,269 a	0,417 b
dms	4,4	6,6	3,7	24,5	0,083	0,056	0,022	0,046

¹ Médias de cinco repetições.

* As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Efeito da época do ano na pigmentação, peso de matéria seca, N-total, P % e total e TCR (g/g.inoc.dia⁻¹*) de *Azolla*, médias de 25 repetições, após dez dias de crescimento.

Época	Pigm.*	Peso mat. seca	N-total	% P	P total	TCR
		g/m ²	mg/m ²		mg/m ²	g/g inoc. dia ⁻¹
Junho	4,0 c**	6,0 c	172,5 c	0,39 b	23,1 c	0,189 d
Agosto	4,1 c	13,8 b	549,2 b	0,77 a	108,9 b	0,286 b
Setembro	5,0 b	9,5 bc	402,1 bc	0,79 a	75,8 b	0,245 c
Outubro	5,6 a	42,2 a	1750,1 a	0,72 a	304,2 a	0,407 a
dms	0,5	5,0	238,9	0,07	38,7	0,022

* Os valores variaram de 7 (verde-clorofila) a 1 (vermelho-autocianina).

** As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 3. Efeito da espécie de *Azolla* na pigmentação, peso, N-total, P percentual e total e taxa de crescimento relativo (TCR)*. Médias de 20 repetições, *após dez dias de crescimento.

		Pigm.	Peso	N-total		P total		TCR
			mat. seca		% P			
			g/m ²	mg/m ²		mg/m ²	g/g inoc. dia ⁻¹	
<i>A. filiculoides</i>	CNPAF 6	7,0 a*	24,6 a	1066,1 a	0,71 a	177,7 a	0,287 a	
<i>A. caroliniana</i>	CNPAF 3	1,6 e	15,4 bc	579,1 b	0,65 ab	107,4 bc	0,261 b	
	CNPAF 58	6,1 b	12,1 c	479,9 b	0,69 ab	90,1 c	0,281 ab	
<i>A. microphylla</i>	CNPAF 68	5,5 c	17,2 bc	723,4 b	0,62 b	123,5 bc	0,282 ab	
<i>A. mexicana</i>	CNPAF 9	3,2 e	20,0 ab	744,0 b	0,67 ab	141,3 ab	0,298 a	
dms		0,6	5,9	284,2	0,88	46,0	0,026	

* As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

estar mais relacionado à espécie do que à nutrição da planta, conforme será visto através dos resultados de níveis de P e demais nutrientes na planta.

As análises conjuntas, referentes a ecótipos, indicam que *A. filiculoides* (CNPAF 6) apresentou maior peso e N total que as demais (Tabela 3), sendo esta variável mais alta no mês de outubro (Tabela 2).

A pigmentação foi estável em algumas espécies, tanto para a clorofila (CNPAF 6) ou antocianina (CNPAF 3) ou, instável, em determinadas espécies, como CNPAF 58, CNPAF 68 e CNPAF 9 (Tabela 4). A existência de correlações entre o nível de P e a pigmentação, de acordo com Cohn & Renlund (1953), Subudhi & Watanabe (1981) Watanabe et al. (1980), não foi totalmente corroborada através dos resultados desta pesquisa. Apesar de a análise conjunta (Tabela 2) mostrar que, à época de maior peso, as plantas apresentaram maior P total e maior índice de coloração para verde, o mesmo não aconteceu na análise conjunta para variedades (Tabela 3), pois um ecótipo com maior P total apresentava maior peso, porém, a de menor peso não apresentava a mesma correlação relativamente à pigmentação. No entanto, a análise detalhada, dentro da época em relação à espécie, demonstrou não haver correlação entre pigmentação e P na planta (Tabelas 4 e 5). Verifica-se que o teor de P não variou entre épocas, exceto no mês de agosto, e houve grandes modificações, dentro de épocas, em relação à pigmentação dos ecótipos. Uma espécie com pigmentação vermelha (antocianina em excesso) apresentava alto nível de P total, como, por exemplo, a CNPAF 3, em agosto, ou, então, plantas de coloração verde (clorofiladas) apresentavam baixos níveis de P total, em comparação com

outras de pigmentação verde ou vermelha. Por exemplo, a CNPAF 58, geralmente verde, não diferia da CNPAF 3 (vermelha), exceto em P total, em setembro. Em outubro, época de maior acúmulo de N e P, observa-se que o ecótipo verde, CNPAF 58, diferia estatisticamente, em P total, dos ecótipos verdes, CNPAF 6 e CNPAF 68, e também do ecótipo avermelhado, CNPAF 3 e CNPAF 9 (verde-claro) e vermelho, em outubro, época de maior produção de massa e absorção de N. Conclui-se, portanto, que o efeito observado na pigmentação da *Azolla*, além de estar ligado a um caráter varietal (Ruschel 1987), não está diretamente relacionado ao nível de P na planta, parecendo que a nutrição de P da *Azolla* pode ser susceptível a variações, decorrentes, provavelmente, de fatores climáticos, como luminosidade e temperatura, o que confirma os resultados de Peters et al. (1980) e Kulasooriya et al. (1980). Os coeficientes de correlação obtidos (Tabela 5) corroboram a discussão feita no sentido de não se obter efeito de pigmentação e P na planta, uma vez que apenas em junho a correlação pig x P% foi significativa.

A percentagem de P e P acumulado e nível de pigmentação foram maiores em *A. filiculoides* (CNPAF 6) do que em *A. microphylla* (CNPAF 68) (Tabela 3); porém, a correlação linear para teor de P x pigmentação, para ecótipos, não foi significativa, demonstrando, mais uma vez, não haver correlação entre P e pigmentação.

Pode-se concluir que a seleção deveria ser dirigida para plantas clorofiladas, dada a presença de compostos fenólicos no pigmento vermelho em *Azolla* (Ishikura 1982).

TABELA 4. Efeito da espécie de *Azolla* na pigmentação, percentagem de P e P total de junho a outubro. Médias de cinco repetições, após dez dias de crescimento.

		Pigmentação*				Percentagem de P				P total (mg/m ²)			
		Jun.	Ago.	Set.	Out.	Jun.	Ago.	Set.	Out.	Jun.	Ago.	Set.	Out.
<i>A. filiculoides</i>	CNPAF 6	7,0 a**	7,0 a	7,0 a	7,0 a	0,48	0,86 a	0,70	0,70	27	114 ab	57 cb	514 a
<i>A. caroliniana</i>	CNPAF 3	1,2 c	1,0 c	1,0 d	3,0 b	0,32	0,81 ab	0,78	0,69	16	123 a	45 c	247 bc
	CNPAF 58	6,6 a	7,0 a	4,0 c	7,0 a	0,48	0,75 b	0,84	0,70	23	106 ab	129 a	103 c
<i>A. microphylla</i>	CNPAF 68	3,6 b	4,4 b	7,0 a	7,0 a	0,37	0,61 c	0,70	0,78	25	58 b	56 bc	355 ab
<i>A. mexicana</i>	CNPAF 9	1,8 c	1,0 c	6,0 b	4,0 b	0,32	0,84 ab	0,81	0,72	26	114 a	92 ab	303 b
dms		1,6	0,5	0	2,2	0,28	0,09	0,18	0,17	24	59	47	185

* Pigmentação: 7 = verde
 6 = verde-avermelhada
 5 = verde-clara
 4 = verde-clara e vermelha
 3 = vermelho-esverdeada
 2 = vermelho-clara
 1 = vermelha.

** As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. e.

TABELA 5. Coeficientes de correlação e níveis de probabilidade (-) obtidos entre pigmentação e P percentual e total nas diferentes épocas de cultivo.

	Pigmentação x P percentual	Pigmentação x P total
Junho	0,39717 (0,0493)	0,26325 (0,2036)
Agosto	0,12593 (0,1246)	0,30531 (0,1378)
Setembro	-0,12789 (0,5424)	0,03103 (0,8829)
Outubro	0,09158 (0,6797)	0,12528 (0,5690)

TABELA 6. Efeito da época do ano no teor de micronutrientes da *Azolla*, após dez dias de crescimento. Média de 25 repetições.

Época	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Fe (ppm)
Junho	49,1 c*	17,1 b	98,9 bc	5452 a
Agosto	49,2 c	18,3 b	64,0 c	2235 c
Setembro	96,1 a	28,1 a	127,2 b	2380 c
Outubro	68,8 b	21,2 b	182,5 a	3708 b
dms	8,9	4,0	38,9	1208

* As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os teores de micronutrientes (Zn, Cu, Mn e Fe) variaram de acordo com a época de cultivo (Tabela 6). Os maiores teores de Zn e Cu na *Azolla* foram observados no mês de setembro, Mn, em outubro, e Fe, em junho. Levando-se em consideração que a melhor época de desenvolvimento da *Azolla* tenha ocorrido em outubro, e que as concentrações de Zn, Cu, Mn e Fe, nesta época, foram diferentes estatisticamente dos resultados obtidos em junho, pode-se inferir um possível efeito detrimental da temperatura na absorção destes micronutrientes pela *Azolla*.

Não foram observadas diferenças em micronutrientes entre espécies de *Azolla*.

A percentagem de K, Mg na *Azolla* variou com a espécie, não havendo variação para Ca (Tabela 7).

TABELA 7. Níveis de cálcio, magnésio e potássio em diferentes espécies de *Azolla*, após dez dias de crescimento. Médias de 20 repetições.

		K (%)	Ca (%)	Mg (%)
<i>A. filiculoides</i>	CNPAF 6	4,4 ab*	0,51	0,29 b
<i>A. caroliniana</i>	CNPAF 3	4,1 b	0,54	0,32 a
	CNPAF 58	4,8 a	0,54	0,32 a
<i>A. microphylla</i>	CNPAF 68	4,4 ab	0,52	0,29 b
<i>A. mexicana</i>	CNPAF 9	4,8 a	0,53	0,30 ab
dms		0,6	0,07	0,03

* As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A *Azolla mexicana* e a *A. caroliniana* (CNPAF 9 e CNPAF 58) apresentaram maiores percentagens de K do que a *A. filiculoides* (CNPAF 6) e a *A. caroliniana* (CNPAF 3). O teor de Mg foi maior na *A. caroliniana*, do que na *A. microphylla* e na *A. filiculoides*.

Nota-se que os ecótipos e espécies mais produtivos (CNPAF 6 e CNPAF 9) foram aqueles com maiores níveis de P, Ca, Mg e K.

Não foi observada diferença para K, Ca e Mg na *Azolla*, nas diferentes épocas de plantio estudadas.

REFERÊNCIAS

- COHN, J. & RENLUND, R.N. Notes on *Azolla caroliniana*. *Amer. Fern. J.*, **43**:7-11, 1953.
- ISHIKURA, N. 3-Desoxyanthocyanin and other phenolics in the water fern *Azolla*. *Bot. Mag.*, **95**:303-6, 1982.
- KELLAR, P.E. & GOLDMAN, C.R. A comparative study of nitrogen fixation by the *Anabaena-Azolla* symbiosis and free-living populations of *Anabaena* sp. in lake Ngahewa, New Zealand. *Oecologia*, **43**:269-81, 1979.
- KULASOORIYA, S.A.; HIRIMBUREGAMA, W.K.; SILVA, R.S.Y. Effect of light, temperature and phosphorus on the growth and nitrogen fixation in *Azolla pinnata* native in Sri Lanka. *Oecol. Plant.*, **1**(15):355-65, 1980.
- MALAVOLTA, E.; RUSCHEL, A.P.; MEDEIROS, A.A.; VEIGA, C.L.; STURION, A.C.; KRUG, F.J.; ESCOBAR, L.A.; IGARASHI, L.; ACCORSI, W.R.; BARROS, M.A.A.; SILVA, A.C. da; CARVALHO, J.G.; BELLOTE, A.F.J.; CARRIEL, J.M.; GERALDI, R.N.; EIMORI, I. Efeitos da nutrição mineral sobre o crescimento, aspecto e composição elementar e fixação de nitrogênio em *Azolla*. *An. Esc. Sup. Agric. Luiz de Queiroz*, **35**:51-75, 1978.
- PETERS, G.A.; TOIA JR., R.E.; EVANS, W.R.; CRIST, D.K.; MAYNE, B.C.; POOLE, R.E. Characterization and comparisons of five N₂-fixing *Azolla-Anabaena* associations. I. Optimization of growth conditions for biomass increase and N content in a controlled environment. *Plant Cell Environ.*, **3**:261-9, 1980.
- RAY, T.B.; PETERS, G.A.; TOIA JR., R.E.; MAYNE, B.C. *Azolla-Anabaena* relationship. VII. Distribution of ammonia-assimilating enzymes, protein and chlorophyll between host and symbiont. *Plant Physiol.*, **62**:463-7, 1978.
- RUSCHEL, A.P. *Seleção de espécies e ecótipos de Azolla*. Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1987. (EMBRAPA-CNPAF. Boletim de Pesquisa, 6)
- SAMPATH KUMAR, T.; VASUDEVAN, P.; PATWARDHAN, S.V. *Azolla* as a source of biomass; a comparison with water hyacinth (a survey). *Int. J. Environ. Stud.*, **20**:275-9, 1983.
- SINGH, P.K. *Azolla* plants as fertilizer and feed. *Indian Farming*, **27**:19-22, 1977.
- SINGH, P.K. Introduction of "green *Azolla*" biofertilizer in India. *Gen. Sci.*, **49**(4):155-7, 1980.
- SUBUDHI, B.P.R. & WATANABE, I. Differential phosphorus requirements of *Azolla* species and strains in phosphorus limited conditions culture. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **27**(2):237-47, 1981.
- WATANABE, I. & BERJA, N.S. The growth of four species of *Azolla* as affected by temperature. *Aquat. Bot.*, **15**:175-85, 1983.
- WATANABE, I.; BERJA, N.S. & DEL ROSARIO, C. Growth of *Azolla* in paddy field as affected by phosphorus fertilizer. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **26**(2):301-7, 1980.
- WATANABE, I. & ESPINAS, C.R. Potentiality of nitrogen fixing *Azolla-Anabaena* complex as fertilizer in paddy soil. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, Los Baños, Filipinas. Saturday Seminar. s.l., s.ed., 1976. n.p.
- WATANABE, I.; ESPINAS, C.R.; BERJA, N.S.; ALIMAGNE, B.V. **Utilization of the *Azolla-Anabaena* complex as nitrogen fertilizer for rice**. Los Baños, Filipinas, International Rice Research Institute, 1977. 15p. (IRRI Research Paper Series, 11)