

EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE FÓSFORO NA TAXA DE CRESCIMENTO, TEMPO DE DUPLICAÇÃO, PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA E FRESCA DE *Azolla filiculoides*

Paulo Sérgio Balbino Miguel*

Paulo Henrique de Almeida Campos Júnior*

Caio Antunes de Carvalho*

Igor de Almeida Costa*

Fernando Teixeira Gomes**

Carlos Augusto Miranda Gomide***

RESUMO

Azolla é utilizada no controle de plantas invasoras e como suplemento nitrogenado para vários animais, além de melhorar a fertilidade e a estrutura do solo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de *Azolla filiculoides* em diferentes doses de fósforo. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação em bandejas contendo latossolo vermelho-amarelo. Os tratamentos foram constituídos de seis doses de fósforo na forma de $(Ca_3(PO_4)_2)$ p.a). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Durante o cultivo as plantas foram retiradas semanalmente, para pesagem da matéria fresca, e colhidas após vinte e oito dias do transplântio. Com o peso da matéria fresca, calcularam-se a taxa de crescimento diário (TC) e o tempo de duplicação (TD). Observou-se aumento na produção de matéria fresca ($p > 0,01$) em função do acréscimo nos níveis de P, havendo aumentos de TC e diminuição do TD. *Azolla* mostrou-se exigente em fósforo, evidenciando a necessidade deste elemento no seu crescimento, produção de matéria seca e fresca.

Palavras-chave: *Azolla filiculoides*. Matéria seca. Fósforo. Taxa de duplicação.

ABSTRACT

The *Azolla* is used to control weed plants, improving soil fertility and structure, besides your use like nitrogen supplement in animal feeding. The objective of this study was evaluate the growth of *Azolla filiculoides* Lam. under phosphorus applications.

*Graduandos do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora.

**Dr. Professor de Fisiologia Vegetal do Centro de Ensino Superior

***Dr. Pesquisador da Embrapa Gado de Leite

The essay of carried out in a green house using trays filled with red-yellow soil. The treatments were six phosphorus doses using the $(Ca_3(PO_4)_2)$ with four repetitions in a completely randomized design. Weekly, in the course of cultivation, the plants were removed to weight the fresh matter and harvested, 28 days after transplantation. The characteristics evaluated was the daily growth rate (DGR) and duplication time (DT). It was observed increase in the fresh matter production with phosphorus application, with DGR increase and DT reduction. With the great response to phosphorus application, become evident the necessity of this element for *Azolla* growth.

Keywords: *Azolla filiculoides*. Dry matter. Phosphorus. Duplication rate.

INTRODUÇÃO

Azolla é um gênero de pteridófita aquática da ordem *Salviniales* e da família *Azollaceae* com ampla distribuição geográfica. (JOLY, 2002). Existem cerca de seis espécies de *Azolla*, sendo que no Brasil foram encontradas até o momento três espécies distribuídas em diversos estados (RUSCHEL; PONTES, 1992). Essa planta apresenta caule flutuante e ramificado, com folhas bilobadas parcialmente submersas, que se sobrepõem, e raízes adventícias. Os lobos dorsais das folhas apresentam cavidades ovóides, formadas na sua parte inferior que se comunica com a atmosfera por meio de um poro. (LUMPKIM; PLUCKNETT, 1980).

A planta é capaz de se associar de forma simbiótica mutualística com a cianobactéria *Anabaena azollae*, que apresenta a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico (N_2). O nitrogênio fixado é liberado para o solo na forma orgânica por ocasião da senescência das plantas ou da sua incorporação ao substrato como adubo verde. (WATANABE, 1982). Na simbiose, *Azolla* fornece nutrientes e compostos de carbono, além de proteção para a *Anabaena azollae* e, em troca, a planta recebe o nitrogênio fixado na forma de aminoácidos. (PETERS; MAYNE, 1974; PETERS; MEEKS, 1989).

Uma das características de maior interesse agrônômico e ecológico da planta é a sua capacidade de crescer em ambientes com ausência ou baixa disponibilidade de nitrogênio mineral, quando em associação simbiótica com *Anabaena azollae*. (SPRENT, 1978; RUSCHEL; PONTES, 1992). Essa simbiose se mostra muito interessante para a agricultura, devido à possibilidade de fertilização de solos pobres, aumentando o nível de nitrogênio disponível. Porém, este processo de fixação de nitrogênio é extremamente dispendioso para a cianobactéria, uma vez que para fixar uma molécula N_2 são necessárias 16 moléculas de ATP (adenosina trifosfato) (LEHNINGER; NELSON; COX, 2000).

Azolla sp., quando cultivada em campo, pode cobrir uma área de 160m² em um período de apenas quatro semanas, quando utilizados 15 kg de plantas como inóculo, o que corresponde à produção de 15 t.ha.⁻¹ de matéria fresca. (WATANABE, 1982). Em condições favoráveis, algumas espécies podem dobrar sua biomassa em um período que varia de três a cinco dias. (PLAZINSKY, 1990). No Brasil, é utilizada como biofertilizante na cultura do arroz inundado, proporcionando uma produção de grãos equivalente à aplicação de 30 kg.ha.⁻¹ de N. (FIORE, 1984; FIORE; BONETTI; TSAI, 1989). Watanabe e Liu (1992) observaram que a produção de grãos na cultura do arroz teve aumento médio de 6%, quando cultivada em consórcio com a *Azolla pinnata* e de 9-38% quando, além do consórcio, foi previamente incorporada ao solo.

A utilização da associação *Azolla-Anabaena* na produção agrícola tem reduzido os custos na aplicação de insumos, além de evitar a degradação de ecossistemas pelo excesso de formas nitrogenadas no solo. Essa associação tem sido considerada atualmente como excelente biofertilizante, desempenhando papel relevante nos estudos sobre a fertilidade do solo, devido a sua capacidade de fixar N₂ atmosférico. *Azolla* também pode ser utilizada no controle da população de ervas daninhas, pois compete com essas plantas.

Tendo em vista a alta taxa de crescimento, o grande potencial de fixação de N₂ e o elevado gasto de ATP neste processo, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a taxa de crescimento, tempo de duplicação e produção de matéria seca e fresca de *Azolla filiculoides* sob diferentes níveis de fósforo (P).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado, entre os meses de junho a julho de 2007, em casa de vegetação do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, localizado no município de Juiz de Fora-MG.

O substrato utilizado foi uma amostra da camada superficial (0-20 cm) de Latossolo Vermelho-amarelo álico (LVa) com textura argilosa. Foi estabelecido um nível de corretivo calculado com base na acidez trocável (Al³⁺) do solo, em quantidade correspondente a 7,2 cmol_c de corretivo.dm⁻³ de solo. O corretivo consistiu em uma mistura de CaCO₃ e MgCO₃ na relação estequiométrica de 4:1. Após a aplicação do corretivo, o solo foi incubado por período de 21 dias.

Para a realização do ensaio foram utilizadas bandejas de polipropileno (45x38,5x15 cm) nas quais as amostras de solo previamente corrigidas com a calagem foram adicionadas. A correção da fertilidade do solo foi realizada pela aplicação,

separadamente, em mg.dm^{-3} de K (250), S (80), B (0,81), Cu (1,33), Zn (4,00), Co (0,01), Mn (3,00) e Fe (1,56) na forma de soluções nutritivas de Hoagland e Arnon (1950) modificada (sem nitrogênio). As amostras de solo foram recobertas por uma parcela de água destilada de 3,5 cm sobre a superfície do solo. A altura da lâmina de água foi mantida, constantemente, pela adição diária de água destilada durante todo o período do cultivo.

A planta de *Azolla* utilizada como inóculo foi previamente cultivada em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) na concentração de meia força. (PETERS; MAYNE, 1974), sem aeração, por um período de três semanas. As plantas pré-cultivadas foram distribuídas nos tratamentos, na quantidade de um grama de massa fresca por bandeja, no mesmo dia de alagamento do solo. Antes da pesagem, foi retirado o excesso de água, deixando as plantas em repouso sobre folhas de papel absorvente.

O experimento constou de seis doses de fósforo (0; 20; 40; 80; 160; 320 mg.dm^{-3}) sob a forma de fosfato tricálcico ($\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2$, p.a). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Durante o período do cultivo, as plantas foram retiradas semanalmente para avaliação da matéria fresca. Para esse procedimento elas foram lavadas em peneiras de abertura de 2 mm e colocadas em toalhas de papel, a fim de remover o excesso de umidade. Após o procedimento, as plantas foram devolvidas às bandejas. No final do experimento, as amostras foram colocadas em estufa com ventilação forçada a 65°C durante um período de 96 horas para determinação da matéria seca, em balança analítica. Com base no peso da massa fresca, foram calculados a taxa de crescimento diário (TC) e o tempo de duplicação (TD) da *A. filiculoides*. Os cálculos de TC foram realizados como proposto por Yatazawa, Tomomatsu e Hosoda (1980), aplicando a fórmula $(1 + \text{TC}) \cdot t = \text{G.V.}$, em que G.V. é o valor do crescimento (G.V. = peso da massa fresca das plantas coletadas, dividido pelo peso da massa fresca das plantas semeadas) e t é o tempo de cultivo das plantas. O cálculo de TD foi realizado como proposto por Aziz e Watanabe (1983), pela aplicação da fórmula $\text{TD} = t/r$, em que t é o tempo de cultivo da *Azolla* e $r = (1/0,301) \cdot \log(\text{Wt}/\text{Wo})$, sendo Wt o peso da massa fresca no tempo t e Wo o peso da massa fresca no tempo zero (inóculo).

Os resultados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade das variâncias pelos testes de Lilliefors e Bartlett respectivamente. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey lançar nota explicando o teste. As análises foram realizadas com auxílio do Software SAEG. (EUCLIDES, 1982).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados relativos à produção de matéria fresca não indicaram diferença significativa ($p < 0,05$) até o sétimo dia de cultivo, sendo que nas demais colheitas foram observadas diferenças ($p > 0,05$) a partir do tratamento com 40 mg.dm⁻³ de P com 14 DAP e 80 mg.dm⁻³ e a partir de 21 DAP (TABELA 1).

Os valores demonstram que o crescimento de *A. filiculoides* foi afetado pela quantidade de fósforo disponível no solo. Segundo Watanabe e Ramirez (1984), essa disponibilidade pode ser influenciada, principalmente, pelo potencial de oxirredução, teores de ferro, matéria orgânica e pH. Costa (1986), demonstrou que *A. caroliniana*, *A. pinnata*, *A. filiculoides* e *A. micropylla* aumentaram gradativamente a produção de biomassa, quando a disponibilidade de P, em função da aplicação de doses de fertilizantes fosfatados ao solo, aumentou, o que é verificado neste ensaio. Aos 21 dias após o plantio, tanto os níveis de 160 quanto 320 mg.dm⁻³ não demonstraram diferenças estatísticas significativas, diferenciando em relação às demais doses (0, 20, 40 e 80 mg.dm⁻³) que apresentaram valores inferiores de matéria fresca. Depois de 28 dias, o tratamento com 320 mg.dm⁻³ destacou-se em relação aos demais níveis testados (TABELA 1).

TABELA 1 - Produção de matéria fresca (g.bandeja-1) de *Azolla filiculoides* aos 7, 14, 21,28 dias após o plantio (DAP), em resposta a diferentes níveis de fósforo na solução nutritiva.

Níveis de fósforo (mg.dm ⁻³)	Matéria Fresca (g)			
	7 DAP	14 DAP	21DAP	28 DAP
0	2,26A	1.5900C	1.4667C	1.2300C
20	2,63A	3.6967C	3.4333C	3.3200C
40	3,02A	5.5233BC	6.4700C	7.1467C
80	3,13A	9.1367AB	12.2300BC	21.7433BC
160	2,75A	11.9000 A	23.1933AB	38.0667B
320	2,96A	11.9167A	30.9000A	68.9567A

^{A,B,C} Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$).

Os tratamentos com menores doses de fósforo: 40, 20 e 0 mg.dm⁻³ não apresentaram aumentos significativos na produção de matéria fresca (TABELA 1), e exibiram folhas de tamanho reduzido, em menor quantidade e com bordas arroxeadas, sintomas relacionados à deficiência de fósforo. Cadiz e Alejar (1992), observaram que, em condições de baixa disponibilidade de fósforo, plantas de *Azolla* apresentaram redução na taxa metabólica, acompanhada da síntese de antocianinas que causa o avermelhamento de suas frondes. Neste ensaio, observou-se o encurtamento das raízes

e a diminuição no número de pêlos radiculares, refletindo no baixo desenvolvimento de *A. filiculoides*, quando exposta a níveis reduzidos de fósforo.

TABELA 2 - Produção de matéria seca (g.bandeja⁻¹) de *Azolla filiculoides*.

Níveis de fósforo (mg.dm ⁻³)	Matéria Seca (g)
0	0.0000C
20	0.0267C
40	0.3000C
80	1.0400BC
160	1.8733B
320	3.7433A

^{A,B,C} Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$).

TABELA 3 - Taxas de Crescimento de *A. filiculoides* submetidas a diferentes níveis de fósforo (7,14,21 e 28 dias após o plantio)

Níveis de fósforo (mg.dm ⁻³)	Taxa de Crescimento			
	7 DAP	14 DAP	21DAP	28 DAP
0	0,3233A	0.0367C	0,0200A	0.0033E
20	0,1367A	0.1300AB	0,2700A	0.0500D
40	0,1633A	0.1300AB	0,1000A	0.0700C
80	0,1733A	0.1633A	0,1200A	0.1067B
160	0,1567A	0.1900A	0,1567A	0.1500A
320	0,1567A	0.1833A	0,1633A	0.1633A

^{A,B,C,D} Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$).

Os efeitos das doses de fósforo também se expressaram na produção final de matéria seca de *A. filiculoides*. Analisando as tabelas 1 e 2 é possível detectar o efeito negativo da baixa concentração desse elemento no crescimento de *Azolla*, resultando em menor produção de matéria fresca e de matéria seca. Assim, foi verificada maior produção de matéria seca ($p < 0,05$) no tratamento com 320 mg.dm⁻³ de fósforo (TABELA 2). Houve aumento nos valores de TC de forma significativa aos 14 e 21 dias após o plantio (TABELA 3), enquanto que o TD diminuiu em função das doses de fósforo, durante o período de cultivo (TABELA 4). Esse comportamento pode ser atribuído, em parte, a uma redução das concentrações de fósforo disponível na solução.

Os resultados obtidos apontaram concordância entre os valores dos dados de matéria fresca e de matéria seca em relação aos diferentes níveis de fósforo na solução nutritiva, o que permite fundamentar a dependência de *A. filiculoides* a este

elemento. Os resultados corroboram com Watanabe e Ramirez (1984) que mostraram como o crescimento de *Azolla* é afetado de forma significativa pela quantidade de fósforo disponível no solo.

TABELA 4 - Tempo de Duplicação de *A. filiculoides* submetidas a diferentes níveis de fósforo (7,14,21 e 28 dias após o plantio)

Níveis de fósforo (mg.dm ⁻³)	TD (28 dias)
0	124.3333A
20	16.2700B
40	9.9767B
80	6.5633B
160	5.3333B
320	4.6367B

^{A,B} Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem (p<0,05).

CONCLUSÃO

Azolla filiculoides apresentou-se dependente da disponibilidade de fósforo, devido ao fato de o elemento ser de vital importância nos processos de obtenção de energia e fotossíntese, além de ser componente de diversas estruturas celulares.

Artigo recebido em: 11/09/2008
Aceito para publicação: 20/10/2008

REFERÊNCIAS

AZIZ, T.; WATANABE, I. Influence of nutrients on the growth and mineral composition of *Azolla pinnata*. **Bangladesh Journal Botany**, v. 12, p. 166-170, 1983.

CADIZ, N. M.; ALEJAR, A. A. The effects of abscisic acid and indole acid on nitrogen fixation and anthocyanin formation in *Azolla pinnata*. **Research in photosynthesis**, v. 4, p.107-110, 1992.

COSTA, J. T. **Comportamento de quatro espécies de *Azolla* em diferentes níveis de fósforo em amostras de dois latossolos**. 1986. 60 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986.

EUCLIDES, R. F. **Sistema de análise estatística e genética (SAEG)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1982. p. 68

FIORE, M.F. Efeito da utilização de *Azolla* na produção de arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 3, p.387-90, 1984.

FIORE, M.F.; BONETTI, R.; TSAI, S.M. Crescimento de arroz inundado em resposta à aplicação de espécies de *Azolla*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 6, p. 655-661, 1989.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **Agric. Exp. Sta Circ.**, n. 347, 1950.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 13. ed. São Paulo: Nacional, 2002. 777 p.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Savier, 2000. 975p.

LUMPKIM; PLUCKNETT, D. L. *Azolla*: Botany, physiology and use as green manure. **Economic Botany**, v. 34, p. 111-153, 1980.

PETERS, G.A.; MAYNE, B.C. The *Azolla-Anabaena azollae* relationship. I – Initial characterization of the association. **Plant Physiology**, v. 53, p. 813-9, 1974.

PETERS, G. A.; MEEKS, J. C. The *Azolla, Anabaena azollae* symbiosis: basic biology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 40, p. 193-210, 1989.

PLAZINSKY, J. The *Azolla-Anabaena* symbiosis. In: GRESSHOFF, P.M. (Ed.) **Molecular biology of symbiotic nitrogen fixation**. Boca Raton/Florida: CRC, 1990. p. 52-61.

RUSCHEL, P.A.; PONTES, M.C.F. Fixação biológica de nitrogênio por microrganismos assimióticos. In: CARDOSO, E. J. B. N. et al., **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 181-200.

SPRENT, J. I. **The Biology of Nitrogen-Fixing Organisms**. London: University of Dundee, 1978. 196 p.

WATANABE, I. *Azolla* - *Anabaena* symbiosis – its phs physiology and use in tropical agriculture. In: DOMMERGUES, Y.R.; DIEN, H.G. (Eds.) **Microbiology of tropical soils and plant productivity**. The Hague: Martinus Nijhoff Dr W. Junk Publishers, 1982. p 169-185.

WATANABE, I.; LIU, C. C. Improving nitrogen-fixing systems and intergrading then into sustainable rice farming. **Plant and Soil**, v. 141, p. 57-67, 1992.

WATANABE, I.; RAMIREZ, C.M. Relationship between soil phosphorus availability and *Azolla* growth. **Soul Science and Plant Nutrition**, v. 30, n. 4, p. 595-598, 1984.

YATAZAWA, M.; TOMOMATSU, N.; HOSODA, N. et al. Nitrogen fixation in *Azolla-Anabaena* symbiosis as affected by mineral nutrition nutrient status. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 26, n. 3, p. 415-426, 1980.