

## Visualização e quantificação do crescimento das raízes de plântulas de milho sob condições físicas adversas usando Tomografia Computadorizada de Raio-X<sup>(1)</sup>.

Sueli Rodrigues<sup>(2)</sup>; Sacha Mooney<sup>(3)</sup>; Alvaro Pires da Silva<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

<sup>(2)</sup> Estudante de doutorado; Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"; Piracicaba, SP; srodrigu@usp.br; <sup>(3)</sup> Professor Doutor; University of Nottingham; <sup>(4)</sup> Professor Titular, Universidade de São Paulo/ESALQ.

**RESUMO:** O uso de Tomografia Computadorizada (TC) de Raio-X permite a visualização da interação entre solo e sistema radicular sem perturbação do meio. O objetivo deste estudo foi visualizar e quantificar os efeitos isolados de fatores físicos adversos sobre o crescimento das raízes das plântulas de milho usando TC de Raio-X. Sementes de milho foram semeadas em cilindros de PVC, preenchidos com solos de textura areia franca e franco argilosa, e submetidas a estresse hídrico, aumento da densidade do solo e baixa temperatura. Os cilindros foram escaneados 6 dias após a semeadura e as raízes foram visualizadas e segmentadas utilizando o software VGStudioMAX<sup>®</sup>. A técnica permitiu uma boa caracterização da arquitetura do sistema radicular, principalmente das raízes com diâmetros maiores. Em todos os tratamentos o crescimento das raízes foi negativamente afetado pelas condições adversas assim como pela textura do solo. Em geral o desenvolvimento das raízes foi melhor no solo de textura areia franca. As raízes crescendo em conteúdo de água mantido na CC apresentou maior área superficial e volume em relação ao CC<sub>30%</sub> que por sua vez foi maior que o tratamento SAA. O aumento da densidade do solo também resultou em decréscimo na área superficial e volume das raízes. A baixa temperatura foi o estresse que ocasionou o efeito mais drástico na emergência das plântulas de milho. A técnica de TC de Raio-X foi satisfatória na visualização e quantificação do sistema radicular e, tem um alto potencial como uma técnica de alto-rendimento para avaliar a interação solo-raiz.

**Termos de indexação:** umidade do solo, densidade do solo e temperatura.

### INTRODUÇÃO

A qualidade de germinação das sementes não é uma garantia de boa emergência e desenvolvimento da cultura. As propriedades físicas do solo na cama

de semeadura são de fundamental importância, pois condições inadequadas podem atrasar a emergência das plântulas resultando em um estande desuniforme e, conseqüentemente, afetar a produtividade.

As propriedades físicas do solo influenciam o crescimento das plantas por seus efeitos na umidade do solo, aeração, temperatura e resistência à penetração das raízes. Para a cultura do milho (*Zea mays* L.) há quatro condições essenciais para uma germinação e emergência uniformes: (i) umidade adequada e homogênea; (ii) temperatura apropriada; (iii) bom contato solo-semente e, (iv) ausência de encrostamento (Nielsen, 2010).

O entendimento de como as raízes interagem com o solo é um pouco limitado devido a natureza opaca do solo o que impede a visualização do sistema radicular integralmente (Perret et al., 2007). A técnica não invasiva de Micro-Tomografia Computadorizada ( $\mu$ TC) de Raio-X tem permitido medidas não destrutivas e a superação de restrições impostas pela opacidade do meio.

Tem sido um desafio avaliar no campo os fatores mais restritivos ao crescimento das plantas, visto que estes não são totalmente independentes. O objetivo deste estudo foi visualizar e quantificar os efeitos isolados de fatores físicos sobre o crescimento das raízes das plântulas de milho sob condições controladas usando  $\mu$ TC de Raio-X.

### MATERIAL E MÉTODOS

As plântulas de milho foram submetidas à estresse hídrico, aumento da densidade e redução de temperatura.

Sementes de milho pré-germinadas foram semeadas em cilindros de PVC (130 mm de altura e 51 mm de diâmetro interno) preenchidos com solo seco ao ar e passado em peneira de 2 mm. Os solos utilizados foram um Newport series (Brown soil) de textura areia franca e Worcester series (Argillic pelosol) de textura franco argilosa (FAO), ambos coletados na camada superficial (0,0-0,10 cm) da Fazenda da University of Nottingham, Nottinghamshire, UK (52,52° N, 1,07° W). Para cada tratamento foram realizadas 4 repetições para a combinação solo-tratamento.

### Tratamentos

Para avaliar o estresse hídrico, foram determinados três conteúdos de água: capacidade de campo (CC), 30% da CC (CC<sub>30%</sub>) e sem a adição de água (SAA). Os cilindros foram preenchidos até a densidade de 1,3 e 1,1 Mg dm<sup>-3</sup> para o solo com textura areia franca e franco argiloso, respectivamente. Estes foram pesados diariamente e, água suficiente foi adicionada para assegurar as umidades determinadas.

O efeito do aumento da densidade foi avaliado elevando a densidade de 1,3 para 1,7 Mg dm<sup>-3</sup> para o solo de textura areia franca e de 1,1 para 1,5 Mg dm<sup>-3</sup> para o franco argiloso. Todos os cilindros foram mantidos na capacidade de campo.

Para avaliar o estresse devido à baixa temperatura, as colunas foram mantidas em sala de crescimento a 25 e 15°C. As densidades foram as mesmas da avaliação do estresse hídrico e a umidade a da capacidade de campo.

### Micro-tomografia de Raio-X, processamento das imagens e análise estatística

Todos os cilindros foram escaneados 6 dias após a inserção das sementes, usando o tomógrafo de Raio-X Phoenix Nanotom<sup>®</sup> no CT Scanning Laboratory for Agricultural and Environmental Research at Sutton Bonington Campus of University of Nottingham. Os parâmetros ajustados foram 110 kV e 180 µA, com um filtro de cobre de 0,15 mm e imagem com resolução média 24 µm. O tempo total de escaneamento para cada cilindro foi de 40 min com a obtenção de 1200 imagens por cilindro.

As imagens foram reconstruídas usando o programa Recon|x. Após a reconstrução a visualização e extração das raízes das imagens foi feita no programa Volume Graphics VGStudioMAX 2.0. As raízes foram segmentadas manualmente usando a ferramenta Region Growing (Mooney, 2012). Concluída a segmentação determinou-se o volume e área superficial do sistema radicular de cada plântula.

Os resultados foram analisados por ANOVA (SAS) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os tratamentos o desenvolvimento inicial das raízes das plântulas de milho foi negativamente afetado pelas condições adversas impostas assim como pela textura do solo. A técnica de µTC de Raio-X permitiu, claramente, a visualização em 3-D desses efeitos. Entretanto, como visualizado nas Figuras 1, 2 e 3, não foi

possível segmentar o sistema radicular em sua totalidade. A maioria das raízes extraídas das imagens representam as raízes primárias e raízes laterais de primeira e segunda ordem, ou seja, àquelas com diâmetros maiores. A limitação para a observação e conseqüente segmentação das raízes laterais de diâmetros menores é uma função da qualidade e resolução da imagem (Kaestner et al., 2006).

### Estresse hídrico

Análises mostraram efeito principal para solo e tratamento. O solo de textura areia franca exibiu área superficial e volume de raízes maior que o franco argiloso (Tabela 1). Com relação ao tratamento, o crescimento das raízes com o conteúdo de água mantido na CC apresentou maior área superficial e volume em relação ao CC<sub>30%</sub> que por sua vez foi maior que o tratamento SAA.

A significativa redução do volume de raízes no tratamento SAA se deu, provavelmente, não somente devido à restrição hídrica, mas também pelo aumento da resistência do solo quando seco.

O estresse hídrico durante as fases de desenvolvimento iniciais de germinação e emergência, pode afetar significativamente o adequado estabelecimento da cultura. Çakir (2004) observou que o crescimento vegetativo foi fortemente afetado pela insuficiência de água nos diferentes estágios do milho e que, durante o rápido crescimento vegetativo reduziu a altura das plantas. Achakzai (2009) também verificou o decréscimo da embebição/germinação das sementes e crescimento das plântulas em várias cultivares de milho em conseqüência da variação dos conteúdos de água.

### Aumento da densidade

Assim como no primeiro tratamento, não houve interação solo x tratamento. Houve efeito principal para o tratamento, com um decréscimo na área superficial e volume das raízes com o aumento da densidade. O efeito da densidade também foi relacionado com a textura. O aumento da densidade no solo areia franca, resultou em maior diâmetro médio (dados não publicados) e volume de raízes em relação ao de textura franco argilosa.

A escassez de água e o incremento da densidade resultam em aumento da resistência que induz um espessamento do diâmetro médio das raízes. Uma explicação pode ser que a resposta inicial das raízes em um solo adensado é o incremento na expansão radial (Bengough et al., 2006), resultando em raízes mais curtas e mais grossas. Tracy et al. (2012) também encontrou um decréscimo no comprimento total e aumento no diâmetro médio das raízes de



trigo com o aumento da densidade usando a análise de imagens de  $\mu$ TC de Raio-X.

### Estresse por baixa temperatura

A baixa temperatura resultou no efeito mais drástico na emergência das plântulas de milho, sua inicialização e alongamento da haste. A interação solo e temperatura não foi significativa.

Apesar das sementes terem sido semeadas já pré-germinadas, após seis dias as plântulas ainda não tinham alcançado nem mesmo o estágio VE (emergência), à 15°C. O tempo de emergência do milho pode ser de aproximadamente 30 dias sem a ocorrência de maiores danos à planta, desde que o solo esteja suficientemente seco para evitar ataque de fungos, assim como impedir a absorção da água pela semente. Uma germinação lenta predispõe a semente e a plântula a uma menor resistência as condições adversas do ambiente, assim como ao ataque de patógenos, especialmente os fungos.

### CONCLUSÕES

A técnica de  $\mu$ TC de Raio-X é rápida e precisa e, permitiu uma visualização e quantificação satisfatória e não destrutiva do sistema radicular. A desvantagem do método não está na técnica de escaneamento mas no software disponível para segmentar as raízes das imagens. A técnica tem um alto potencial como uma técnica de alto-rendimento para avaliar a interação solo-raiz.

Plântulas de milho submetidas a estresses físicos durante a fase de emergência podem ter o crescimento radicular comprometido afetando o estande final da cultura.

### AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche (PDSE), ao CNPq pela bolsa de doutorado e a ESALQ/USP pela oportunidade do doutorado.

### REFERÊNCIAS

ACHAKZAI, A.K.K. Effect of water stress on imbibition, germination and seedling growth of maize cultivars. *Sarhad Journal of Agriculture*, 25:165-172, 2009.

BENGOUGH, A.G.; BRANSBY, M.F.; HANS, J.; MCKENNA, S.J.; ROBERTS, T.J.; VALENTINE, T.A. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. *Journal of Experimental Botany*, 57:2, 2006.

ÇAKIR, R. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*, 89:1-16, 2004.

KAESTNER, A.; SCHNEEBELI, M.; GRAF, F. Visualizing three-dimensional root networks using computed tomography. *Geoderma*, 136:459-469, 2006.

MOONEY, S.J.; PRIDMORE, T.P.; HELLIWELL, J.; BENNETT, M.J. Developing X-ray Computed Tomography to non-invasively image 3-D root systems architecture in soil. *Plant and Soil*, 352:1-22, 2012.

NIELSEN, R.L. Requirements for Uniform Germination and Emergence of Corn. Disponível em: <<http://www.kingcorn.org/news/timeless/GermEmergReq.html>>. Acesso em out. 2012.

PERRET, J.S.; AL-BELUSHI, M.E.; DEADMAN, M. Non-destructive visualization and quantification of roots using computed tomography. *Soil Biology & Biochemistry*, 39:391-399, 2007.

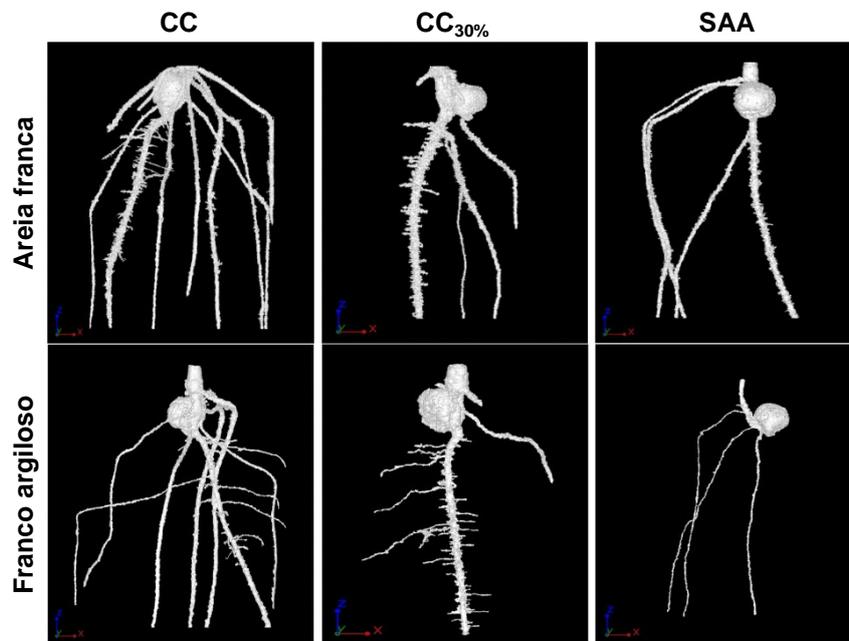
TRACY, S.R.; BLACK, C.R.; ROBERTS, J.A.; MCNEILL, A.; DAVIDSON, R.; TESTER, M.; SAMEC, M.; KOROSAK, D.; STURROCK, C.; MOONEY, S.J. Quantifying the effect of soil compaction on three varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) using X-ray Micro Computed Tomography ( $\mu$ CT). *Plant and Soil*, 353:195-208, 2012.

**Tabela 1** – Valores médios (n=4) da área superficial e volume das raízes de plântulas de milho obtidos de imagens de  $\mu$ TC de Raio-X

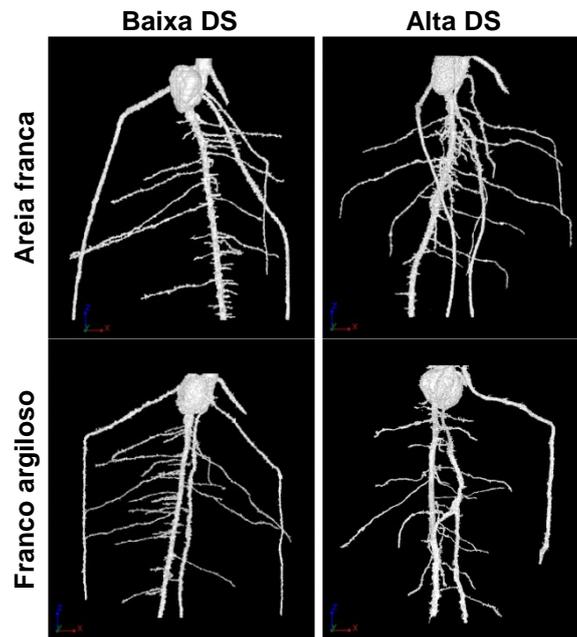
Solo	Tratamento 1 <sup>a</sup>			Tratamento 2 <sup>b</sup>		Tratamento 3 <sup>c</sup>	
	CC	CC <sub>30%</sub>	SAA	Alta DS	Baixa DS	Alta T°C	Baixa T°C
Área superficial (mm <sup>2</sup> )							
Areia franca	3177,62a	2769,52b	1700,78c	2036,63b	2387,46a	2485,26a	599,64b
Franco argiloso	2242,87a	1443,06b	730,43c	2149,67b	2548,80a	2002,02a	413,26b
Volume (mm <sup>3</sup> )							
Areia franca	819,56a	645,95b	439,35c	466,26b	602,48a	670,46a	431,99b
Franco argiloso	730,05a	571,55b	242,28c	426,29b	527,69a	539,08a	377,64b

<sup>a</sup>Efeito do estresse hídrico; <sup>b</sup>Efeito do aumento da densidade; <sup>c</sup>Efeito da baixa temperatura.

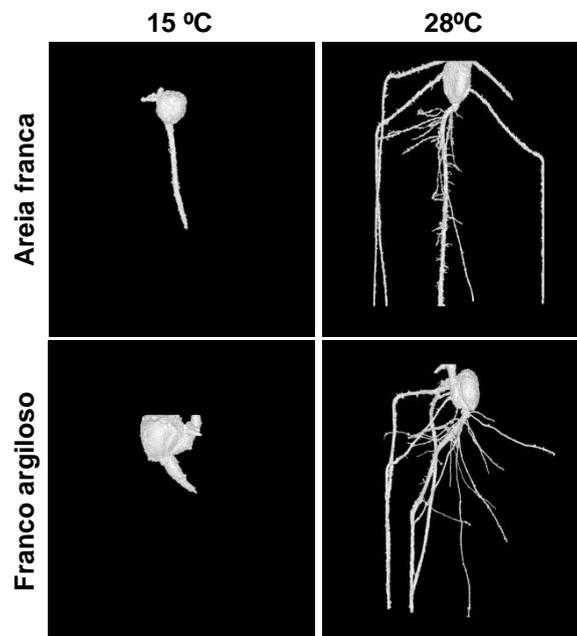
Médias com letras diferentes são significativamente diferentes ao nível de 0,05 entre os tratamentos.



**Figura 1** – Imagens de raízes de plântulas de milho, 6 dias após a emergência, segmentadas manualmente usando o software VGStudio Max, crescendo em dois tipos de solo e três conteúdos de água: capacidade de campo (CC), 30% da capacidade de campo (CC<sub>30%</sub>) e sem adição de água (SAA).



**Figura 2** – Imagens de raízes de plântulas de milho, 6 dias após a emergência, segmentadas manualmente usando o software VGStudio Max, crescendo em dois tipos de solo e duas densidades: baixa (1,1 e 1,3 Mg dm<sup>-3</sup> para textura franco argilosa e areia franca) e alta (1,5 e 1,7 Mg dm<sup>-3</sup> para textura franco argilosa e areia franca).



**Figura 3** – Imagens de raízes de plântulas de milho, 6 dias após a emergência, segmentadas manualmente usando o software VGStudio Max, crescendo em dois tipos de solo e duas temperaturas.