

Avaliação da Morfologia Radicular de Genótipos de Milho sob Estresse de Fósforo Através da Análise de Imagens Digitais

Fernando R. O. Cantão¹, Paulo C. Magalhães², Ísis F. Almeida³, Marcelo O. Soares³, Michel C. Rocha³, Thiago C. de Souza⁴ e Michael Leroy Vincent⁵

¹Eng. Agr. MSc. University of Illinois at Urbana-Champaign/USA fcantao@uiuc.edu, ²Eng. Agr. PhD Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, ³Estudante de mestrado Universidade Federal de Viçosa, ⁴Mestrando UFLA, Lavras, MG, ⁵Estudante de doutorado University of Illinois at Urbana-Champaign/USA

Palavras-chave: *Zea mays* L., Fósforo, estresse, sistema radicular, WhinRhizo.

Pouco se sabe sobre o sistema radicular e sua interação com a parte aérea durante o crescimento e o desenvolvimento das culturas, quando comparado aos fenômenos somente de parte aérea. Isso se deve, simplesmente ao fato de a aquisição de amostras e a análise de atributos morfológicos como comprimento total, superfície, diâmetro médio e volume de raízes, serem muito mais tediosas, demoradas e freqüentemente, apresentarem baixa precisão quando comparadas com características de parte aérea.

No entanto, com o advento do primeiro microcomputador com circuito único integrado, no ano de 1971, foi possível alocar dispositivos eletrônicos microprocessados em praticamente todas as áreas do conhecimento. Muitos equipamentos e métodos tradicionais têm sido substituídos por sistemas baseados na medição eletrônica, para a obtenção e a análise de dados, com o processamento de imagens digitais.

A principal vantagem do processo digital de imagens é fornecer ferramentas para facilitar a identificação e a extração de informações contidas nas imagens, para posterior interpretação. Assim, sistemas de computação são utilizados para atividades interativas de análise e manipulação de imagens, notadamente com relação a forma, cor e textura dos objetos que compõem a imagem (Cantão, 2007).

A análise de imagens digitais tornou o estudo de sistema radicular menos demorado, permitindo medidas mais precisas e menos subjetivas do que características que o olho humano é capaz de detectar (Cantão, 2007). Melhorias nas fontes de luz e desenvolvimentos técnicos na tecnologia de *scanners* permitiram aumentar o contraste de imagens e conseqüentemente, a precisão nos resultados obtidos.

Dentre os *softwares* utilizados para a avaliação de características do sistema radicular, destaca-se o sistema *WinRhizo*. A análise desse sistema é fundamentada no método da interseção de fragmentos de raiz em um malha de dimensões conhecidas. Neste método, as raízes são espalhadas aleatoriamente em cima de um anteparo, posteriormente são contadas as interseções, esse valor é então utilizado em uma expressão matemática estimando-se assim o comprimento do sistema radicular. Uma desvantagem do método da interseção é o de assumir que as raízes estão distribuídas aleatoriamente, assim erros nas estimativas podem surgir quando esta suposição não é atendida. Em adição, quando ocorre sobreposição das raízes, seu comprimento pode ser

subestimado. Uma grande vantagem do sistema *WinRhizo* é corrigir as limitações do método da interseção, aliado a sua facilidade operacional.

O objetivo desse trabalho, foi avaliar a morfologia radicular de genótipos de milho submetidos ao estresse de fósforo através do sistema de análises digitais *WinRhizo*.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Milho e Sorgo, situada no município de Sete Lagoas, MG. Foram avaliadas oito linhagens com *background* genético e origens distintas do Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, em canteiros experimentais preparados isoladamente para dois níveis diferenciados de fósforo baixo (4 mg.dm^{-3} de solo) e alto (20 mg.dm^{-3} de solo) com solos tipo LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO textura média (LEm).

As unidades experimentais foram estabelecidas em $0,8 \text{ m}^2$ (quatro linhas de 1,2 metros de comprimento e cinco plantas por metro linear). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, repetidos três vezes.

A avaliação das características de parte aérea e morfologia do sistema radicular foi realizada 21 dias após a semeadura conforme proposto por Cantão (2007). Foram coletadas duas plantas por parcela, por repetição. No Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Milho e Sorgo, as amostras foram submergidas em bacias contendo água destilada, para facilitar o processo de lavagem das raízes, que foi realizado utilizando-se um jato de água em um conjunto de peneiras de 20 e 60 Mesh. Após o processo de lavagem do sistema radicular, as plantas foram separadas em sistema radicular (SR) e parte aérea (PA), na altura do coleto.

Foram avaliadas as seguintes características: a) altura da planta, b) matéria seca de parte aérea (MSPA), c) matéria seca de raízes (MSR), d) relação MSR/MSPA, e) morfologia do sistema radicular, por meio do sistema *WinRHIZO Pro 2007a* (Régent Instr. Inc.), acoplado a um *scanner* profissional Epson XL 10000 equipado com unidade de luz adicional (TPU). Utilizou-se definição de 400 (dpi) para as medidas de morfologia de raiz, Cantão (2007).

As raízes foram dispostas em uma cuba de acrílico de 20 cm de largura por 30 cm de comprimento, com uma lâmina de água de aproximadamente um centímetro. Foram determinadas as seguintes características da raiz: comprimento total de raiz (cm), área de superfície de raiz (cm^2), e comprimento de raiz por classe de diâmetro (cm). As raízes foram classificadas segundo três classes de diâmetro, como descrito a seguir: raízes muito finas (\emptyset inferior a 0,5 mm), raízes finas ($> 0,5 \emptyset < 2,0 \text{ mm}$) e raízes grossas ($\emptyset > 2,0 \text{ mm}$). A definição destas classes foi baseada no critério de classificação de raízes proposto por Bhom (1979).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste de F) e efetuou-se a comparação entre as médias dos tratamentos pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os diferentes níveis de P não influenciaram as características matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca do sistema radicular (MSR), altura de planta (AP) e a razão entre (MSR/MSPA), como pode ser observado pela interação genótipo e níveis de P não significativa (Tabelas 1 e 2). Apesar da interação ser não significativa, o teste de média discriminou diferentemente os genótipos. Este fato está relacionado às diferentes estatísticas empregadas no teste de média e na ANAVA.

Diferentemente do relatado em vários estudos que têm demonstrado uma tendência de aumento na razão MSR/MSPA para diversas espécies, sob condições de deficiência de P (Halsted

& Lynch, 1996), neste trabalho, a razão entre matéria seca de raiz e parte aérea (MSR/MSPA), não foi influenciada pelos níveis de fósforo. Diferenças significativas entre genótipos na acumulação de matéria seca total, em resposta à deficiência de P, têm sido relatada para a cultura do milho (Silva & Gabelman, 1992; Brasil et al., 2003). Este comportamento evidencia que a acumulação de matéria seca não foi uma característica adequada para se discriminar os genótipos mais eficientes, resultados semelhantes foram observados por Cantão (2007).

As médias das linhagens para comprimento de raízes grossas e razão MSR/MSPA não foram estatisticamente diferentes tanto em baixo quanto em alto P (Tabelas 1 e 2). Considerando-se o comportamento dos genótipos nos ambientes de alto e baixo teor de P no solo, percebe-se uma resposta diferenciada entre eles.

No ambiente com maior disponibilidade de P, a linhagem 31.2.1.2 se destacou das demais por apresentar valores superiores para as características da raiz, principalmente para aquelas correlacionadas com uma maior eficiência de absorção do nutriente (Tabela 1). Segundo Schachtman et al. (1998), a área de superfície e o comprimento de raízes são as principais características de sistema radicular responsáveis pela eficiência na utilização de P, devido ao fato desse nutriente apresentar baixa mobilidade no solo e ser transportado via difusão (Horst et al., 2001). Da mesma forma, também apresentou maior comprimento de raízes finas e muito finas, que contribuem para uma maior utilização do nutriente devido a um aumento na superfície de contato entre a raiz e o solo Cantão (2007).

Clarkson & Hanson (1980) consideram que, de maneira geral, um sistema radicular com maior número de ramificações e com raízes com menor diâmetro seria mais efetivo na absorção de nutrientes quando o teor de P é limitante ao desenvolvimento das culturas. Neste ambiente as linhagens 2.3.2.1, 6.1.1 e 31.2.5 apresentaram um incremento inferior aos demais quanto aos caracteres da raiz.

Ao se verificar o comportamento das linhagens sob condição de estresse de fósforo, observa-se que a linhagem superior passa a ser o 13.1.2 (Tabela 2). Essa variação favorece a identificação de indivíduos mais eficiente na aquisição e utilização de nutrientes, pois mostra que genótipos com capacidade produtiva superior sob adequada disponibilidade do nutriente variam amplamente em solo com suprimento deficiente, sendo esta condição desejável para a seleção dos genótipos quanto à limitada disponibilidade de P no solo (Buso & Bliss, 1988; Gourley et al., 1993).

Maiores valores nas características das raízes como comprimento de raiz, área de superfície, comprimento de raízes finas, muito finas e grossas, ocorreram no nível mínimo de P e diminuíram com o aumento de nível de P no solo, significando que em solos deficientes em P, as raízes se desenvolvem mais para explorar o maior volume de solo e para satisfazer a necessidade nutricional da planta (Tabelas 1 e 2). Essa característica está relacionada com a alteração na relação fonte dreno de materiais eficientes na utilização de P, que sob condição de estresse transloca maior quantidade de fotoassimilados produzidos na parte aérea para a raiz. Quando a necessidade da planta em nutriente é satisfeita, as raízes não penetram mais profundamente no solo, fato ligado à demanda e ao fornecimento de nutriente (Fageria et al., 1995); isto significa que a eficiência de utilização de P é máxima em baixo nível de nutriente e mínima a mais alto nível.

Os valores da parte aérea foram semelhantes, independentemente do ambiente. Destacaram-se as linhagens 2.3.2.1 e 13.1.2 para altura da planta e o 6.1.1 para produção de matéria seca. Esta produção de parte aérea é resultado de uma associação de fatores, como menor exigência de nutrientes disponível no solo, característica do genótipo, entre outros.

Estimativas elevadas do coeficiente de determinação genotípico (H^2) indicam que a maior parte da variação entre as médias de genótipos é de natureza genética, enquanto valores superiores à unidade na relação CVg/CVe mostram que a variação genotípica supera a ambiental, sendo ambas as situações indicativas de possibilidade de sucesso na identificação de genótipos superiores (Vencovsky, 1987).

Dentro deste escopo, o comprimento de raízes e a área de superfície de raízes seriam variáveis interessantes de serem avaliadas para seleção de genótipos, visto que além de serem características desejáveis para maior tolerância e para discriminar genótipos eficientes, também apresentaram relação CVg/CVe maior que a unidade e alto valor de H^2 , indicando que grande parte da variação observada entre os genótipos é de natureza genotípica.

TABELA 1. Comprimento de raiz (CR), área de superfície (AS), comprimento de raízes muito finas (CRMF), comprimento de raízes finas (CRF), comprimento de raízes grossas (CRG), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSR), altura da planta (AP) e razão de matéria seca de raiz e parte aérea em ambiente com alto teor de P.

Genótipos	Características									
	CR	AS	CRMF	CRF	CRG	MSPA	MSR	AP	MSR/MSPA	
L 29.1.1	544.22 b	70.34 b	409.70 a	131.38 b	1.99 a	9.33 a	7.58 b	10.15 a	0.81 a	
L 14.1.1	365.21 c	53.64 c	243.08 b	118.99 b	2.43 a	9.02 b	6.90 b	8.58 b	0.77 a	
L 31.2.1.2	672.84 a	92.92 a	482.67 a	186.15 a	2.60 a	8.25 b	5.87 b	7.62 b	0.72 a	
L 2.3.2.1	367.49 c	50.01 c	271.52 b	93.32 c	1.56 a	9.67 a	8.31 a	10.95 a	0.87 a	
L 13.1.2	495.12 b	74.64 b	355.64 a	136.29 b	2.05 a	8.42 b	6.26 b	10.75 a	0.74 a	
L 6.1.1	309.67 c	46.76 c	208.04 b	98.38 c	2.21 a	9.96 a	8.95 a	7.90 b	0.90 a	
L 1170	530.08 b	64.52 b	407.68 a	119.09 b	1.96 a	8.98 b	7.28 b	9.17 a	0.82 a	
L 31.2.5	308.74 c	37.26 c	227.40 b	79.05 c	1.70 a	8.51 b	8.85 a	6.95 b	1.04 a	
VAR.GEN	15169.11	297.29	8620.85	987.46	-0.01	0.23	0.87	1.84	0.01	
H^2	0.88	0.93	0.83	0.91	-0.09	0.62	0.67	0.82	0.50	
MÉDIA	449.17	61.26	325.72	120.33	2.06	9.02	7.50	9.01	0.83	
CV(%)	17.52	13.70	22.23	14.55	30.24	7.22	15.26	12.29	15.28	
CVg/Cve	1.57	2.05	1.28	1.79	0.16	0.74	0.82	1.22	0.57	

A técnica de análise de imagens digitais de sistemas radiculares permitiu discriminar genótipos de milho mais eficientes em ambientes com menores níveis de P, a linhagem 13.1.2 foi a que apresentou melhor desenvolvimento radicular sob condição de estresse por fósforo.

TABELA 2. Comprimento de raiz (CR), área de superfície (AS), comprimento de raízes muito finas (CRMF), comprimento de raízes finas (CRF), comprimento de raízes grossas (CRG), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSR), altura da planta (AP) e razão de matéria seca de raiz e parte aérea em ambiente com baixo teor de P.

Genótipos	Características									
	CR	AS	CRMF	CRF	CRG	MSPA	MSR	AP	MSR/MSPA	
L 29.1.1	611.40 b	83.37 b	457.15 b	150.31 b	2.72 a	8.06 b	6.46 a	10.28 b	0.80 a	
L 14.1.1	276.51 d	40.79 c	174.84 d	99.81 b	1.32 a	9.31 a	8.28 a	8.60 d	0.91 a	
L 31.2.1.2	493.56 c	71.21 c	347.50 c	142.47 b	1.91 a	8.15 b	5.51 a	8.17 d	0.68 a	
L 2.3.2.1	445.70 c	63.89 c	330.19 c	111.96 b	2.36 a	8.48 b	6.94 a	11.52 a	0.81 a	
L 13.1.2	795.28 a	110.03 a	588.10 a	202.07 a	3.84 a	8.57 b	6.05 a	12.05 a	0.71 a	
L 6.1.1	403.68 c	58.90 c	272.95 c	127.53 b	1.90 a	10.41 a	7.66 a	8.02 d	0.74 a	
L 1170	529.78 c	67.98 c	397.27 b	129.17 b	1.93 a	8.80 b	7.16 a	9.47 c	0.82 a	
L 31.2.5	343.57 d	53.68 c	220.33 d	120.05 b	2.20 a	8.14 b	5.81 a	7.92 d	0.71 a	
VAR.GEN	23547.46	371.76	16055.41	730.62	0.34	0.42	0.41	2.52	0.00	
H ²	0.89	0.85	0.90	0.74	0.61	0.68	0.45	0.96	-0.58	
MÉDIA	487.43	68.73	348.54	135.42	2.27	8.74	6.73	9.50	0.77	
CV(%)	19.50	20.23	20.43	20.25	36.08	8.91	18.23	6.19	21.52	
CVg/Cve	1.61	1.39	1.78	0.99	0.71	0.84	0.52	2.70	0.35	

Referências Bibliográficas

- BUSO, G.S.C. & BLISS, F.A. Variability among lettuce cultivars grown at two levels of available phosphorus. *Plant and Soil*, Dordrecht, **111**(1):67-73, 1988.
- CANTÃO, F. R. O. **Marcadores morfológicos de raiz em genótipos de milho contrastantes para tolerância à seca em resposta a estresses de fósforo e alumínio**. 2007. 98p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.
- CLARCKSON, D.T.; HANSON, J.B. The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.3, p.239-298, 1980.
- FAGERIA, N.K. & BALIGAR, V.C. Phosphorus-use efficiency by corn genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, New York, **20**(10):1267-1277, 1997.
- GOURLEY, C.J.P.; ALLAN, D.L. & RUSSELLE, M.P. Defining phosphorus efficiency in plants. In: BARROW, N.J., ed. *Plant nutrition: from genetic engineering to field practice*. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1993. p.363-366.
- HALSTED, M.; LYNCH, J. Phosphorus responses of C3 and C4 species. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 47, n. 297, p. 497-505, Apr. 1996.
- HORST, W. J.; KAMH, M.; JIBRIN, J. M.; CHUDE, V. O. Agronomic measurements for increasing P availability to crops. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 237, n. 2, p. 211-233, Dec. 2001.
- SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiology*, Rockville, v. 116, n. 2, p. 147-153, Feb. 1998.
- SILVA, A.E. da & GABELMAN, W.H. Screening maize inbred lines for tolerance to low-P stress condition. *Plant and Soil*, Dordrecht, **146**(1-2):181-187, 1992.
- VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. & VIEGAS, G.P., eds. *Melhoramento e produção de milho*. Campinas, Fundação Cargill, 1987. v.1, p.135-214.