

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS FOTOELÉTRICO E DA INTERSEÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE ÁREA, COMPRIMENTO E RAIÓ MÉDIO RADICULAR¹

ROBERTO OSCAR PEREYRA ROSSIELLO², ADELSON PAULO ARAÚJO³,
CELSE VAINER MANZATTO⁴ e MANLIO SILVESTRE FERNANDES²

RESUMO - O estudo do sistema radicular exige métodos quantitativos que combinem rapidez e precisão. O método da interseção, que estima o comprimento através de contagens das interseções entre segmentos de raízes e uma quadrícula, e o método fotoelétrico, que quantifica a área com um medidor eletrônico, foram comparados na determinação do comprimento, área superficial e raio médio radicular. Os métodos foram calibrados com fios de plástico com diâmetros de 0,7, 1,19 e 3,55 mm, apresentando precisão e acurácia equivalentes. Em plantas de milho (*Zea mays* L.), cultivadas em solo e em solução nutritiva, o método da interseção subestimou os valores de área e comprimento nas raízes finas (diâmetro < 2 mm). A discrepância entre os métodos foi maior nas plantas cultivadas em solução nutritiva. O mesmo operador gastou, em média, 4,0 e 15,6 min por 10 m de raízes, na execução dos métodos fotoelétrico e da interseção, respectivamente. Utilizando subamostras com 20% do volume radicular total, o método fotoelétrico produziu resultados satisfatórios, mas o método da interseção gerou elevados coeficientes de variação. Discutem-se os usos do método fotoelétrico na quantificação de parâmetros do sistema radicular e do influxo de nutrientes.

Termos para indexação: milho, nitrogênio, raiz, *Zea mays*.

COMPARISON OF THE PHOTOELECTRIC AND THE INTERSECTION METHODS OF ESTIMATING ROOT AREA, ROOT LENGTH AND MEAN ROOT RADIUS

ABSTRACT - The study of root system requires quantitative methods that combine speed and precision. The intersection method, that estimates the length through counting intersections between root segments and a gridline, and the photoelectric method, that measures the area with an electronic area meter, were compared on estimating root length, root surface area, and mean root radius. The methods were gauged against plastic wires with diameters of 0.7, 1.19 and 3.55 mm, showing similar precision and accuracy. For maize (*Zea mays* L.) plants grown in soil and in nutrient solution, the intersection method underestimated the values of area and length on fine roots (diameter < 2 mm). The discrepancy between methods was higher in nutrient solution grown plants. The same operator spent an average of 4.0 and 15.6 min. per 10 m of roots, on the execution of the photoelectric and the intersection methods, respectively. Using sub-samples with 20% of total roots volume, the photoelectric method produced satisfactory results, but the intersection method generated high values of coefficient of variation. The uses of the photoelectric method on quantification of root parameters and influx of nutrients area discussed.

Index terms: maize, nitrogen, root, *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

O estudo dos padrões de crescimento e das características morfológicas do sistema radicular tem-se desenvolvido nos últimos anos, em consonância com a disponibilidade de novas técnicas analíticas.

¹ Aceito para publicação em 14 de março de 1995.

² Eng. Agr., Prof. Adjunto, Dep. de Solos, UFRRJ, CEP 23851-970 Seropédica, RJ.

³ Eng. Agr., Prof. Assistente, Dep. de Solos, UFRJ.

⁴ Eng. Agr., M.Sc. Bolsista do CNPq.

Na avaliação da eficiência de absorção e utilização de nutrientes, a quantificação do sistema radicular exige métodos que combinem rapidez e precisão, diante da necessidade de examinar um número relativamente extenso de genótipos.

De forma geral, os parâmetros mais utilizados nestes estudos são a massa fresca ou seca, a área superficial, o comprimento e o raio médio do sistema radicular (Nye & Tinker, 1977; Russell, 1977; Barber, 1984). Embora cada parâmetro tenha limitações, a área superficial e o comprimento são preferidos para a expressão das taxas de absorção de água e de nutrientes (Nye & Tinker, 1977).

A maioria dos procedimentos para estimativa do comprimento radicular baseia-se em modificações do método da interseção, proposto por Newman (1966) e aperfeiçoado por Tennant (1975). Sistemas de análise digital de imagens vêm sendo adaptados para a contagem das interseções (Voorhees et al., 1980; Harris & Campbell, 1989), mas requerem sofisticação instrumental, nem sempre disponível. Medições do comprimento radicular diretamente com régua (Ahlrichs et al., 1990) ou com curvímeter em fotocópias das raízes (Lynch & Beem, 1993) são demoradas, restritas a estudos com plântulas.

A determinação da área radicular pelo método fotoelétrico, com a utilização de medidores eletrônicos de área, foi apresentada por Kempf (1976).

Este trabalho compara os métodos da interseção e fotoelétrico na determinação de área, comprimento e raio médio radicular, enfatizando a precisão e o tempo de operação. São também apresentadas algumas aplicações do método fotoelétrico em estudos sobre absorção de nutrientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois métodos de determinação da área superficial (A), comprimento (L) e raio médio radicular (R) foram comparados: o método da interseção (MI), que estima o comprimento, e o método fotoelétrico (MF), que quantifica a área superficial. Os dois métodos podem ser calibrados a partir de uma avaliação do volume radicular.

Fios de plástico de diâmetros de 0,7, 1,19 e 3,55 mm, aferidos com micrômetro, foram usados como padrões, no intuito de simular diâmetros correspondentes a raízes finais e grossas (Böhm, 1979). Para cada diâmetro de fio, foram usadas dez classes de comprimento, com interva-

los de 2 m entre classe (2 a 20 m), totalizando 110 m de fio de cada diâmetro. Em cada um desses 30 padrões, foram efetuadas três medições de L, A e R, pelos MI e MF.

A área superficial de um segmento de seção uniforme é:

$$A = 2 \pi R L \quad (1)$$

Método da interseção

O comprimento (L) de segmentos de fiação plástica ou de raízes foi calculado pela fórmula (Tennant, 1975):

$$L = (11/14) N Q \quad (2)$$

onde N representa o número de interseções entre segmentos destacados e uma quadrícula de malha unitária Q. Foi utilizada uma quadrícula com dimensões 1 x 0,5 m e Q = 2 mm, preferida para leituras entre 2,75 e 11 m (Tennant, 1975).

O raio médio radicular (R) foi obtido por:

$$R = (V / \pi L)^{1/2} \quad (3)$$

onde V representa o volume radicular, determinado pelo deslocamento de um volume de água numa proveta graduada. A partir dos valores de L (eq. 2) e R (eq. 3), a área radicular (A) foi calculada pela eq. 1.

Método fotoelétrico

A área transversal de segmentos de fiação de plástico e a área de raízes foram estimadas com um medidor de área eletrônico portátil (LI - 3000, LI - COR Inc.). As raízes foram colocadas previamente entre folhas de acetato. Para o cálculo da área superficial (A), a área transversal foi multiplicada por π .

A partir da equação 1:

$$L = A / (2 \pi R) \quad (4)$$

Das eqs. 3 e 4 deduz-se que:

$$R = 2 V / A \quad (5)$$

A partir do valor medido de A e do valor obtido de R, é calculado L (eq. 4).

Determinações em raízes de milho

Os métodos foram testados em raízes de plantas de milho (*Zea mays* L.), crescidas em solo e em solução nutritiva. O sistema radicular de doze plantas de milho, cul-

tivadas em solo Podzólico Vermelho-Amarelo no câmpus da UFRRJ, foi coletado através de escavação direta, 70 dias após plantio. As raízes foram separadas sob jato de água corrente e lavadas repetidamente. As raízes finas (diâmetro < 2 mm) e grossas (diâmetro > 2 mm) (Böhm, 1979), foram separadas visualmente.

As determinações A, L e R pelos dois métodos foram efetuadas com o total de raízes, ou em subamostras independentes, com cerca de 20% da massa fresca total de cada classe de diâmetro. Usando-se subamostras, os valores de A e L totais foram estimados pela razão entre a massa fresca da subamostra e da raiz total.

Foram incluídas, no estudo, sete plantas de milho cultivadas em solução nutritiva (descrita por Fernandes, 1984). A coleta foi efetuada 15 dias após emergência, quando as plantas apresentavam somente raízes finas, determinando-se A, L e R pelos dois métodos no sistema radicular total. A comparação entre os métodos foi efetuada através de regressão linear e análise de variância.

Aplicações

O MF foi empregado no estudo de diferenças de absorção de nutrientes em genótipos de milho (Manzatto, 1987). Dois híbridos de milho (DINA 10 e HSN-01) foram crescidos em solução nutritiva (Fernandes, 1984), efetuando-se oito coletas, entre os 15 e 87 dias após emergência. Os valores de A, V, L e R foram obtidos pelo MF, calculando-se os quocientes W/L e L/V, onde W é a massa seca radicular. No material vegetal seco e moído, foi determinada a concentração de N (semi-micro Kjeldahl), obtendo-se o conteúdo total de N em cada planta (U).

O influxo de N nas raízes foi calculado pelo método funcional de análise de crescimento (Hunt, 1973). Os dados de A e U foram ajustados a uma curva exponencial polinomial de 2º grau (Manzatto, 1987), sendo o tempo (t) a variável independente. O influxo (I) de N foi obtido por:

$$I = 1/A \cdot dU/dt \quad (6)$$

onde dU/dt corresponde à derivada da curva ajustada U versus t, calculando-se valores instantâneos de influxo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As elevadas correlações entre os valores estimados pelos MF e MI e a medição direta de fios de plástico, todas iguais a 0,999 e significativas a 0,1%, indicam boa precisão dos métodos, sendo que as

pendentes das retas para A e L nas três classes de diâmetro não diferiram significativamente da unidade.

A análise de variância indicou diferenças significativas entre os valores de L, A e R obtidos pelos dois métodos e pela medição direta (Tabela 1), devido à alta repetibilidade das estimativas, refletida nos baixos coeficientes de variação. Para o MF, medições repetidas de superfícies de área conhecida indicaram desvios máximos de 1,5%, em concordância com a especificação do equipamento utilizado. Para o MI, um coeficiente de variação de 5% ou menor é considerado satisfatório (Newman, 1966; Tennant, 1975). Os desvios das estimativas de L, A e R para ambos os métodos, em relação ao padrão, foram de, no máximo, 2%, distribuídos aleatoriamente entre as classes de diâmetro (Tabela 1). Esses resultados indicam que o MF e o MI apresentaram precisão e acurácia similares.

Medições nas raízes de milho

A relação entre os dados de A e L obtidos pelo MF e MI no sistema radicular total de plantas

TABELA 1. Comprimento, área e raio de fiação de plástico de diferentes diâmetros, estimados pelos métodos fotoelétrico e da interseção e por medição direta (médias de dez comprimentos de fios de plástico com três repetições).

Diâmetro do fio (mm)	Método fotoelétrico	Método da interseção	Medição direta	CV (%)
-----Comprimento (m)-----				
0,7	11,14a ¹	11,02ab	11,00b	1,91
1,19	11,10a	10,85c	11,00b	1,38
3,55	11,22a	11,08b	11,00b	1,39
-----Área (m ² x 10 ⁻²)-----				
0,7	2,44a	2,43ab	2,42b	0,96
1,19	4,02b	3,97c	4,04a	0,66
3,55	12,33a	12,26b	12,27b	0,69
-----Raio (mm)-----				
0,7	0,347b	0,351a	0,350	1,50
1,19	0,574c	0,582b	0,595a	0,78
3,55	1,756b	1,765b	1,775a	0,79

¹ Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

de milho cultivadas em solo, apresentou coeficientes de correlação acima de 0,97 (Tabela 2). Sem a separação das raízes por classe de diâmetro, o MF estimou mais A e L do que o MI. Essas diferenças podem ser devidas à presença de raízes curvadas, que reduzem o número de interseções contadas e introduzem uma fonte de erro no MI (Böhm, 1979).

Os coeficientes de regressão entre os métodos nas plantas cultivadas em solução nutritiva (que apresentaram apenas raízes finas) indicaram que o MF estimou aproximadamente 15% mais L e 32% mais A que o MI (Tabela 2). Estes percentuais de superestimação estão muito acima dos 2% observados na calibração prévia. Esta discrepância pode ter origem nas de pequeno comprimento (laterais de primeira ordem ou inferiores), não contadas com interseções no MI. A utilização de uma quadrícula com menor tamanho unitário de malha poderia melhorar a concordância, mas implicaria aumento considerável no tempo de operação (Tennant, 1975).

Quando a fração raízes finas foi desenvolvida no solo, a concordância entre os métodos foi melhor, e o MF excedeu o MI em 2-3% (Tabela 2). Possivelmente, diferenças morfológicas nos padrões de enraizamento entre os dois ambientes concorreram para explicar esse resultado (Russell, 1977; Maizlish et al., 1980). Quando são consideradas raízes grossas, existe maior concordância entre os métodos, tanto para a estimativa de L como de A (Tabela 2). A separação do sistema radicular em classes de diâmetro é importante, já que as raízes finas são as principais responsáveis pela atividade absorviva (Nye & Tinker, 1977). Habib (1988) verificou que a divisão do sistema radicular em três classes de diâmetro reduziu a variância das estimativas de L.

TABELA 2. Equações e coeficientes de correlação da regressão linear simples para os valores de comprimento e área de raízes de milho, obtidos pelos métodos fotoelétrico (MF) e da interseção (MI).

Classe de diâmetro da raiz (mm)	Comprimento (m)		Área (m ²)	
	Equação	r	Equação	r
Total ¹	MF = 1,0177 MI	0,970 ³	MF = 1,0226 MI	0,979 ³
> 2 ¹	MF = 0,9972 MI	0,997	MF = 1,0271 MI	0,989
< 2 ¹	MF = 1,0349 MI	0,985	MF = 1,0237 MI	0,996
< 2 ²	MF = 1,1469 MI	0,990	MF = 1,3208 MI	0,990

¹ Plantas cultivadas em solo

² Plantas cultivadas em solução nutritiva.

³ Coeficientes de correlação significativos a 1%.

No tocante ao tempo de operação, um mesmo operador gastou, em média, 4,0 e 15,6 min por 10 m de raízes, na execução do MF e do MI respectivamente, excluindo-se o tempo gasto na lavagem, separação e determinação do volume radicular, comum a ambos os métodos. Esses tempos correspondem a uma faixa de L entre 10 e 70 m. A economia de tempo do MF assume relevância, já que perdas de até 40% da massa seca radicular podem ocorrer durante o processamento das amostras (Noordwijk & Floris, 1979).

Independentemente do método, houve aumento do coeficiente de variação com a utilização de subamostras do sistema radicular (Tabela 3). Dependendo da margem de erro admitida, o MF pode ser indicado para a estimativa de L, A e R por subamostragem. Já o MI não se mostrou apropriado na fração raízes grossas, com coeficientes de variação elevados para L e R (Tabela 3). O MI mostrou-se particularmente ineficiente para a estimativa de L, com erro de cerca de 10% em relação à medição do sistema radicular total, o que pode resultar num erro absoluto considerável. Essas percentagens de recuperação podem ser melhoradas, com maior número de repetições ou modificando-se o tamanho da subamostra, o que, entretanto, implica o aumento do tempo de operação. A subjetividade envolvida na avaliação das interseções é também importante fonte de erro do MI (Bland & Mesarch, 1990).

TABELA 3. Percentagens de recuperação do comprimento, área e raio radicular em subamostras, com relação à medição do sistema radicular total, obtidas com os métodos fotoelétrico (MF) e da interseção (MI) (médias de 12 plantas de milho cultivadas em solo).

	Comprimento		Área		Raio	
	Média	CV	Média	CV	Média	CV
-----%-----						
Raízes finas						
MF*	103,3	4,49	102,3	3,33	97,9	3,49
MI	97,9	12,24	98,8	6,13	101,6	6,27
Raízes grossas						
MF	97,8	7,98	98,6	6,34	103,0	5,44
MI	90,0	17,08	94,6	8,58	94,8	15,55

A prática usual de conservação de raízes em álcool por um período longo pode aumentar a translucidez das raízes, principalmente das mais finas, por solubilização do material orgânico, o que pode causar subestimação significativa de A e L pelo MF. A utilização de corantes para aumento do contraste, como efetuado por Lehman & Engelke (1991), deve ser melhor a avaliada.

Aplicações

Uma seqüência de determinações no sistema radicular com o emprego do MF é mostrada na Tabela 4. Os quatro primeiros parâmetros listados são medidos ou calculados segundo as fórmulas acima indicadas. A combinação desses parâmetros com dados de massa seca radicular permite a obtenção de relações que facilitam a caracterização do padrão de desenvolvimento do sistema radicular. Assim, como a massa de raízes laterais por unidade de L é consideravelmente menor que a dos eixos primários (Russell, 1977), o quociente W/L fornece indicação da extensão da ramificação lateral. Como esperado, essa relação deve aumentar com a idade da planta (Tabela 4), indicando uma repressão das taxas de iniciação e extensão de raízes laterais, a partir dos ápices dos eixos primários (Maizlish et al., 1980).

TABELA 4. Parâmetros radiculares e taxas de absorção de N em dois híbridos de milho cultivados em solução nutritiva, avaliados aos 21 e 72 dias, após emergência (DAE) (médias de três repetições).

Parâmetro ou taxa	DINA 10		HSN-01	
	21 DAE	72 DAE	21 DAE	72 DAE
Área (A, m ² x 10 ⁻²)	3,51	63,74	4,38	56,98
Volume (V, m ³ x 10 ⁻⁶)	6,4	448,7	9,6	386,6
Comprimento (L, m)	13,72	262,75	16,54	219,67
Raio médio (R, mm)	0,36	1,41	0,44	1,36
Massa seca (W, g)	0,51	17,71	0,61	16,70
W/L (mg . m ⁻¹)	37,2	67,4	36,9	76,0
L/V (m ⁻² x 10 ⁻⁶)	2,14	0,59	1,72	0,57
Influxo de N (mg N . m ⁻² . dia ⁻¹)	80,2	43,6	192,5	16,7

Em milho, raízes nodais aumentam progressivamente sua contribuição ao diâmetro médio e volume radicular (Maizlish et al., 1980), enquanto declina a extensão de sua ramificação lateral. Portanto, a relação L/V (Jordan et al., 1979) tende a declinar como o tempo, independentemente de cultivares (Tabela 4).

Os valores de influxo de N na Tabela estão expressos por unidade de A, mas podem ser calculados em função de L. Dada a rapidez de execução do MF, são possíveis amostragens mais frequentes e maiores, aumentando a precisão e acurácia das estimativas. Os valores de influxo de N obtidos a partir do MF concordam, em ordem de grandeza, com outras estimativas em plantas de milho em solução nutritiva, em que o valor de A foi obtido pelo MI (Nye & Tinker, 1977). Sua diminuição com a ontogenia expressa a perda de eficiência de absorção de N com o envelhecimento do sistema radicular (Barber, 1984).

CONCLUSÕES

1. O método da interseção subestimou os valores de área e comprimento radicular em raízes finais de plantas de milho, quando comparado ao método fotoelétrico; esta discrepância foi maior em plantas cultivadas em solução nutritiva do que em solo.

2. O método fotoelétrico produziu estimativas de área e comprimento radicular com maior rapidez que o método da interseção, obtendo-se boas estimativas com o uso de subamostras com 20% da massa fresca total do sistema radicular.

REFERÊNCIAS

- AHLRICH, J.L.; KARR, M.M.; BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J. Rapid bioassay of aluminum toxicity in soil. *Plant and Soil*, The Hague, v.122, p.279-285, 1990.
- BARBER, S.A. *Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach*. New York: John Wiley, 1984. 398p.
- BLAND, W.L.; MESARCH, M.A. Counting error in the line-intercept method of measuring root length. *Plant and Soil*, The Hague, v.125, p.155-157, 1990.

- BÖHM, W. **Methods of studying root systems**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. 188p.
- FERNANDES, M.S. N-carriers, light and temperature influences on uptake and assimilation on nitrogen by rice seedlings. **Turrialba**, San José, v.34, p.9-18, 1984.
- HABIB, R. Total root length as estimated from small subsamples. **Plant and Soil**, The Hague, v.108, p.267-274.
- HARRIS, G.A.; CAMPBELL, G.S. Automated quantification of roots using a simple image analyser. **Agronomy Journal**, Madison, v.81, p.935-938, 1989.
- HUNT, R. A method of estimating root efficiency. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.10, p.157-164, 1973.
- JORDAN, W.R.; MILLER, F.R.; MORRIS, D.E. Genetic variation in root and shoot growth of sorghum in hydroponics. **Crop Science**, Madison, v.19, p.468-472, 1979.
- KEMPH, G.S. Measuring fibrous roots with a leaf area meter. **Journal of Range Management**, v.29, p.85-86, 1976.
- LEHMAN, V.G.; ENGELKE, M.C. Heritability estimates of creeping bentgrass root systems grown in flexible tubes. **Crop Science**, Madison, v.31, p.1680-1684, 1991.
- LYNCH, J.; BEEM, J.J. van. Growth and architecture of seedling roots of common bean genotypes. **Crop Science**, Madison, v.33, p.1253-1257, 1993.
- MAIZLISH, N.A.; FRITTON, D.D.; KENDALL, W.A. Root morphology and early development of maize at varying levels of nitrogen. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, p.25-31, 1980.
- MANZATTO, C.V. **Acumulação de matéria seca e nutrientes em quatro híbridos de milho (*Zea mays* L.)**. Itaguaí: UFRRJ, 1987. 157p. Tese de Mestrado.
- NEWMAN, E.I. A method of estimating the total length of root in a sample. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.3, p.139-145, 1966.
- NOORDWIJ, M. van; FLORIS, J. Loss of dry weight during washing and storage of root samples. **Plant and Soil**, The Hague, v.53, p.239-243, 1979.
- NYE, P.H.; TINKER, P.B. **Solute movement in the soil-root system**. Oxford: Blackwell, 1977. 342p.
- RUSSELL, R.S. **Plant root systems: their function and interaction with the soil**. New York: McGraw-Hill, 1977.
- TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Oxford, v.63, p.995-1001, 1975.
- VOORHEES, W.B.; CARLSON, V.A.; HALLAUER, E.A. Root length measurement with a computer-controlled digital scanning microdensitometer. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, p.847-851, 1980.