

## Protocolo de Amostragem para Determinação de Atributos de Raízes de Plantas de Campo Nativo

Leandro Bochi da Silva Volk<sup>1</sup>  
José Pedro Pereira Trindade<sup>2</sup>  
Marcos Flávio Silva Borba<sup>3</sup>  
Gustavo Trentin<sup>4</sup>

### Introdução

O conhecimento das respostas das espécies vegetais ao seu ambiente, principalmente no caso de pastagens naturais, tem sido predominantemente restringido a estudos somente da parte aérea em função das dificuldades existentes para investigações do sistema radicular.

As raízes de plantas de sequeiro apresentam duas funções principais: ancoramento e absorção de água e íons. Elas podem também estabelecer relações de trocas com a rizosfera, ser colonizadas por organismos benéficos, como micorrizas e rizóbios, armazenar metabólitos, sintetizar reguladores de crescimento, servir de propágulo e dispersão (WAISEL et al., 2002). Desta maneira, os estudos sobre as raízes são fundamentais para a compreensão das relações de água e absorção de nutrientes pelas culturas.

Atualmente, há consenso sobre a importância de estudar as raízes com observações de campo direto para o manejo da cultura. Quando associada a fatores de solo e clima, a pesquisa sobre raízes é fundamental para otimizar as práticas de fertilização, tratamentos culturais, densidade de plantio, irrigação, culturas intercaladas, entre outros processos, como apontado por Zonta et al. (2006).

Os atributos do sistema radicular de plantas, com destaque para biomassa total, comprimento total e específico e área superficial específica, são

informações fundamentais para o entendimento dos processos de fixação ou ancoramento e aquisição de água e nutrientes pelas plantas. As espécies vegetais variam grandemente em relação a esses atributos, sendo eles afetados pelas estações do ano, pela aquisição de carbono pela parte aérea (condições ambientais), pela disponibilidade de água e nutrientes no solo e pelos distúrbios a que a planta é submetida (CORNELISSEN et al., 2003).

Segundo Cornelissen et al. (2003), as teorias baseadas principalmente em analogias com a parte aérea das plantas e em evidências empíricas observadas em plântulas cultivadas em experimentos em estufa e em limitados estudos a campo sugerem que espécies com elevado comprimento específico de raízes (CER) têm (a) taxas elevadas de alongação de raízes, (b) elevadas taxas de absorção de nutrientes e água, (c) rápida regeneração de raízes, (d) elevada taxa de crescimento relativo de plântulas e (e) menor associação com micorrizas. Além disso, as raízes finas têm como diferencial a vantagem de: (a) exercer grande força de penetração no solo, (b) suportar melhor a baixa umidade do solo e (c) ter maiores taxas de transporte interno de água na raiz, embora exijam mais metabólitos da planta para serem construídas e mantidas por unidade de comprimento.

Entre os métodos mais utilizados no Brasil, destacam-se os métodos para análise de raízes lavadas (blocos ou monólito e trado) e outros para

<sup>1</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr. (D.Sc.), Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, leandro.volk@cppsul.embrapa.br

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr. (D.Sc.), Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, jp.trindade@cppsul.embrapa.br

<sup>3</sup> Médico Veterinário, Dr. (D.Sc.), Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, mborba@cppsul.embrapa.br

<sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr. (D.Sc.), Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, gustavo.trentin@cppsul.embrapa.br

raízes em perfil de solo (trincheira ou parede do perfil e rhizotron) (BÖHM, 1979). Dentro dos métodos de raízes lavadas, autores afirmam não haver diferença entre as avaliações por monolitos e trado calador. Deste modo, o uso do trado calador passa a ser interessante pelo tempo e esforço envolvido, que é menor do que no caso do uso de monolitos (OTTO et al., 2009). Contudo, o uso de trado calador (principalmente o trado com abertura de 20 mm de diâmetro, também utilizado para a coleta de amostras de solo para avaliação da fertilidade química) é voltado especificamente para avaliação de atributos de raízes de culturas cultivadas na condição de monocultivo, não atendendo a necessidade de avaliações feitas nas condições de elevada diversidade de espécies vegetais, como encontrado nas pastagens naturais.

Sendo assim, o objetivo deste material é o de esclarecer e padronizar a metodologia utilizada para a determinação de biomassa, comprimento específico e área superficial específica de raízes de campo nativo no Laboratório de Estudos em Agroecologia e Recursos Naturais (LABECO) da Embrapa Pecuária Sul, por meio de uma adaptação do método do trado.

## Enumeração do Material Necessário para o Cumprimento do Protocolo

### No campo:

- amostrador de solo e raízes;
- marreta (½ kg);
- facão;
- escova de limpeza;
- canos de PVC cortados ao meio (no sentido longitudinal);
- filme plástico;
- caixa para transporte das amostras;
- etiquetas autoadesivas;
- planilha, papel e caneta.

### No laboratório:

- pia com mangueira de água;
- bacia plástica;
- placa de petri;
- peneira de 0,5 mm;
- balde plástico de 5L;
- régua;
- tesoura; potes plásticos de 300ml com tampa;
- pinça;

- papel toalha;
- balança semianalítica;
- estufa de ar forçado.

### No processamento de imagens:

- computador;
- escâner de mesa;
- régua ou material com área conhecida (recomenda-se o uso de uma régua de precisão utilizada para desenho técnico ou uma tira de papel colorido nas dimensões de 10 mm x 100 mm);
- programas: ImageJ, Paint e Safira.

O programa ImageJ é de domínio público e pode ser baixado do link . O programa Safira foi desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária, é gratuito e pode ser baixado no link . O programa Paint pertence ao pacote do programa do Windows e pode ser substituído por qualquer outro programa que permita a aquisição de imagens pelo escaner.

## Procedimento de Coleta das Amostras a Campo

Uma vez escolhido o local de amostragem, o amostrador, devidamente montado e limpo (Figura 1), deve ser posicionado na superfície do solo, tomando-se o cuidado para que ele esteja perpendicular à mesma. Com o auxílio da marreta, o amostrador deve ser enterrado até a profundidade desejada (tomando-se o cuidado para que o amostrador permaneça perpendicular à superfície do solo enquanto é enterrado). Também se deve atentar para a umidade do solo no momento da coleta, a qual deve estar o mais próximo possível da friabilidade (estado de umidade do solo em que ele se rompe nos pontos de fraqueza, com mínima destruição de sua estrutura). Isso porque estando o solo muito seco, o amostrador poderá sofrer danos devido ao excesso de esforço para que seja enterrado. E estando muito molhado a amostra pode sofrer compactação e danos durante sua retirada do solo, ou pela formação de pressão negativa, ou por ficar grudada nas paredes do amostrador. Se for coletada uma amostra com profundidade maior do que a desejada, o excesso pode ser removido com o uso do facão, antes da amostra ser acondicionada.

Após a amostra ser retirada do solo, o amostrador deve ser acomodado no chão e cuidadosamente

desmontado, de maneira a expor uma das metades da amostra. Nesse momento, uma metade de cano de PVC, previamente coberta com filme plástico, deve ser encaixada na metade descoberta da amostra e a outra metade pode ser descoberta (deve-se atentar para que nenhum pedaço de amostra fique grudado no amostrador). Após esse procedimento, toda a amostra deve ser enrolada em filme plástico e deve ser adicionada uma etiqueta autoadesiva para sua identificação no laboratório (Figura 2). As informações para a identificação devem também ser anotadas numa planilha para controle. Ao final, o amostrador deve ser limpo e remontado para a próxima amostragem.



Foto: Leandro Bochi da Silva Volk

**Figura 1.** Trado adaptado para coleta de amostras de solo para determinação de atributos de raízes.



Foto: Leandro Bochi da Silva Volk

**Figura 2.** Amostra de solo contendo raízes devidamente acondicionadas após a coleta.

## Tratamento das Amostras no Laboratório

Uma vez no laboratório, as amostras devem ser imediatamente processadas. Não sendo possível,

devem ser acondicionadas em geladeira por no máximo uma (1) semana.

Antes do processamento (Figura 3), a amostra deve ser cuidadosamente descondicionada do filme plástico que a envolve e, com auxílio de uma régua e faca, deve ser cortada em camadas de 5 cm de altura (gerando subamostras das profundidades de 0 a 5 cm, 5 a 10 cm, 10 a 15 cm e 15 a 20 cm), com o cuidado de não desboroar o solo (Figura 4). Após essa separação, atenção é dada ao cilindro que representa a camada de 0 a 5 cm, pois a parte aérea das plantas deve ser cortada (com tesoura ou estilete) e removida cuidadosamente. No caso de plantas rizomatosas, adotou-se o critério de retirar os rizomas também. De cada subamostra, com o auxílio de uma faca, uma subamostra deve ser retirada para posterior escaneamento das raízes. Sugere-se que essa nova subamostra seja de 1/8 da subamostra original (Figura 5).



Foto: Leandro Bochi da Silva Volk

**Figura 3.** Amostra retirada do cilindro amostrador e com as marcas a cada 5 cm para a separação das subamostras.



Foto: Leandro Bochi da Silva Volk

**Figura 4.** Cilindro de solo com 5 cm de altura proveniente da separação das subamostras.



Foto: Leandro Bochi da Silva Volk

**Figura 5.** Representação da retirada de 1/8 da amostra para o posterior escaneamento.

A nova subamostra (1/8) deve ser lavada com jato fraco de água, com o uso das mãos, de modo a, gentilmente, retirar todo o solo e deixar as raízes o mais limpas possível, sem que ocorra fragmentação delas durante a lavagem. Uma vez limpas, devem ser acondicionadas em placa de petri, devidamente identificada, com uma pouco de água (evitando o secamento das raízes) para o posterior escaneamento.

Uma vez preparadas as raízes para o escaneamento, o restante da subamostra (7/8) deve ser lavado sobre uma peneira dentro de uma bacia plástica ou balde plástico. Durante a lavagem das raízes, não se deve colocar o solo lavado direto dentro da pia, uma vez que o seu excesso, oriundo das amostragens feitas, causará o entupimento da tubulação de saída de água. O solo lavado deve ser devidamente descartado ao ar livre, em local apropriado. Uma vez limpas as raízes de cada subamostra, elas devem ser acondicionadas em potes (devidamente identificados) para secar em estufa até atingir peso constante, a 65°C, e após, cada subamostra deve ter seu peso anotado.

## Tratamento das Amostras para Escaneamento

Para o escaneamento, as raízes da subamostra devem ser secas com papel toalha e posicionadas sobre o escâner distantes uma das outras, evitando a sobreposição. Em relação ao contraste feito pelo fundo do escâner, se for possível a separação a

olho nu, pode-se adotar o seguinte critério para o escaneamento mais eficiente: raízes de cor escura devem estar sobre um fundo branco e raízes claras sobre um fundo preto. É importante lembrar de colocar uma régua ou um material com tamanho conhecido para ser escaneado junto, utilizado-se posteriormente como referência durante o processamento das imagens.

O escaneamento deve ser feito para imagens coloridas e com resolução de no mínimo 300 dpi. A imagem gerada deve ser salva preferencialmente em “.jpg” para o uso no programa Safira. Deve se atentar para a qualidade final da imagem escaneada (Figura 6), pois ela interferirá diretamente no trabalho de processamento.



Foto: Leandro Bochi da Silva Volk

**Figura 6.** Exemplos de imagens originais (A e B) e depois do processamento (C e D).

De posse da imagem, ela deve ser aberta no programa ImageJ, para início do processamento. O primeiro passo é clicar em “Image” – “Type” e escolher “8-bit”, que vai transformar a imagem em escala de tons de cinza. Isso feito, deve-se tomar o cuidado de transformar o fundo da imagem em cor clara. Se a imagem foi tomada com um fundo branco, não é necessário fazer nada, por outro lado, se a imagem foi tomada com um fundo preto, é necessário clicar em “Edit” e escolher “Invert”. Após esse procedimento as imagens vão ficar com o fundo claro. Clica-se novamente em “Image” e, após, no item “Adjust” para escolher qual procedimento mais se adequa a melhorar o contraste da imagem. Por fim, a imagem deve ser novamente salva em formato “.jpg”. Sugere-se que a imagem original e a ajustada sejam salvas com nomes diferentes para que a original possa ser novamente analisada, caso haja necessidade no futuro.

Estando a imagem com qualidade boa, é necessário o uso do programa Safira (JORGE; RODRIGUES, 2008; JORGE; SILVA, 2010) para o seu processamento. O programa Safira é um software desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária de uso e funcionamento muito simples. Para seu uso, recomenda-se a leitura do manual do software (JORGE; SILVA, 2010), que pode ser baixado livremente do mesmo site em que o software é baixado.

## Referências

- BÖHM, W. **Methods of studying root systems**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. 188 p.
- CORNELISSEN, J. H.; LAVOREL, C. S.; GARNIER, E.; DÍAZ, S.; BUCHMANN, N.; GURVICH, D. E.; REICH, P. B.; STEEGE, H. TER; MORGAN, H. D.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; PAUSAS, J. G.; POORTER, H. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 51, n. 4, p. 335–380, 2003.
- EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA. **Safira**. São Carlos, SP, 2009. Disponível em: <<http://www.cnpdia.embrapa.br/labimagem/safira.html>>. Acesso em: 29 dez. 2011.
- IMAGEJ: image processing and analysis in Java. Disponível em: <<http://rsbweb.nih.gov/ij/>>. Acesso em: 29 dez. 2011.
- JORGE, L. A. C.; RODRIGUES, A. F. O. **Safira**: sistema de análise de fibras e raízes. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2008. 20 p.
- JORGE, L. A. C.; SILVA, D. J. C. B. **Safira**: manual de utilização. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2010. 29 p.
- OTTO, R.; TRIVELIN, P. C. O.; FRANCO, H. C. J.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C. Root system distribution of sugar cane as related to nitrogen fertilization, evaluated by two methods: monolith and probes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 601-611, mar./jun. 2009.
- WASEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (Ed.). **Plant roots: the hidden half**. New York: M. Dekker, 2002. 1120 p.
- ZONTA, E.; BRASIL, F. C.; GOI, S. R.; ROSA, M. M. T. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral das plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 7-52.

### Comunicado Técnico, 82

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Pecuária Sul**  
 Endereço: BR 153, km 603, Caixa Postal 242,  
 96401-970 - Bagé, RS  
 Fone: (53) 3240.4650  
 Fax: (53) 3240.4651  
 e-mail: sac@cppsul.embrapa.br

1ª edição on line



### Comitê de Publicações

**Presidente:** Renata Wolf Suñé  
**Secretária-Executiva:** Graciela Olivella Oliveira  
**Membros:** Claudia Cristina Gúlias Gomes, Daniel Portella Montardo, Estefanía Damboriarena, Graciela Olivella Oliveira, Jorge Luiz Sant'Anna dos Santos, Naylor Bastiani Perez, Renata Wolf Suñé, Roberto Cimiro Alves, Viviane de Bem e Canto.

### Expediente

**Supervisão editorial:** Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul  
**Revisão de texto:** Comitê Local de Publicações - Embrapa Pecuária Sul  
**Editoração eletrônica:** Roberto Cimiro Alves