

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE SEMENTES DE FEIJÃO INOCULADAS COM *Rhizoctonia solani*

**Delineide Pereira Gomes¹, Gessimar Nunes Camelo¹, Paula M. Sano Manabe¹
Jaime Maia dos Santos², Rita de Cassia Panizzi²**

¹UFV, Departamento de Fitotecnia. Av. P.H Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, MG E-mail: agroneide@hotmail.com
²FCAV/UNESP, Departamento de Produção Fitossanidade Via de Acesso Donato Castelane s/n, 14884-900, SP, Jaboticabal, Brasil.

Resumo - O objetivo do trabalho foi obter eletromicrografias de varredura de sementes de feijão inoculadas com *Rhizoctonia solani* em diferentes períodos de contato com a colônia fungica. Sementes de feijão foram postas em contato com colônias de *Rhizoctonia solani* pelos seguintes tempos de inoculação artificial: 0, 8, 16, 24 e 32 horas. Seguiu-se, ao tratamento de sementes com tetróxido de ózio e soluções de acetona 30, 50, 70, 90, 95, 100, 100, 100, 100 %, mudando-se gradualmente de uma solução para outra depois de 30 min. Após isso, procedeu-se ao dessecamento das amostras e metalização com ouro. Em seguida, levou-se as amostras ao microscópio eletrônico de varredura para a tiragem das eletromicrografias dos espécimes. Através das eletromicrografias, visualizou-se as hifas de *Rhizoctonia solani* colonizando sementes de feijão já com 16 horas de contato com a colônia. Foi observado, também, detalhes do ângulo de 90° das hifas do fungo no interior da semente. O período de 32 h foi suficiente para uma melhor visualização do processo de penetração das hifas de *Rhizoctonia solani* no interior das sementes de feijoeiro.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, eletromicrografia, fungos

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

O Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV se tornou uma ferramenta indispensável na pesquisa de ponta e na análise de rotina tanto na ciência quanto na indústria, dentre as inúmeras aplicações dos MEV's podemos citar a nanotecnologia, análises de falhas, patologia, botânica, ciências forenses, metalurgia, controle ambiental, etc (FUGIWARA, 2007). Os MEVs apareceram no mercado, pela primeira vez, em 1965, e desde então se tem revelado indispensáveis em muitos tipos de pesquisa biológica, contribuindo para a classificação e taxonomia de insetos e fungos, estudo da morfologia de polens e em pesquisas de superfícies de diversas estruturas de plantas e animais (GALETT, 2003).

O objetivo do trabalho foi obter eletromicrografias de varredura de sementes de feijão inoculadas com *Rhizoctonia solani* em diferentes períodos de contato com a colônia fungica.

Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microscopia Eletronica de Varredura, pertencente a Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, SP.

Inicialmente, sementes de feijão foram colocadas em contato com *Rhizoctonia solani* pelos seguintes tempos de inoculação artificial: 0, 8, 16, 24 e 32 horas. Após os tempos de inoculação artificial, procedeu-se a emersão das sementes na solução tamponada de glutaldeído por 72 horas, para cada tratamento (tempo de inoculação artificial de cada espécie com as colônias fúngicas). Seguiu-se ao tratamento de sementes com tetróxido de ózio, manipulando-se o produto em capela com exaustor, deixando este em contato com as sementes por 24 horas. Em seguida, colocou-se as sementes em contato com as soluções de acetona 30, 50, 70, 90, 95, 100, 100, 100, 100 %; mudando-se gradualmente de uma solução para outra depois de 30 minutos. Após esses processos, procedeu-se ao dessecamento das amostras (10 vidrinhos no total) em aparelho dessecador a base de acetona e

CO₂, a fim de que não atuassem forças de tensão superficial sobre os espécimes. Após a secagem levou-se as amostras ao microscópio eletrônico de

varredura para a tiragem das eletromicrografias dos espécimes (sementes inoculadas).

Resultados

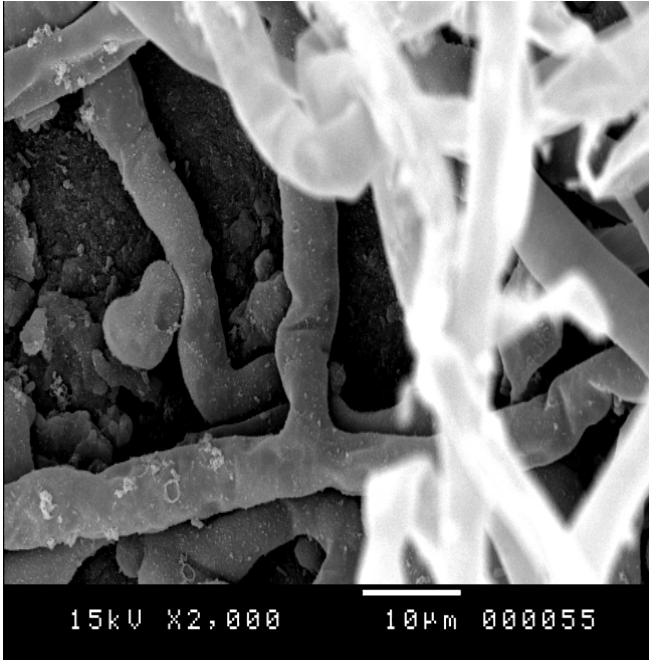


Figura 1. Detalhe dos ângulos de 90° de hifas de *Rhizoctonia solani* penetrando em sementes de feijão.

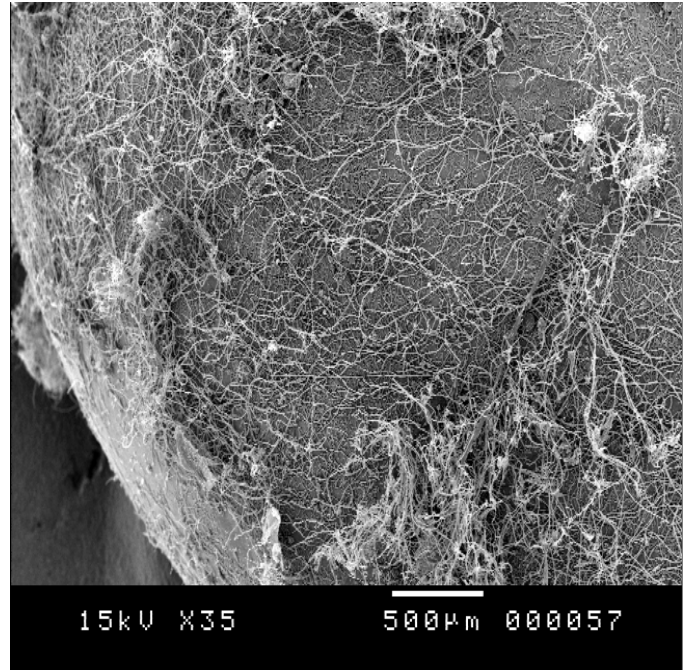


Figura 2. Hifas de *Rhizoctonia solani* colonizando sementes de feijão após 32 horas de contato com a colônia.

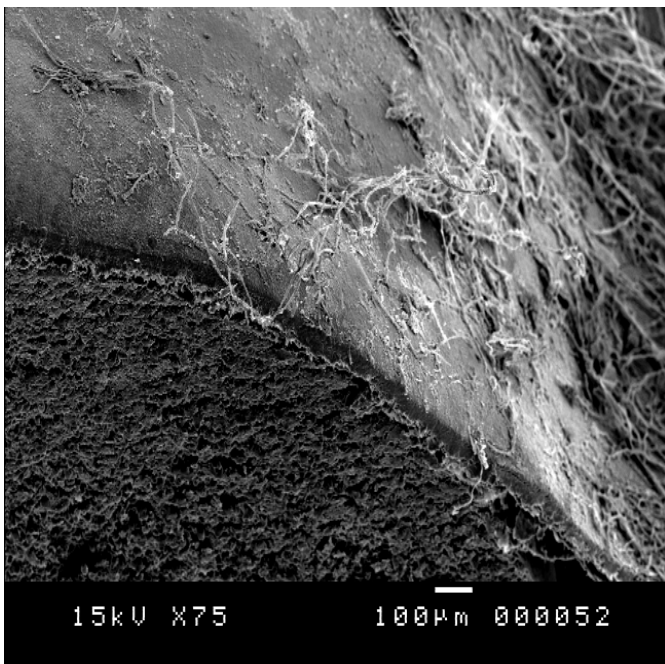


Figura 3. Hifas de *Rhizoctonia solani* colonizando a superfície de sementes de feijão após 24 horas de contato com a colônia.

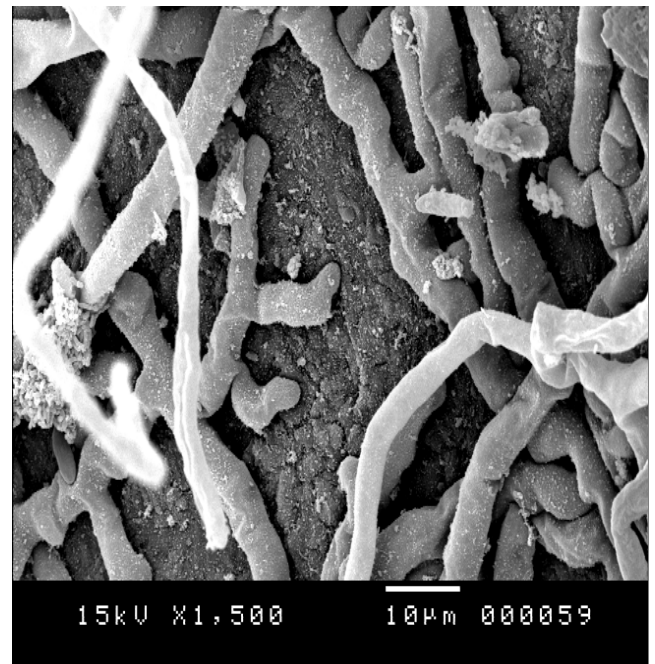


Figura 4. Hifas de *Rhizoctonia solani* penetrando em sementes de feijão após 32 horas de contato com a colônia.

Pela Figura 1, observa-se detalhe do ângulo de 90° formado pelas hifas de *Rhizoctonia solani*, as quais se encontram penetrando no interior das sementes de feijão, característica essencial na identificação do fungo.

Uma melhor colonização do fungo pode ser observada a partir das 24 h (Figura 3) de inoculação, com penetração visível por meio de eletromicrografia a partir de 32 h de contato da semente com o patógeno (Figura 4).

Discussão

Sabe-se, que semente está infectada, quando as estruturas do patógeno estão localizadas no interior de seus tecidos. Em sementes de feijão, tais características morfológicas não conferem proteção eficiente, pois, de acordo com Menten & Bueno (1987), a infecção do embrião, e em particular, dos volumosos cotilédones de leguminosas, por fungos e bactérias é notavelmente comum e a prevalência de sementes infectadas desta espécie pode ser relacionada com a predominância do embrião na semente, ou seja, como o eixo embrionário toma grande parte no espaço interior da semente, esse está bastante propenso à invasão por microrganismos. Em geral, estruturas externas protetoras ao eixo embrionário, considerando o tamanho do embrião e do endosperma e a forma e posição do primeiro, são relevantes em relação à infecção da semente.

Conclusão

O período de 32 h foi suficiente para uma melhor visualização do processo de penetração das hifas de *Rhizoctonia solani* no interior das sementes de feijoeiro.

Referências

GALLET, S.R. Introdução a microscopia eletrônica. **Biológico**, São Paulo, v.65, n1/2, p.33-35. 2003.

FUGIWARA. **Microscopia eletrônica de varredura**. Disponível em: <http://www.fugiwara.com.br/pro/index.htm>. Acesso em: 03. dez. 2007.

MENTEN, J. O. M.; BUENO, J. T. Transmissão de patógenos pelas sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. Cap. 18, p. 164-191.