

## MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM OLEO DE NIM E INOCULADAS COM *Fusarium verticillioides*

**Gessimar Nunes Camelo<sup>1</sup>, Delineide Pereira Gomes<sup>1</sup>, Paula M. Sano Manabe<sup>1</sup>  
Jaime Maia dos Santos<sup>2</sup>, Rita de Cassia Panizzi<sup>2</sup>**

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

**Resumo** - Atualmente, técnicas de microscopia são usadas na detecção de patógenos em certos hospedeiros, podendo ser utilizadas também para a avaliação dos danos causados e a eficiência de determinados métodos de controle. O objetivo do trabalho foi obter eletromicrografias de varredura de sementes de milho tratadas com óleo de nim e inoculadas com *Fusarium verticillioides* em diferentes períodos de contato com a colônia fungica. Inicialmente, sementes de milho foram emersas em suspensões de óleo de nim por 10 minutos. Após a secagem do óleo, as sementes foram postas em contato com colônias de *Fusarium verticillioides* 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 *Fusarium verticillioides* colonizando as sementes, mesmo após o tratamento com o óleo de nim. Observou-se detalhes das hifas do fungo sobre a superfície, e também, colonizando a parte superior da camada negra das sementes de milho (área de ligação com o sabugo). Não foi observado vestígios do produto nas sementes para todos os períodos de contato com o fungo. O tratamento com óleo de nim, com base nas eletromicrografias, reduz a penetração de *Fusarium verticillioides* no interior das sementes de milho, mas não impede a colonização do patógeno na superfície das sementes a partir de 24 h de contato com o fungo.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, *Azadirachta indica*, eletromicrografia, fungos

**Área do Conhecimento:** Ciências Agrárias

### Introdução

Os microscópios eletrônicos de varredura (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 (GALETTI, 2003).

O MEV pode ser uma importante ferramenta na detecção de patógenos, bem como na visualização de suas características morfológicas, e também, na avaliação de alguns tratamentos em sementes, como a termoterapia (SILVA et al., 2002), entre outros métodos de controle, para a determinação de sua eficiência.

O objetivo do trabalho foi obter eletromicrografias de varredura de sementes de

milho tratadas com óleo de nim e 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.

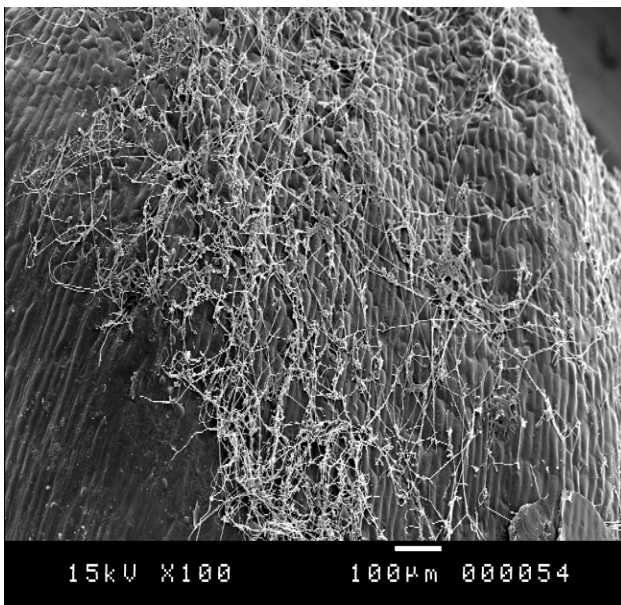
Inicialmente, para o tratamento das sementes de milho, preparou-se uma suspensão de óleo de nim. Emergiu-se as mesmas nesta suspensão por 10 minutos, e após esse tempo, esperou-se a secagem das sementes em ambiente de laboratório. Amostras dessas sementes tratadas foram colocadas em contato com *Rhizoctonia 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.

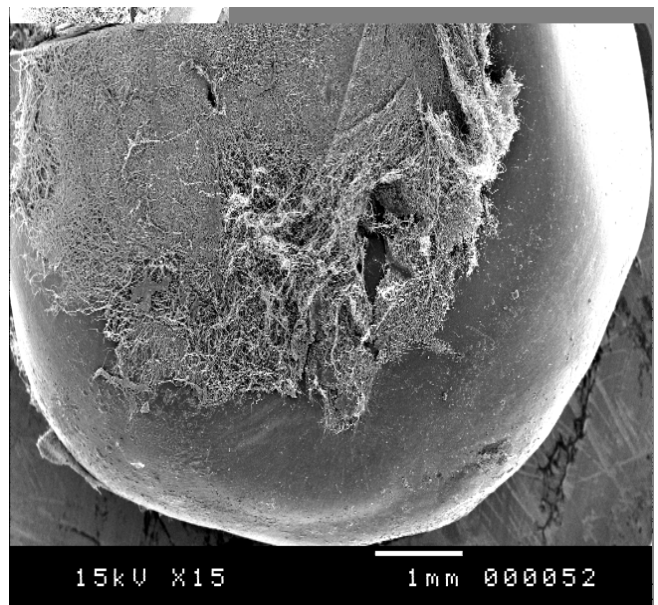
Em seguida, colocou-se as sementes em contato com as soluções de acetona 30, 50, 70, 90, 95, 100, 100, 100, 100 %; mudando-se

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 CO<sub>2</sub>, 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.

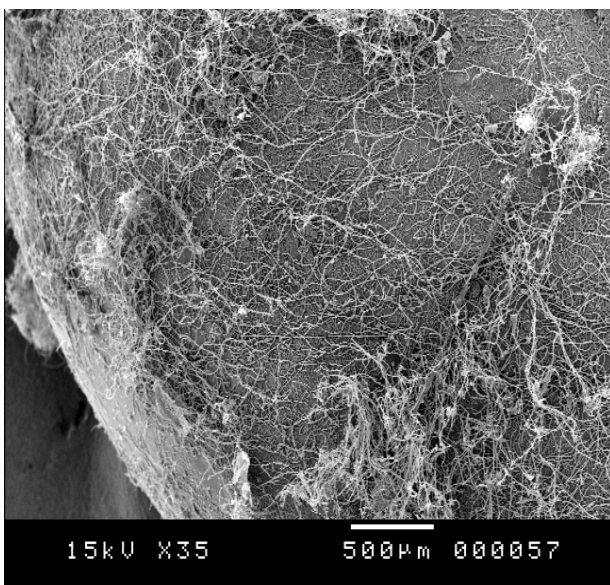
## Resultados



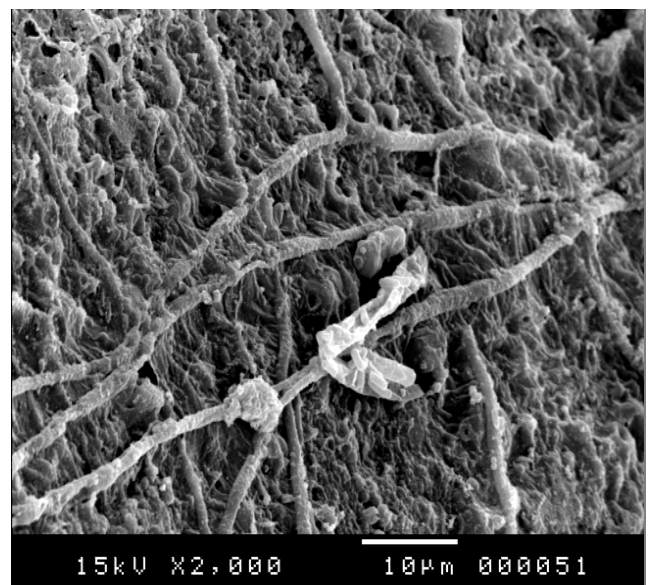
**Figura 1.** Detalhe das hifas de *Fusarium verticillioides* colonizando a superfície de sementes de milho tratadas com óleo de nim.



**Figura 2.** Colonização de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho tratadas superficialmente com óleo de nim, após 24 horas de contato com a colônia fúngica.



**Figura 3.** Colonização de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho tratadas superficialmente com óleo de nim, após 32 horas de contato com a colônia fúngica.



**Figura 4.** Detalhe das hifas de *Fusarium verticillioides* colonizando a superfície de sementes de milho tratadas com óleo de nim, após 32 h de contato com a colônia fúngica.



Foram observados, detalhes das hifas do fungo sobre a superfície da semente de milho, e também, colonizando a parte superior da camada negra das sementes (área de ligação com o sabugo) (Figura 1). Uma colonização mais visível do fungo pôde ser observada a partir das 24 h (Figura 2) de contato das sementes com *Fusarium verticillioides*, mas não foi constatada, uma penetração visível, por meio das eletromicrografias, provavelmente devido ao tratamento com óleo de nim. Não foi observado vestígios do produto nas sementes para todos os períodos de contato com o fungo.

### Discussão

Em geral, verificou-se que o fungo se encontrou restrito à superfície externa do pericarpo, não ocorrendo penetração no endosperma da semente. O tratamento das sementes com óleo de nim pode ter conferido certa proteção às sementes de milho, a qual pôde ser observada através da ausência de penetração do fungo no interior das mesmas em todos os períodos de exposição dessas ao patógeno, o que foi demonstrado por meio das eletromicrografias. A busca por produtos naturais deve ser intensificada e mais estudos devem ser realizados, a fim de ter uma perspectiva favorável da eficiência de produtos naturais no controle de patógenos (FELISMINO, 1998).

### Conclusão

O tratamento com óleo de nim, com base nas eletromicrografias, reduz a penetração de *Fusarium verticillioides* no interior das sementes de milho, mas não impede a colonização do patógeno na superfície das sementes a partir de 24 h de contato com o fungo.

### Referências

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

FELISMINO, D. de C. **Eficiência relativa de produtos químicos e naturais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das semente de feijão *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris* acondicionadas em dois tipos de embalagens em ambiente não controlado.** Areia-PB: 1998. 51f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SILVA, A. M. S.; CARMO, M.G.F.; OLIVEIRA, F.L.; PEREIRA, A. J. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de tomate: eficiência na erradicação de *Xanthomonas campestris* PV. Vesicatoria e efeitos sobre a semente. **Fitopatologia brasileira**, v.27, n.6, 2002.