

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE SEMENTES DE FEIJÃO TRATADAS COM OLEO DE NIM E INOCULADAS COM *Rhizoctonia solani*

**Gessimar Nunes Camelo¹, Delineide Pereira Gomes¹, Elizabeth Rosimeire Marques¹,
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 - Técnicas de microscopia são eficientes 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 feijão tratadas com óleo de nim e inoculadas com *Rhizoctonia solani* em diferentes períodos de contato com a colônia fungica. Inicialmente, sementes de feijão 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 *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, mesmo após o tratamento com o óleo de nim, visualizou-se as hifas de *Rhizoctonia solani* colonizando as sementes. Observou-se, ainda, vestígios do produto após 24 horas de contato com a colônia. Com base nas eletromicrografias, constata-se que o tratamento com o óleo de nim não foi eficaz na redução do inóculo nas sementes de feijão a partir de 16 horas de contato das sementes com *Rhizoctonia solani*, apesar de ter tornado lenta a colonização e a penetração do fungo no interior das mesmas.

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

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

Os microscópios eletrônicos de varredura (MEV) 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 (GALLET, 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 feijão 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 Eletrônica de Varredura, pertencente a Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, SP.

Inicialmente, para o tratamento das sementes de feijão, 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 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

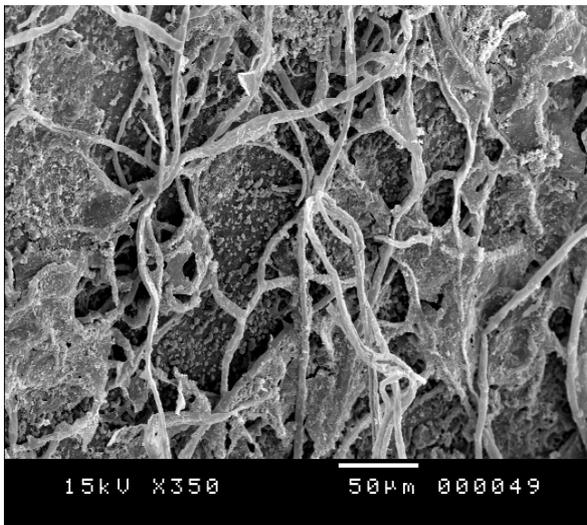


Figura 1. Hifas de *Rhizoctonia solani* próximas ao tegumento de sementes de feijão com vestígios de óleo de nim, após 16 horas de contato com a colônia fúngica.

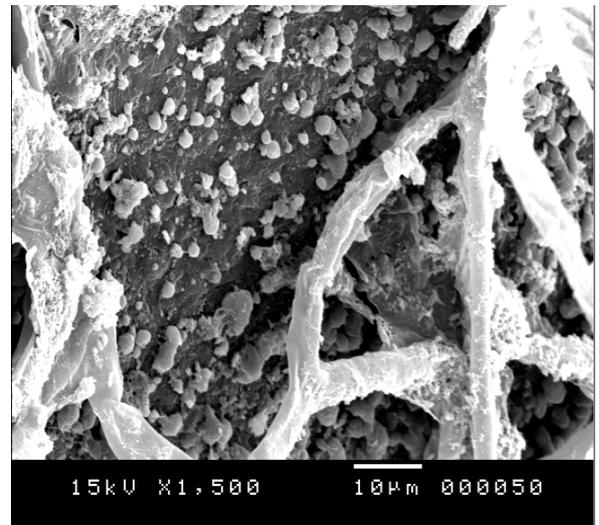


Figura 2. Detalhe de hifas de *Rhizoctonia solani* próximas ao tegumento de sementes de feijão com vestígios de óleo de nim.

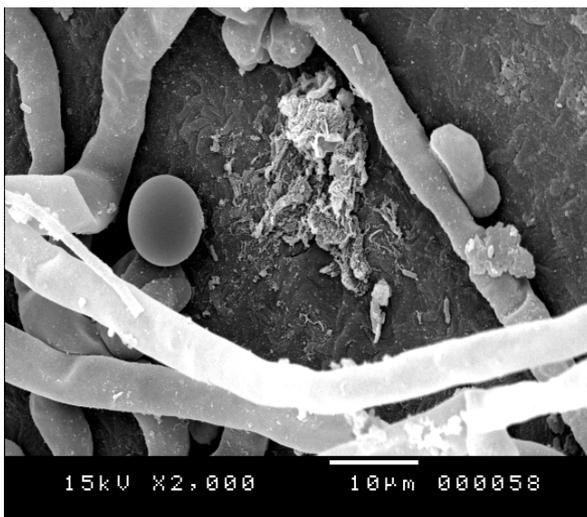


Figura 3. Hifas de *Rhizoctonia solani* próximas ao tegumento de sementes de feijão com vestígios de óleo de nim, após 24 horas de contato com a colônia fúngica.

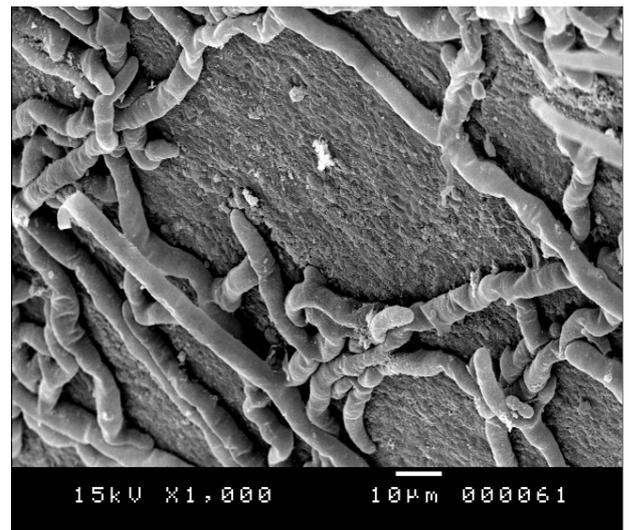


Figura 4. Hifas de *Rhizoctonia solani* em processo de penetração em sementes de feijão tratadas com óleo de nim, após 24 horas de contato com a colônia fúngica.

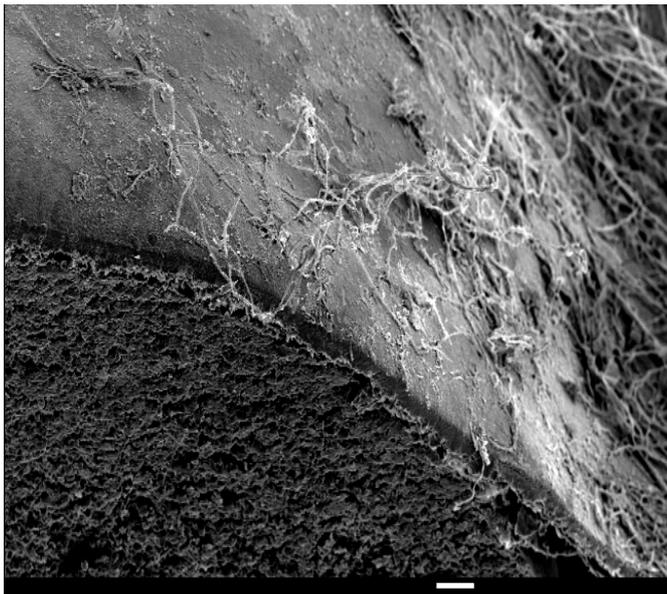


Figura 5. Hifas de *Rhizoctonia solani* colonizando a superfície de sementes de feijão sem tratamento com óleo de nim, após 24 horas de contato com a colônia.

Observa-se, pela Figura 1, que houve a colonização das sementes de feijão com as hifas de *Rhizoctonia solani* já após 16 horas de contato com o fungo, mesmo tratadas com o óleo de nim. Verificou-se, ainda, vestígios do produto após 24 horas de inoculação (Figuras 2 e 3). Após as 24 h de contato com o patógeno, houve o início do processo de penetração no interior das sementes de feijão tratadas com o produto (Figura 4).

Discussão

Em geral, foi observado, que o fungo se encontrou restrito à superfície externa do pericarpo, ocorrendo penetração lenta no eixo embrionário, apesar da colonização já ter havido iniciado após as 16 h de contato das sementes com *Rhizoctonia solani*. Mesmo assim, o tratamento das sementes com óleo de nim pode ter conferido certa proteção às sementes de feijão, a qual pôde ser observada através da lenta colonização e penetração do fungo no interior das sementes, 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

Com base nas eletromicrografias, constata-se que o tratamento com o óleo de nim não foi eficaz na redução do inóculo nas sementes de feijão a partir de 16 horas de contato das sementes com *Rhizoctonia solani*, apesar de ter tornado lenta a colonização e a penetração do fungo no interior das mesmas.

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.