

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE SEMENTES DE MILHO INOCULADAS COM *Fusarium verticillioides*

**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 a tiragem eletromicrografias de varredura de sementes de milho inoculadas com *Fusarium verticillioides* em diferentes períodos de contato com a colônia fungica. Sementes de milho 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. Foi observado detalhes das hifas do fungo sobre a superfície, e colonizando a parte superior da camada negra das sementes de milho (área de ligação com o sabugo) após 24 horas de contato com a colônia. O período de 32 h foi o tempo em que melhor se observou a penetração das hifas no interior da semente.

Palavras-chave: *Zea mays*, 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 milho inoculadas com *Fusarium verticillioides* 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 milho 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

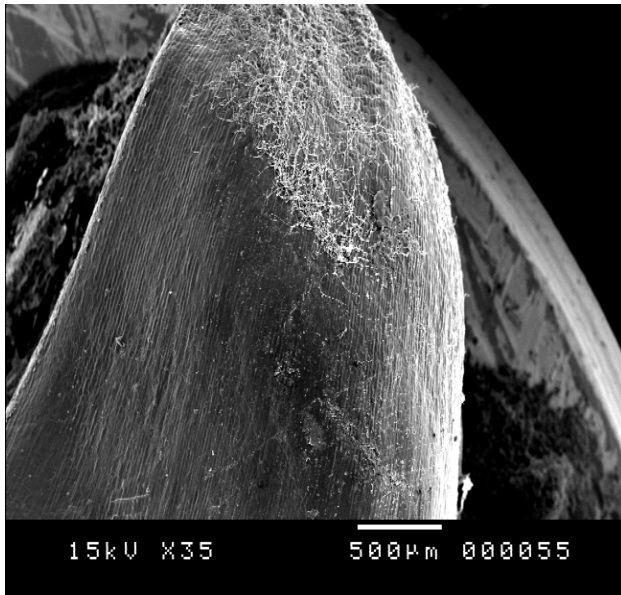


Figura 1. Hifas de *Fusarium moniliforme* colonizando a parte superior da camada negra de sementes de milho (área de ligação com o sabugo) após 24 horas de contato com a colônia.

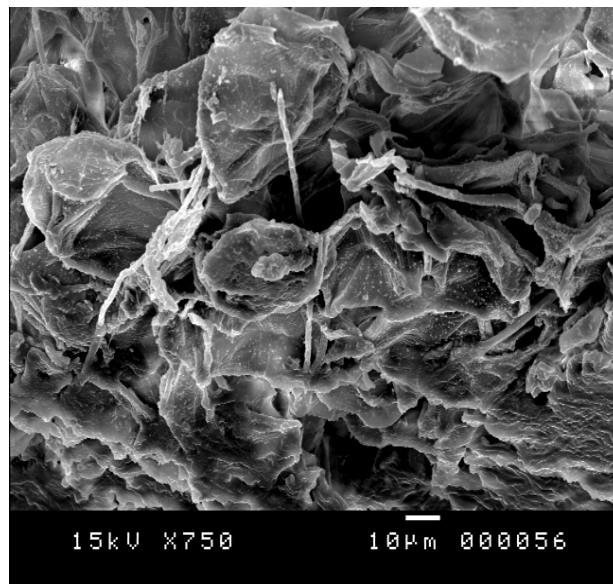


Figura 2. Detalhe de hifas de *Fusarium moniliforme* penetrando em sementes de milho após 24 horas de contato com a colônia.

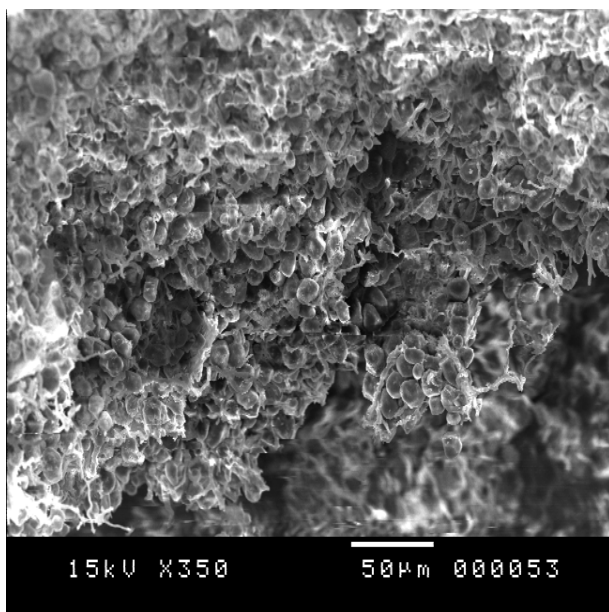


Figura 3. Região interna de sementes de milho sem penetração por *Fusarium moniliforme* após 24 horas de contato com a colônia.

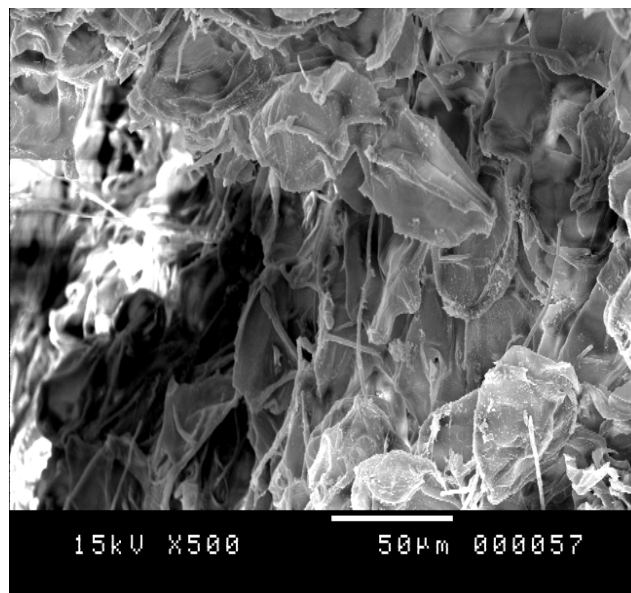


Figura 4. Hifas de *Fusarium moniliforme* penetrando em sementes de milho após 32 horas de contato com a colônia.

Foi observado, que as hifas do fungo colonizaram a parte superior da camada negra das sementes de milho (área de ligação com o sabugo) após 24 h de contato com a colônia fúngica (Figura 1).

Uma colonização mais visível do fungo pôde ser observada a partir das 24 h (Figura 2) de inoculação, com penetração visível por meio de eletromicrografia a partir de 32 h de contato da semente com o fungo (Figura 4).

Discussão

Em poáceas (gramíneas), como o milho por exemplo, é sabido que o embrião é pequeno e toma um curto espaço, limitando, assim, as chances de uma infecção fúngica. De acordo com as eletromicrografias, em geral, o fungo se encontrou mais restrito à superfície externa do pericarpo, ocorrendo pouca penetração no endosperma.

Considera-se, que a semente está infectada, quando as estruturas do patógeno estão localizadas no interior de seus tecidos. Assim, estruturas externas protetoras ao eixo embrionário, considerando o tamanho do embrião e do endosperma e a forma e posição do primeiro, são bastante relevantes em relação à infecção da semente.

Conclusão

O período de 32 h foi o tempo em que melhor se observou a penetração das hifas no interior das sementes de milho.

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.