

Amostragem, fixação e secagem de hastes florais para microscopia eletrônica de varredura

*Poliana Cristina Spricigo*¹

*Jéssica Prada Trento*²

*Joana Dias Bresolin*³

*Viviane Faria Soares*³

*Luiz Francisco de Mattêo Ferraz*³

*Marcos David Ferreira*⁴

¹Aluna de doutorado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos - UFSCar; São Carlos – SP. e-mail: polianaspricigo@yahoo.com.br.

²Aluna de graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar; São Carlos – SP. e-mail: jessica.trento@yahoo.com.br.

³Analista, Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP. E-mail: joana.bresolin@embrapa.br; viviane.soares@embrapa.br; luiz.matteo@embrapa.br.

⁴Pesquisador, Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP. E-mail: marcos.david@embrapa.br.

A microscopia eletrônica de varredura é uma ferramenta importante que permite a investigação e visualização de amostras biológicas para diversos estudos, como na área de pós-colheita. A observação da morfologia vegetal e da proliferação de microrganismos auxilia no direcionamento de pesquisas e pode comprovar a eficácia de tecnologias. Em flores de corte é comum a diminuição da longevidade da haste decorrente de desidratação, causada pela diminuição de absorção de água por bloqueio nos vasos condutores. A obstrução dos vasos xilemáticos ocorre por embolia, por produção de metabólitos e por crescimento microbiano. A observação do xilema da haste floral é ponto chave no desenvolvimento de novos produtos que visam o prolongamento da vida de vaso. O objetivo deste trabalho foi avaliar formas de preparação de amostras de hastes de gérberas para a visualização em microscopia eletrônica de varredura (MEV) para estudos em pós-colheita. Para isso foram testados procedimentos para a amostragem, fixação e secagem. A amostragem foi realizada com a utilização de lâminas e por fratura após congelamento em nitrogênio líquido. A fixação foi feita com paraformaldeído 2% e glutaraldeído 2,5% em solução-tampão de cacodilato 0,05 mol/L e CaCl 0,001 mol/L pH 7,2, sem a utilização de tetróxido de ósmio, composto frequentemente utilizado em preparação de amostras para MEV, agente fixador e contrastante, altamente tóxico. Para a secagem foram testados quatro métodos: sílica em dessecador, por liofilização, hexadimetil disilazona (HMDS) e em ponto crítico de CO₂. Para a amostragem foi verificado que para hastes de gérberas os dois métodos são satisfatórios, porém o congelamento em nitrogênio líquido preserva mais a conformação das células. A fixação sem a utilização de tetróxido de ósmio foi eficiente e não prejudicou o contraste das imagens durante a visualização, mostrando que nestas hastes o seu uso é dispensável. Na secagem os melhores resultados foram observados nas amostras preparadas por liofilização e em ponto crítico de CO₂. Na liofilização houve boa preservação estrutural das células, enquanto que somente em ponto crítico de CO₂ foi possível a visualização de microrganismos como fungos e bactérias que colonizavam as amostras. Desta forma, conclui-se que para hastes de gérberas a amostragem pode ser feita por lâminas ou criofratura, não é necessária a utilização do tetróxido de ósmio durante a fixação e a secagem pode ser realizada por liofilização ou ponto crítico de CO₂, dependendo do objetivo do estudo.

Palavras-chave: HMDS, liofilização, ponto crítico de CO₂, tetróxido de ósmio.

Apoio financeiro: CAPES / Nanobiotec.

Área: Pós-colheita e Qualidade de Produtos Agropecuários.