

MÉTODO DE ANÁLISE QUANTITATIVA EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

METHOD OF QUANTITATIVE ANALYSIS IN ELECTRONIC MICROSCOPY OF SWEEPINGS (MEV)

Adalgisa da Silva Alvarez⁽¹⁾ e Rolf Júnior Ferreira Silva⁽²⁾ Raimunda C. de Vilhena Potiguara⁽³⁾

⁽¹⁾Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica, Avenida Perimetral, s/nº., Caixa Postal 399, CEP 66077-530 Belém, PA.

E-mail: adalgisa_alvarez@yahoo.com.br

⁽²⁾Museu Paraense Emílio Goeldi, Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura, Avenida Perimetral, s/nº., Caixa Postal 399, CEP 66077-530 Belém, PA.

E-mail: rolfjr@hotmail.com

⁽³⁾Museu Paraense Emílio Goeldi, Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura, Avenida Perimetral, s/nº., Caixa Postal 399, CEP 66077-530 Belém, PA.

E-mail: raipoty@museu-goeldi.br

ABSTRACT: *Currently, the scanning electron microscopy is used in traditional form, such as more efficient and faster method microscope, a scanning electron microscopy (SEM), may also be indicated as an alternative to estimate biological structures in a quantitative analysis.*

Kew-words: *method, analysis, microscope.*

RESUMO: *Atualmente, a microscopia eletrônica de varredura é utilizada de forma tradicional, como mais eficiente e mais rápido método microscópico. A microscopia eletrônica de varredura (MEV), pode ser indicada também como uma alternativa para estimar estruturas biológicas em uma análise quantitativa.*

Palavras-chave: *método, análise, microscópio.*

Introdução

O microscópio óptico vem sendo utilizado há bastante tempo como a única ferramenta capacitada para quantificar e mensurar estruturas superficiais e/ou internas, a exemplo das células animais e vegetais, apêndices epidérmicos, estruturas secretoras, idioblastos, feixes vasculares e fibrosos, elementos de vaso, parênquima clorofiliano e substâncias ergásticas. Atualmente, trabalha-se com limite de prazo dentro das áreas de pesquisa, havendo necessidade de métodos analíticos mais precisos e rápidos frente à quantidade de dados a serem analisados e disponibilizados.

O presente estudo tem por objetivo propor um novo método de análise quantitativa em microscopia eletrônica de varredura (MEV), para determinar áreas e estruturas de origens diversificadas, auxiliando estudos de anatomia ecológica, fisiologia, ecofisiologia, produção agro-florestal e de áreas afins, a exemplo da farmacognosia e fitoquímica.

O uso do método de análise quantitativa em microscópio eletrônico de varredura requer menos tempo, confere maior precisão na estimativa e/ou medições biológicas e praticidade nas análises com o armazenamento de informações em CDs e envio de grande quantidade de amostras para banco de imagens das instituições de pesquisa.

Material e método

Para o exame em microscópio eletrônico de varredura, o material deve estar desidratado e seco. A desidratação pode ser feita em série alcoólica crescente de Johansen (1940), em estufa ou entre lâminas histológicas postas ao ar livre, ou sob uma fonte de luz. Nestes dois últimos métodos, assim como em material herborizado, o processamento das amostras em secador de ponto crítico é desnecessário.

As amostras podem ser montadas em suportes metálicos (stubs) ou em lâmina histológica. Os protocolos de Bozzola & Russell (1992) foram os mais adequados para a observação de material biológico em microscópio eletrônico de varredura.

Para demonstrar a aplicação da técnica aqui empregada, foram utilizados fragmentos foliares de *Mangifera indica* L., estes foram desidratados, processados em secador de ponto crítico de CO₂, montados em suportes metálicos (stubs) e metalizados com camada de ouro de aproximadamente 20 nm de espessura em corrente de 25 mA.

As análises e obtenção das imagens (eletromicrografias) foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Leo modelo 1450 VP, equipado com detector de elétrons secundários e retroespalhados (para alto e baixo vácuo) e de sistema de espectroscopia de raios X por dispersão de energia para microanálises.

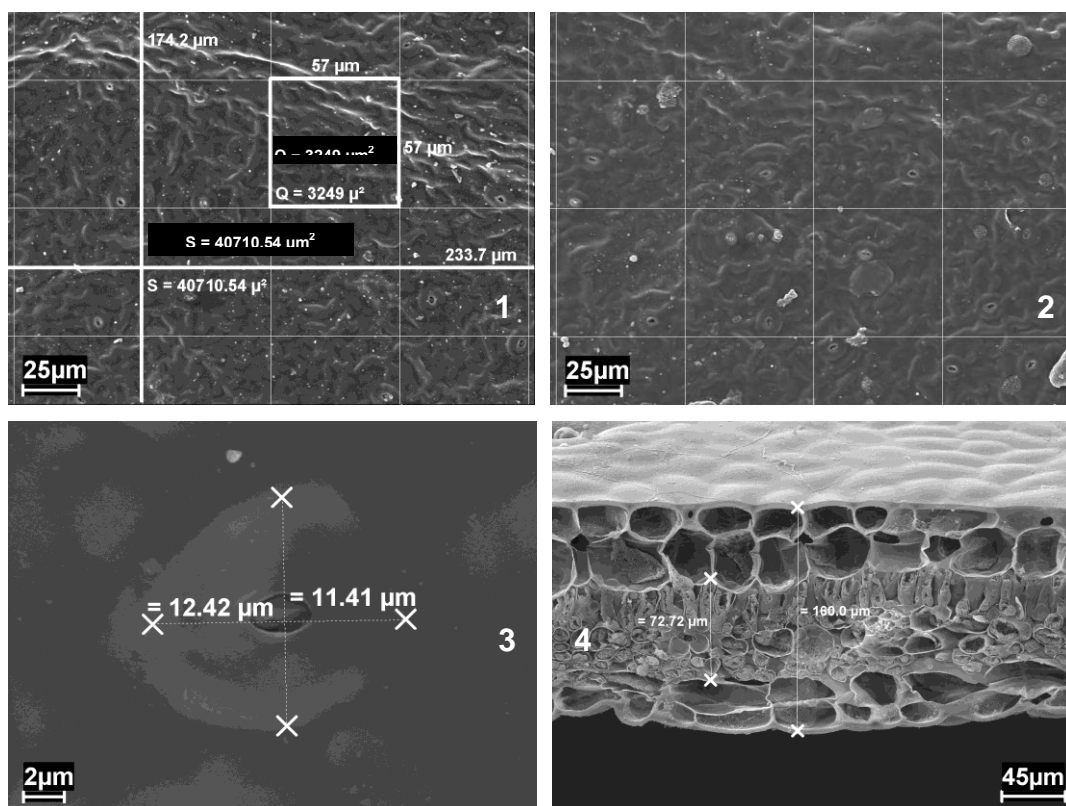
Resultados e discussão

Para quantificar estruturas das superfícies, inicialmente deve-se obter a área total a ser analisada (S), calculada pela área de um retângulo, pois as eletromicrografias possuem geometria retangular já que foram capturadas em monitor de dimensões nesse formato. Para isolar todas as áreas pode-se ainda dividir a superfície foliar em quadrantes (Q), neste caso a área total corresponde a do quadrado (Figuras 1 e 2), em seguida, determina-se o número de estruturas por área analisada, em μm^2 ou mm^2 , e submeter os dados obtidos à análise estatística.

O número de campos analisados e o tipo de análise estatística a ser utilizada ficam a critério do pesquisador ou usuário. Uma das vantagens do método é que além da

quantificação, a MEV possibilita a mensuração de estruturas (Figuras 3 e 4), o que facilita a análise das estruturas.

Ressalta-se que as análises em MEV para fins comparativos devem ser feitas a uma mesma ampliação estabelecida como padrão, assim como em toda determinação microscópica numérica. O método de análise quantitativa de estruturas em MEV vem sendo utilizado com sucesso no Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), há pelo menos três anos, utilizado neste período para quantificação de estruturas biológicas principalmente estômatos e glândulas secretoras.



Figuras 1-4. Eletromicrografias de amostras foliares *Mangifera indica* L. 1-3. Superfície foliar, face abaxial. 1: Mostrando cálculo da área total da superfície analisada (S) e de um quadrante (Q); 2: Mostrando a superfície analisada delimitada em quadrantes; 3: Detalhe da mensuração das dimensões de um estômato. 4: Folha em secção transversal, mostrando a determinação da altura do parênquima paliçádico (Pp) e extensão do mesófilo (Mf).

REFERÊNCIAS

BOZZOLA, J.J. & RUSSEL, L.D. 1992. Electron microscopy: principles e techniques for biologists. New York: Jones and Bartlett Publishers 452p.

JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique New York McGraw-Hill.