

Isolamento, armazenamento e determinação da colonização por fungos endofíticos “dark septate” a partir das raízes de videira

Luigi Cagliari Ferrari¹, Marcus André Kurtz Almança¹, Cíntia Neitzke Soares de Deus¹, Luciana Moreira de Souza¹, André Luiz Montes^{1*}

*Orientador(a)

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) - *Campus Veranópolis*. Veranópolis, RS

Os endofíticos são micro-organismos que colonizam o interior de tecidos vegetais em algum período do seu ciclo de vida. A presença de fungos endofíticos “dark septate” ou DSE (do inglês, dark septate endophytes) associados mutualisticamente às raízes contribui para o desenvolvimento vegetal, tais como promoção de crescimento e controle de doenças. Ainda existem poucos estudos em relação aos DSE na videira, resultando em pouca compreensão de seu papel ecológico e biotecnológico. Por isso, é importante o isolamento e caracterização por técnicas tradicionais (isolamento em meio sintético e microcultivo). Diante do exposto, o objetivo geral foi isolar, armazenar e determinar a colonização de fungos DSE a partir de videiras localizadas na Fazenda Experimental do IFRS (29°3’35” S e 51°34’41” W). As plantas (bordô e chardonnay) foram coletadas e enviadas para o laboratório, sendo uma parte das raízes fixada em FAA 70% para manter as estruturas biológicas intactas até seu processamento. Depois, as raízes fixadas receberam dois métodos de diafanização (ou clarificação) para observação das estruturas fúngicas no tecido; onde o primeiro método não usou autoclave e o segundo usou autoclave. Após a clarificação, as raízes foram coradas com azul de tripano, dispostas em lâmina de microscopia contendo solução de polivil lactoglicerol, recobertas com lamínula, visualizadas em microscópio ótico e fotografadas. A outra parte das raízes foi usada para o isolamento dos fungos endofíticos. Inicialmente, as raízes foram desinfestadas e distribuídas em meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA). Quando o micélio melanizado surgiu próximo às raízes ele foi transferido para um novo meio de cultura BDA. Os fungos foram armazenados água estéril e em solução estéril de água com glicerol (1:1). Após três, seis e nove meses de armazenamento em geladeira foi averiguado o crescimento micelial (em BDA a 28 °C por sete dias) e observadas as características típicas de DSE por microcultivo e morfologia. Os resultados revelam que raízes das duas cultivares apresentam fungos DSE. Os DSE são viáveis após nove meses de armazenamento em geladeira, permitindo o uso de qualquer uma das técnicas para a composição da micoteca no Laboratório de Fitossanidade. A técnica 2 de diafanização foi mais eficiente para o clareamento das raízes, porém foram encontradas poucas estruturas fúngicas no tecido radicular, impossibilitando a determinação da colonização e análise estatística. Os resultados sobre os DSE são inéditos para a região da Serra Gaúcha e permitirão estudos futuros com foco na promoção de crescimento e controle de doenças da videira.

Palavras-chave: Diafanização. *Vitis* sp.. Serra Gaúcha.