

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel

Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

Variabilidade morfogenética e virulência de populações massais e mosnospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* e ocorrência de *C. cliviae*, pela primeira vez, em *Phaseolus vulgaris*.

Viviana Gaviria-Hernández

Pelotas, 2020

Viviana Gaviria-Hernández

Variabilidade morfofenética e virulência de populações massais e monospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* e ocorrência de *C. cliviae*, pela primeira vez, em *Phaseolus vulgaris*.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fitossanidade (área de conhecimento: Fitopatologia).

Orientador (a): Profa. Dra. Cândida Renata Jacobsen de Farias

Co-Orientador: Dr. Irajá Ferreira Antunes

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

G283v Gaviria-Hernández, Viviana

Variabilidade morfofenética e virulência de populações massais e monospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* e ocorrência de *C. cliviae*, pela primeira vez, em *Phaseolus vulgaris* / Viviana Gaviria-Hernández ; Candida Renata Jacobsen de Farias, orientadora ; Irajá Ferreira Antunes, coorientador. — Pelotas, 2020.

122 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Feijão - Fitopatologia - Virulência. 2. Antracnose . 3. Teleomórfico. 4. . I. Farias, Candida Renata Jacobsen de, orient. II. Antunes, Irajá Ferreira, coorient. III. Título.

CDD : 635.652

Viviana Gavira-Hernández

Variabilidade morfofenética e virulência de populações massais e mosnospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* e ocorrência de *C. cliviae*, pela primeira vez, em *Phaseolus vulgaris*.

Data da defesa: 29 de maio de 2020.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Cândida Renata Jacobsen de Farias
Doutora em Fitossanidade, a.c. Fitopatologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.^a Dra. Danielle Ribeiro de Barros
Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa.

Prof.^a Dra. Maristela dos Santos Rey Borin
Doutora em Fitossanidade, a.c. Fitopatologia pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof.^a Dra. Carla Lima Corrêa
Doutora em Agronomia, a.c. Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras.

Dr. Irajá Ferreira Antunes
Doutor em Agronomia, a.c. Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade de São Paulo –ESALQ

A meus pais, **Oscar Gavia** e **Maria Teresa Hernández**, irmã **Juliana Gavia**, pelo amor, carinho, apoio incondicional, e acompanhamento no longo desses anos. Por me incentivar e ir juntos em essa jornada. Amo vocês!

DEDICO

Agradecimentos

A Deus, por ter me guiado, fortalecido e cuidado esses anos longe de casa, por ter me permitido cumprir o sonho de estudar no Brasil.

Aos meus pais, Oscar Gaviria, Maria Teresa Hernández e irmã Juliana Gaviria, pelos esforços, sacrifícios, paciência, amor e apoio incondicional. À minha família, pelo constante amor, apoio e bons desejos desde a distância.

À família Colombiana que ganhei no Brasil, Johan Murcia, Marcela Vega, Diana Leiva, Verónica Hoyos, César Suarez e Joao Alvarado. A vida nos trouxe até o Brasil para nos reunir e formar um laço de amizade muito especial, obrigada pelo carinho sincero, pelo apoio, pelos momentos de felicidade, essa jornada não seria a mesma sem vocês Muchachos!

A meus amigos Kellyn Andino, Carla David, Cielo Machaca, Andréa Román, Iza Costa, Cami Brito, Tariani Lemos, Norvey Ângulo, Juan Camilo Velásquez e Felipe Ribeiro, pela sincera amizade, carinho e conselhos, pelos bolinhos e cafezinhos que tornaram meus dias mais alegres, por cada um dos momentos compartilhados.

A meus queridos amigos do Laboratório e faculdade Gisele Zobot, Vanessa Gonçalves, Priscila Rossatto, Wellington Rodrigues, Bruna Rohrig, Mario Pinel e Alice Peña, obrigada pela ajuda no desenvolvimento dos trabalhos, pela paciência, carinho, momentos gratos, por tornar um ambiente de trabalho familiar, por que vocês foram de grande importância para a conclusão desse trabalho!

A todos meus colegas da Fitopatologia, em especial a Silvia, Carol, Alfonso, Mauricio e Keilor pela amizade, auxílio e disponibilidade de ajuda sempre.

Às professoras Cândida Renata Jacobsen e Danielle Barros, pelo apoio, orientação, ensinamentos e contribuição na minha formação pessoal e profissional.

Ao Dr. Irajá, pela grande contribuição no desenvolvimento desse trabalho, por compartilhar sua experiência e conhecimentos.

Aos estagiários Miriam Alves, Aline, Henrique e Guilherme, pelo auxílio e suporte nos experimentos.

À Laboratorista Rosaria Azambuja, por todos os ensinamentos compartilhados, pela paciência e constante ajuda, pelos seus conselhos e exemplo de pessoa. Muito Obrigada Ro!

Ao professor Luis Fernando Patiño e à pesquisadora Alegría Saldarriaga, pelo apoio e incentivo desde a graduação na área da fitopatologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo e financiamento dos trabalhos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e professores da área de Fitopatologia, obrigada por ter me brindado essa grande oportunidade de ser parte do programa, pela dedicação e ensinamentos que contribuíram enormemente na minha formação pessoal e profissional.

Resumo

GAVIRIA-HERNÁNDEZ, Viviana. **Variabilidade morfo genética e virulência de populações massais e monospóricas de *Colletotrichum lindemuthianum* e ocorrência de *C. cliviae*, pela primeira vez, em *Phaseolus vulgaris***. 2020, 122f. Tese (Doutorado) –Programa de Pós-graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

A antracnose do feijão causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, é a principal doença que acomete a cultura. O fungo possui elevada variabilidade morfológica, patogênica e genética constatada inclusive entre isolados de uma mesma raça. Pouco são os trabalhos que exploram a variabilidade existente dentro de uma população massal, sendo padronizado o uso de uma única cultura monospórica por isolado. O trabalho teve como objetivo avaliar a variabilidade morfológica, patogênica e genética de populações monospóricas de uma mesma população massal de *C. lindemuthianum*. A partir de amostras de feijão de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, foram obtidos doze isolados massais, e dez monospóricos de cada massal, para um total de 131 isolados. Foi identificada a raça de cada isolado massal pelo sistema binomial nas diferenciadoras de feijão. Foi realizada a caracterização morfocultural, considerando o formato e cor das colônias, índice de crescimento micelial, diâmetro final da colônia, esporulação e formato dos conídios. As diferenças foram constatadas por análise multivariada e pelo teste de Scott-Knott 5%. Foram selecionados 43 isolados para avaliação da virulência quando inoculados em plântulas, e taxa de transmissão quando inoculados em sementes da cultivar Pérola. A partir de 66 isolados, foi realizada a caracterização molecular utilizando seis marcadores URP. Foram construídos dendrogramas de similaridade pelo método UPGMA utilizando o coeficiente de Jaccard. Como base os resultados, foram identificadas as raças 64, 75, 81, 337, 377, 857, 1361, 2041 e 2045. Foram constatadas diferenças morfológicas entre monospóricos de uma mesma população massal, com destaque para os isolados de LSPCL1, LPSCL15 e LSPCL20. Resultados de virulência e transmissão semente-plântula mostraram diferenças nos índices da doença em plântula e taxas de transmissão entre isolados monospóricos, sendo expressiva dentro dos grupos de isolados LPSCL15, LSPCL16 e LSPCL18. A análise molecular demonstrou a existência de variabilidade genética entre isolados monospóricos de uma população massal, principalmente dentro da população de isolados de LPSCL20, LSPCL16 e LSPCL11. Por outro lado, a partir de folhas com sintoma de antracnose foi isolado um patógeno apresentando estruturas reprodutivas associadas à sexuada de fungos. Foi realizada a caracterização morfológica, patogênica e genética para a identificação do agente causal. O fungo apresentou a formação de peritécios, ascas unitunicadas e ascósporos elipsoides a curvos, em meio de cultura Mathur. O teste de patogenicidade demonstrou que o fungo causou lesões em folhas de feijão Campeiro e formou peritécios férteis na superfície das mesmas. A análise molecular das regiões ITS2, GAPDH e TUB2, revelaram que o novo agente causal de doença em feijão corresponde a fase teleomórfica de *C. cliviae*.

Palavras chaves: Antracnose. Morfologia. Patogenicidade. Fingerprint. Teleomórfico.

Abstract

GAVIRIA-HERNÁNDEZ, Viviana **Morphogenetic and virulence variability of massal and monosporic populations of *Colletotrichum lindemuthianum*, and occurrence of *C. cliviae*, for the first time, in *Phaseolus vulgaris***. 2020, 122p. Tese (Doutorado) –Programa de Pós-graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

Bean anthracnose caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, is the most importante disease of crop. The fungus has high morphological, pathogenic and genetic variability, included found between isolates from same race. There are few studies that explore the variability that exists within massal population, and the use of a single monosporic culture per isolate is standardized. The aime of this study was evaluate the morphological, pathogenic and genetic variability of monosporic populations of the same mass population of *C. lindemuthianum*. Bean samples from different regions of Rio Grande do Sul, twelve mass isolates and ten monosporic from each massal were obtained, 131 isolates totally. Each Massal isolates were identified by the binomial system in bean differentiators. Morphocultural characterization was performed, considering the shape and color of the colonies, mycelial growth index, final colony diameter, sporulation and conidia shape. The differences were found by multivariate analysis and by the Scott-Knott test 5%. Forty-three isolates were selected to assess virulence when inoculated in seedlings, and transmission rate when inoculated in seeds of Pérola cultivar. From sixtysix isolates molecular characterization was performed using six URP markers. Similarity dendrograms were constructed using the UPGMA method using the Jaccard coefficient. As results, races 64, 75, 81, 337, 377, 857, 1361, 2041 and 2045 were identified. Morphological differences were found between monosporics from the same mass population, with emphasis on the isolates of LSPCL1, LPSCL15 and LSPCL20. Results of virulence and seed-seedling transmission showed differences in seedling disease rates and transmission rates between monosporic isolates, being expressive within the groups of isolates LPSCL15, LSPCL16 and LSPCL18. Molecular analysis demonstrated the existence of genetic variability among monosporic isolates from a mass population, mainly within the population of LPSCL20, LSPCL16 and LSPCL11 isolates. On the other hand, from leaves with anthracnose symptoms, was isolated a pathogen shown reproductive structures associated with sexual phase in fungi. Morphological, pathogenic and genetic characterization was performed to identify the causal agent. The fungus showed formation of periteciums, unitunicated asci and ellipsoid to curved ascospores, in Mathur culture medium. The pathogenicity test showed that the fungus caused lesions on Campeiro bean leaves and formed fertile periteciums on their surface. The molecular analysis of the ITS2, GAPDH and TUB2 regions, revealed that the new causal agent of disease in bean corresponds to the teleomorphic phase of *C. cliviae*

Palavras chaves: Anthracnose. Morphology. Pathogenicity. Fingerprint. Teleomorph.