



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS



MARIA HILMA DOS SANTOS

**IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FÚNGICAS ASSOCIADAS À CULTURA
DA PITAIA**

RIO LARGO – AL

2024

MARIA HILMA DOS SANTOS

**IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FÚNGICAS ASSOCIADAS À CULTURA
DA PITAIA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof. Dra. Iraildes Pereira Assunção

Coorientadora: Dra. Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

RIO LARGO – AL
2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

S237i Santos, Maria Hilma dos.

Identificação de espécies fúngicas associadas à cultura da pitaia. / Maria Hilma dos Santos. – 2024.

58f.: il.

Orientadora: Iraildes Pereira Assunção

Coorientadora: Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

Dissertação (Mestrado em Proteção de plantas) – Programa de Pós -Graduação em Proteção de plantas, Área de concentração: Entomologia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Cactáceas. 2. Doenças fúngicas. 3. Patogenicidade. 4. *Colletotrichum*. 5. *Fusarium*. I. Título.

CDU: 632.9

Folha de Aprovação

MARIA HILMA DOS SANTOS

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FÚNGICAS ASSOCIADAS À CULTURA DA PITAIA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós- Graduação em Proteção de Plantas da
Universidade Federal de Alagoas, como
requisitoparcial para obtenção do título de
mestre(a).

Área de concentração: Fitopatologia

Banca Examinadora:

Aprovado em: 19/07/2024

Documento assinado digitalmente
 **IRAILDES PEREIRA ASSUNCAO**
Data: 31/07/2024 19:42:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dra. Iraildes Pereira Assunção - UFAL (Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 **MARIA DE FATIMA SILVA MUNIZ**
Data: 31/07/2024 20:21:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dra. Maria De Fatima Silva Muniz - UFAL

Documento assinado digitalmente
 **SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA**
Data: 01/08/2024 08:31:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dra. Sarah Jacqueline Cavacanti Da Silva - UFAL

RESUMO

A pitia (*Hylocereus* sp.) é uma fruta que pertence à família Cactaceae, a qual possui aproximadamente 100 gêneros e 1,5 mil espécies. A diversidade de frutas exóticas como a pitia vem ganhando espaço no mercado nacional. O aumento da procura pelo produto, frutos com alto preço de venda e o acesso a informações atualizadas de cultivo favorecem o crescimento da atividade no país. No entanto, algumas doenças têm sido associadas a esta cultura, especialmente agentes etiológicos fúngicos causadores de antracnose e podridões. Essas doenças estão associadas aos cladódios e frutos de pitia. Contudo, conhecer o agente etiológico é essencial para a eficácia de controle das doenças. Portanto, o objetivo do trabalho foi identificar espécies fúngicas que acometem a cultura da pitia por meio de características moleculares, morfológicas e culturais. Realizou-se coletas de cladódios de pitia no estado de Alagoas, em plantios comerciais e uma área experimental localizada no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Os isolados fúngicos foram obtidos a partir de amostras de cladódios com sintomas de antracnose e podridão, pelo método de isolamento indireto e cultivados em meio batata-dextrose-água. Após sete dias, os isolados fúngicos foram previamente identificados a nível de gênero, utilizando chaves taxonômicas existentes na literatura. Para testar a patogenicidade dos isolados foram utilizados cladódios assintomáticos de pitia. Os isolados considerados patogênicos foram submetidos a estudos de caracterização molecular, morfológica e cultural dos gêneros fúngicos. Primeiramente, realizou-se a extração de DNA e a amplificação das sequências parciais da região ITS e dos genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) e β -tubulina para os isolados de *Colletotrichum* e fator de alongamento da tradução 1- α (TEF-1 α) e RPB2 para os isolados de *Fusarium*. Obteve-se um total de 36 isolados fúngicos, dos quais 14 pertencem ao gênero *Colletotrichum* e 22 ao gênero *Fusarium*. As culturas de *Colletotrichum* apresentaram micélio variando entre tons de cinza, laranja e branco, com conídios hialinos, não septados, cilíndricos e extremidades arredondadas. Os isolados de *Fusarium* produziram micélio em tons de branco, rosa e laranja, com macro e microconídios hialinos e presença de clamidospóros. A observação das características morfológicas e culturais juntamente com as análises filogenéticas permitiu agrupar os isolados de *Colletotrichum* nos complexos *C. gloeosporioides*, e *C. truncatum*. Os isolados de *Fusarium* foram agrupados com espécies do complexo *F. incarnatum-equiseti*, *F. fujikuroi* e *F. oxysporum*.

Palavras-chave: Cactáceas; Doenças fúngicas; Patogenicidade; *Colletotrichum*; *Fusarium*.

ABSTRACT

The dragon fruit (*Hylocereus* sp.) is a fruit that belongs to the Cactaceae family, which has approximately 100 genera and 1,500 species. The diversity of exotic fruits such as dragon fruit has been gaining ground in the national market. The increase in demand for the product, fruits with a high selling price and access to updated cultivation information favor the growth of the activity in the country. However, some diseases have been associated with this crop, especially fungal etiological agents that cause anthracnose and rot. These diseases are associated with cladodes and dragon fruit fruits. However, knowing the etiological agent is essential for effective disease control. Therefore, the objective of the work was to identify fungal species that affect dragon fruit crops through molecular, morphological and cultural characteristics. Dragon fruit cladodes were collected in the state of Alagoas, in commercial plantations and in an experimental area located on the Engineering and Agricultural Sciences *Campus* of the Federal University of Alagoas. The fungal isolates were obtained from samples of cladodes with symptoms of anthracnose and rot, using the indirect isolation method and cultivated on potato-dextrose-agar medium. After seven days, the fungal isolates were previously identified to the genus level, using taxonomic keys existing in the literature. To test the pathogenicity of the isolates, asymptomatic dragon fruit cladodes were used. The isolates considered pathogenic were subjected to molecular, morphological and cultural characterization studies of fungal genera. Firstly, DNA extraction and amplification of partial sequences of the ITS region and of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and β -tubulin genes were carried out for *Colletotrichum* isolates and translation elongation factor 1- α (TEF -1 α) and RPB2 for *Fusarium* isolates. A total of 36 fungal isolates were obtained, of which 14 belong to the genus *Colletotrichum* and 22 to the genus *Fusarium*. *Colletotrichum* cultures presented mycelium varying between shades of gray, orange and white, with hyaline, non-septate, cylindrical conidia and round ends. *Fusarium* isolates produced mycelium in shades of white, pink and orange, with hyaline macro- and microconidia and the presence of chlamydospores. The observation of morphological and cultural characteristics together with phylogenetic analyzes allowed the *Colletotrichum* isolates to be grouped into the *C. gloeosporioides* and *C. truncatum* complexes. *Fusarium* isolates were grouped with species from the *F. incarnatum–equiseti* complex, *F. fujikuroi* and *F. oxysporum*.

Key words: Cactaceae; Fungal diseases; Pathogenicity; *Colletotrichum*; *Fusarium*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 Aspectos botânicos	7
2.2 Variedades de pitaia	8
2.3 Importância econômica	9
2.4 Cultivo da pitaia	10
2.5 Doenças fúngicas na cultura da pitaia	12
2.5.1 Podridão	13
2.5.1.1 Gênero <i>Fusarium</i>	14
2.5.2 Antracnose	15
2.5.2.1 Gênero <i>Colletotrichum</i>	16
3 OBJETIVOS	18
4 METODOLOGIA	19
4.1 Obtenção dos Isolados	19
4.2 Obtenção da cultura monospórica e preservação dos isolados	20
4.3 Teste de patogenicidade	20
4.4 Extração de DNA e amplificação por PCR	21
4.5 Análise filogenética	23
4.6 Caracterização morfológica e cultural	23
5 RESULTADOS	24
5.1 Obtenção dos Isolados	24
5.2 Teste de patogenicidade	26
5.3 Caracterização molecular	27
5.3.1 Caracterização molecular de espécies de <i>Colletotrichum</i>	27
5.3.2 Caracterização molecular de espécies de <i>Fusarium</i>	30
5.4 Caracterização morfológica e cultural	33
5.4.1 Caracterização morfológica e cultural de espécies de <i>Colletotrichum</i>	33
5.4.2 Caracterização morfológica e cultural de espécies de <i>Fusarium</i>	36
6 DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIA	47

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de frutas no Brasil se destaca por sua diversidade produtiva, sendo o terceiro maior produtor mundial de frutas, produzindo cerca de 40 milhões de toneladas/ano (FAO, 2021). A diversidade de frutas exóticas como a pitaia (*Hylocereus* sp.) vem ganhando espaço no mercado nacional. O aumento da procura por esta fruta, o alto preço de venda e o acesso a informações de cultivo favorecem o crescimento da atividade no país (LONE et al., 2020).

A pitaia é uma fruta conhecida mundialmente como Fruta-do-Dragão. Está inserida na família Cactaceae, a qual possui aproximadamente 100 gêneros e 1,5 mil espécies, originárias da América com os principais centros de diversidade localizados em regiões áridas e semiáridas do sudoeste dos Estados Unidos, México e vários países Sul-americanos como Peru, Argentina, Chile e Brasil (BARTHLOTT; HUNT, 1993).

A pitaia possui uma fonte riquíssima de compostos bioativos, sendo considerada uma “super fruta” devido aos inúmeros benefícios que o seu consumo traz para a saúde (PIO et al., 2020). Além do potencial farmacêutico, a pitaia também vem sendo muito utilizada na culinária. Os frutos podem ser consumidos frescos ou utilizados para a preparação de geleias, doces, bebidas, sorvetes e corantes. Seus cladódios e flores também possuem aplicações significativas na alimentação, geralmente como verduras (MARTÍNEZ et al., 1996).

No comércio, a pitaia faz parte do grupo do mercado de frutas exóticas. Mesmo seu preço sendo mais elevado que os demais frutos convencionais, há registros do aumento de sua venda, ganhando muita atenção após sua comercialização, tem se destacado no mercado, além de despertar o interesse de fruticultores no plantio e cultivo (JÚNIOR et al., 2019).

Algumas doenças têm sido relatadas para esta cactácea, especialmente agentes etiológicos fúngicos associados aos cladódios e frutos (PALMATEER et al., 2007). As principais doenças relatadas na cultura são a antracnose e podridão, sendo responsáveis pela redução da qualidade, o que justificam os preços altos da pitaia nos mercados, o que limita a acessibilidade da fruta aos consumidores e causam perdas econômicas aos produtores (SOBRAL et al., 2019).

Produtores, técnicos e agrônomos ainda possuem dúvidas sobre o cultivo de pitaia, devido ser uma cultura considerada recente no país, mostrando que mesmo em regiões com alta produção do fruto, ainda há necessidade de divulgação e construção de material didático sobre o cultivo da

pitaia, destacando a falta de informações sobre pragas e doenças nas regiões produtoras (LONE, 2020).

Nesse contexto, estudos de identificação necessitam ser desenvolvidos, visto que os produtores possuem dúvidas sobre os agentes causais dos sintomas de antracnose e podridão que acometem a cultura. Isto mostra a necessidade de divulgação e construção de material didático, destacando a falta de informações sobre os patógenos que causam doenças na cultura. Assim, o objetivo do presente trabalho foi identificar espécies de fungos associadas à cultura da pitaia utilizando estudos morfológicos, culturais e filogenia molecular.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos botânicos

A cultura da pitaia, também conhecida como “fruta do dragão”, é uma planta perene, epífita ou semiepífita, pertencente à família Cactaceae, gênero *Hylocereus* e ordem Caryophyllales (MOREIRA et al., 2012). Apresenta como centro de origem as florestas tropicais da América Latina, e nos últimos anos encontram-se distribuídas por países como: Brasil, Uruguai, Colômbia, México, Venezuela e Costa Rica (CHAGAS et al., 2014).

O fruto da pitaia é uma baga, tamanho médio, formato globuloso e subglobuloso, apresentando coloração externa verde quando imatura e amarela ou vermelha quando madura. A polpa é gelatinosa e apresenta cores que variam do vermelho-púrpura brilhante ao branco, com inúmeras sementes escuras e comestíveis que medem aproximadamente 3 mm de diâmetro e estão inseridas uniformemente pela polpa (CAJAZEIRA, 2016). A colheita do fruto, geralmente, ocorre quando atinge a maturação completa em torno de 30 dias após a antese (abertura da flor) (CANTO, 1993).

Classificada como planta trepadeira, a pitaia apresenta caules modificados denominados cladódios, são caules suculentos, cilíndrico ou globular, com sulcos e relevos, com capacidade de realização da fotossíntese e acúmulo de água e nutrientes, o que dá a planta a capacidade de resistir às secas prolongadas, pois estes apresentam em sua superfície ceras naturais que reduzem a perda de água e possuem abertura estomática noturna. Os cladódios apresentam espinhos com 2 a 4 mm de comprimento (SANTOS et al., 2013; MARENCO; LOPES, 2011).

As flores medem cerca de vinte a trinta e cinco centímetros de comprimento, são completas, possuem coloração branca e estames amarelos, além de serem monoicas, hermafroditas e levemente perfumadas. Sua abertura floral é de hábito noturno e inicia-se ao final da tarde, podendo estender-se até o início da manhã, produzindo grande quantidade de pólen, contudo seu órgão sexual feminino pode estar em diferentes alturas em relação às anteras, o que dificulta sua autopolinização (FERNANDES et al., 2017).

As raízes são do tipo fasciculada, ramificadas e bem distribuídas na superfície do solo, podem atingir profundidades por volta de quinze centímetros dependendo do tipo de solo a ser cultivado. Também desenvolvem raízes grampiformes ao longo dos cladódios, das quais servem principalmente para fixar suas estruturas em superfícies e serem capazes de absorver água e nutrientes, embora não seja sua função principal. A presença das raízes grampiformes demonstra grande importância na reprodução vegetativa da espécie, facilitando sua propagação assexuada em diversos tipos de ambientes (CAVALCANTE, 2008).

2.2 Variedades de pitaia

Encontram-se diferentes espécies de pitaia, sendo algumas comerciais e outras nativas. As três variedades mais cultivadas e encontradas comercialmente ao redor do mundo são: a pitaia de polpa branca e casca amarela (*Hylocereus megalanthus*), a pitaia de polpa branca e casca vermelha (*Hylocereus undatus*) e a pitaia de polpa vermelha e casca vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) (LE BELLEC et al., 2006).

A espécie *H. polyrhizus* é uma planta nativa do México, cultivada em todo o mundo, com destaque para Taiwan, Israel, Vietnã e sul da China. Com cultivos mais recentes na Tailândia, Austrália, Estados Unidos, Malásia e Brasil. Seus frutos destacam-se por sua coloração vermelha e seu alto teor de antioxidantes (MIRANDA-CASTRO, 2016).

No Brasil, a espécie *H. undatus* (polpa branca) passou a ser cultivada na década de 1990, no estado de São Paulo, (JUNQUEIRA, et al., 2002). Esta espécie é a mais cultivada mundialmente, em países como Austrália, Camboja, Colômbia, Equador, Guatemala, Indonésia, Israel, Japão, Nova Zelândia, Nicarágua, México, Peru, Filipinas, Espanha, Taiwan, Tailândia, Estados Unidos,

Vietnã e Uruguai. Muitos destes países já produzem pitaia, comercialmente, sendo Colômbia e México os principais produtores e exportadores para países da Europa, Estados Unidos e Japão (MOLINA; CRUZ; QUINTO, 2009).

A pitaia amarela (*H. megalanthus*) vem se tornando promissora para o mercado, seus frutos possuem polpa branca com sementes escuras e casca de coloração amarela conhecida, também, como “pitaia colombiana” sendo amplamente difundida na Colômbia (MOREIRA et al., 2012).

2.3 Importância econômica

A pitaia encontra-se no importante grupo de frutas exóticas (HA et al., 2014), apresentando alto valor comercial (MOREIRA et al., 2011), o que desperta elevado interesse dos fruticultores em seu plantio e cultivo (CAVALCANTE et al., 2011; CORDEIRO et al., 2015). Por seus frutos apresentarem cor e aparência atraente e com inúmeros benefícios para a saúde, vem despertando o interesse dos consumidores (FAN et al., 2016).

Os frutos, de modo geral, são as partes que apresentam maior importância econômica, as quais, segundo Moritz (2012), podem ser consumidos in natura, como ingredientes na culinária e em diversas receitas doces e salgadas, como mousses, cremes, cocadas, geleias, risotos, tortas e bastante presente também em bebidas, na forma de sucos tropicais, drinks, caipinhas e licores (GREENME, 2017). Os cladódios também são utilizados na culinária, como ingrediente principal nas receitas de alguns tipos de refolgados (OLIVEIRA et al., 2023).

Além do fruto, estudos recentes indicam que extratos da casca e dos cladódios possuem um grande potencial antioxidante, podendo ser utilizados como produtos cosméticos antienvelhecimento. Esses extratos também oferecem outros benefícios para a saúde e, quando combinados com protetores solares, proporcionam fotoproteção, ajudando a prevenir doenças relacionadas à exposição excessiva ao sol (CAVALCANTE, 2008).

Na indústria farmacêutica estudos demonstram que a pitaia vermelha apresenta capacidade de agir na prevenção do câncer, apresenta propriedade anti-inflamatória, antidiabética e de redução do risco de mortalidade cardiovascular (SONG et al., 2016b; LEONG et al., 2017), além de

combater as doenças relacionadas ao sistema respiratório como bronquite (DONALDO, 2009; MOLINA et al., 2009). Além disso, possui uma fonte riquíssima de compostos bioativos, sendo considerada uma “super fruta” devido aos inúmeros benefícios que o seu consumo traz para a saúde (PIO et al., 2020).

Na América Latina, além do México, a produção do fruto se encontra distribuída nos países da Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil e Colômbia. De forma geral, a pitaia ainda é considerada, na maioria dos países, uma cultura exótica e com perspectiva de crescimento de produção e aceitabilidade do mercado consumidor. O crescimento comercial da fruta tem ocorrido principalmente em países como Israel, Vietnã, Taiwan, Nicarágua, Austrália e nos Estados Unidos (FRÓES JÚNIOR et al., 2019).

Em 2017, o Brasil produziu cerca de 1.459 toneladas de pitaia, em 536 hectares, distribuídos em 640 estabelecimentos agropecuários, com valor da produção em torno de 9.129.000 de reais. Estima-se que existam 553 mil plantas de pitaia no país (IBGE, 2019). Já no quadro de exportação, o país se posiciona em quadragésimo quarto lugar no ranking mundial, com 0,1% do total e cerca de US\$ 4.000 faturados em exportação, no ano de 2018. Apesar do baixo volume de exportação brasileira de pitaia há tendência de aumento para os próximos anos (PIO; RODRIGUES; SILVA, 2020).

Segundos dados publicados pelo IBGE no ano de 2019, o maior produtor de pitaia no Brasil é o estado de São Paulo. Apesar da região Sudeste brasileira ser a principal produtora de pitaia no País, o plantio comercial da cultura vem se expandindo para outros locais, com destaque para a região Nordeste, onde as plantas produzem frutos durante parte do ano, sendo os frutos comercializados a preços elevados em meses de menor produção (NUNES et al., 2014). A maior parte da produção, cerca de 80%, ocorre nos meses de novembro a maio (OLIVEIRA, 2019).

2.4 Cultivo da pitaia

As plantas de pitaia foram domesticadas nos últimos anos na América Central e as primeiras referências com práticas de cultivo foram publicadas há aproximadamente duas décadas (LIMA, 2013). O pouco conhecimento técnico existente até então foi adquirido a partir do cultivo na América tropical, centro de origem das pitaias. Os métodos tradicionais de cultivo foram então alterados, adaptados e aperfeiçoados em novas áreas de produção (BECERRA, 1994).

A propagação pode ser realizada por sementes ou vegetativamente (através dos cladódios), destacando-se a estaquia, enxertia e micropropagação. Apesar das sementes apresentarem rápida e elevada taxa de germinação, as plantas propagadas por esse método apresentam variabilidade genética, crescimento inicial lento e requerem um maior período para início de produção (HERNÁNDEZ, 2000).

O método de cultivo mais adotado e recomendado é o tutoramento em palanque ou mourão de concreto ou madeira, conduzindo em haste única até chegar a altura de 1,60 m - 1,80 m, em que é realizada uma poda para estimular brotações laterais, sendo conduzida em sistema de pernas em pneu de borracha cortados ou não, presos ao mourão por hastes de ferro, sustentando a copa da planta (PENHA, 2019).

A época de produção desses frutos ocorre entre os meses de dezembro e junho, e se divide em quatro floradas, sendo as duas primeiras as mais produtivas. Seus frutos apresentam coloração verde quando imaturos e podendo variar de cor após atingir a maturação, levando em média de trinta a quarenta dias até o ponto de colheita (DONADIO, 2009).

A fruta possui alta produtividade por área, que pode chegar até cerca de 25 a 30 toneladas por hectare sob condições climáticas ideais, após 3 anos de implantação. A pitaia possui capacidade de se adaptar ao clima tropical, subtropical ou árido, assim, a umidade não é um fator que limita o desenvolvimento da cultura. Todavia, condições de elevada umidade favorecem infecções por fungos e bactérias nos frutos e caules, o que pode prejudicar o cultivo (REZENDE et al., 2017).

2.5 Doenças fúngicas na cultura da pitaia

Com a expansão do cultivo, atrelado ao aumento do interesse comercial por essa cultura, notou-se o aparecimento de doenças ocasionadas por bactérias, vírus e fungos que configuram um importante entrave na produção, com perdas que podem chegar até 44 % , constituindo-se em problemas para a sustentabilidade e crescimento da cultura (MOURA, 2020; BALENDRES; BENGGOA, 2019).

No Brasil, as principais doenças que acometem a pitaita, sobretudo no campo, são: a antracnose (*C. gloeosporioides* e *C. truncatum*), podridão por *Fusarium*, *Bipolaris* e as bacterioses, principalmente a pectobacteriose. Em vários países, como China, Japão e Malásia, onde há grande produção de pitaita, diversas pesquisas acerca de doenças dessa cultura têm sido relatadas (PIO, 2020).

Alguns gêneros fúngicos já foram associados às diversas espécies de *Hylocereus*, dentre eles estão: *Alternaria* sp.; *Aureobasidium* sp.; *Bipolaris* sp. *Botryosphaeria* sp.; *Colletotrichum* sp.; *Curvularia* sp.; *Diaporthe* sp.; *Fusarium* sp.; *Gibberella* sp.; *Monilinia* sp.; *Neocosmopora* sp.; *Neoscytalidium* sp.; *Nigrospora* sp. e *Sclerotium* sp. (BALENDRES; BENGGOA, 2019; WANG et al., 2021). Alguns fatores como a temperatura e pluviosidade elevada favorecem a proliferação de doença (COSTA, 2012).

2.5.1 Podridão

O primeiro relato de podridão que se tem conhecimento foi em Bangladesh, em 2019, em que observaram sintomas de podridão no caule. A lesão possuía uma depressão coberta por uma massa picnidial preta na superfície e com margens amarelas, presentes em 82% das plantas de *Hylocereus undatus*. Após análises morfológicas, moleculares e teste de patogenicidade, o fungo foi identificado como *Diaporthe phaseolorum* (KARIN et al., 2019).

Valencia-Botín et al., 2013 relataram, em pitaita vermelha, uma podridão na base do fruto causada por *Bipolaris cactivora*. Esse mesmo patógeno foi constatado causando manchas aquosas de cor oliva a preto, que coalescem, causando uma podridão mole em estágio avançado, em pitaita de polpa branca (HE et al., 2012). Em lugares como na China e Flórida, são relatados problemas

com o fungo *Bipolaris cactivora* causando podridão em flores e frutos em algumas espécies de pitaia (*Hylocereus costaricensis*) (QIU et al., 2020).

Na Sumatra Ocidental, foi observado 99,5% de incidência de podridão amarela do colo causada por *Fusarium* sp. em *H. polyrhizus* (BARTHANA; NASIR, 2013), sendo identificado por caracterização molecular como *F. solani* (RITA et al., 2013).

Diferentes patógenos podem acometer as várias partes das plantas, Junqueira et al., (2002) relataram o aparecimento de podridões no fruto causadas por *Dothiorella* sp., nos cladódios por *Lasiodiplodia theobromae* e em flores por *Phomopsis* sp., porém, sem atingir níveis de danos expressivos.

Algumas espécies de *Fusarium* causam a doença conhecida por podridão basal do fruto ou podridão mole, o sintoma começa com uma lesão amarela no caule, no ponto de inserção do fruto com o cladódio, causando prematuridade no amadurecimento. A infecção avança para o centro do fruto, produzindo podridão parcial e afetando até 50% da área de superfície (VARÓN, 2006; ROJAS et al., 2008; KONDO et al., 2013).

2.5.1.1 Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* pertence ao filo Ascomycota, ordem Hypocreales e família Nectriaceae, compreendendo um grupo de fungos filamentosos que representam uma ameaça a uma variedade de culturas de importância econômica. (CROUS et al., 2021). Foi primeiramente descrito por Link, (1809) com base no caráter distintivo dos conídios em forma de banana, mas o gênero recebeu mais atenção quando “Die Fusarien” foi publicado por Wollenweber e Reinking em 1935 (SUMMERELL, 2019). O gênero compreende cerca de 300 espécies filogeneticamente distintas distribuídas entre 23 complexos de espécies (O'DONNELL et al., 2020).

As espécies do gênero são responsáveis por perdas significativas nos campos de cultivo, com ênfase para as espécies de importância econômica (BARRAL et al., 2020). Este gênero é conhecido como um dos mais importantes patógenos de plantas do mundo e tem recebido grande

atenção devido à sua alta incidência (PASQUALI et al., 2016). As espécies de *Fusarium* são abundantes em regiões temperadas e tropicais, sobrevivendo como saprófitas no solo e restos vegetais (BOOTH, 1971; LESLIE; SUMMEREL, 2006).

Os fungos do gênero *Fusarium* infectam o hospedeiro por meio dos esporos ou micélio, podendo ocorrer a penetração de forma direta ou por meio de ferimentos. Após a infecção, o fungo atravessa o córtex e entra nos tecidos do xilema. O micélio se ramifica e produz microconídios, que são transportados pelo sistema vascular, tornando a infecção sistêmica, o fungo produz enzimas que degradam a parede celular dos vasos, bloqueando o transporte de água, o que resulta no fechamento dos estômatos, murcha e morte dos órgãos vegetais (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

A disseminação do patógeno pode ocorrer pelo solo e pela água principalmente em decorrência das estruturas de sobrevivência como os esporos vegetativos (clamidósporos) que podem colonizar as folhas, inflorescências e frutos, através de seus conídios, sendo capazes de sobreviver por longos períodos no solo (MILANESE, 2009).

Para a identificação de espécies do gênero *Fusarium*, são empregados diferentes conceitos básicos de espécies: morfológico e filogenético (LESLIE et al., 2001). O conceito morfológico é o mais utilizado e é baseado em características físicas e fisiológicas, como formato e tamanho de macro e microconídios, ausência e presença de clamidósporos, aparência da colônia, pigmentação e taxa de crescimento em meio de cultura (GERLACH; NIRENBERG, 1982; NELSON et al., 1981; LESLIE; SUMMERELL, 2006). Espécies que compartilham a mesma morfologia podem representar espécies filogenéticas distintas (O'DONNELL, 2000), necessitando de análises filogenéticas para classificar de maneira correta a espécie fúngica.

A filogenia multilocus auxilia a classificação dos fungos fusarioides, contribuindo para a identificação de espécies crípticas (COSTA et al., 2016; LAURENCE et al., 2014). Devido a alta variabilidade morfológica em *Fusarium* spp., técnicas moleculares se tornaram uma importante ferramenta para identificação de espécies de forma mais precisa e complementada com os testes de patogenicidade e caracterização morfológica (KOYYAPPURATH et al., 2016). Sendo esta realizada através da amplificação e análise de sequências de DNA de genes selecionados, fornecendo informações sobre a variabilidade e relações evolutivas desse patógeno (LESLIE;

SUMMERELL, 2006). Segundo O'Donnel et al. (2015), as regiões TEF1 e RPB2 possuem maior confiabilidade e consistência para a delimitação de espécies, devido ao alto nível de polimorfismo da sequência e não possuem cópias não-ortólogas, outro ponto importante é que estas regiões são facilmente amplificadas para todas as espécies do gênero.

Há relatos de espécies de *Fusarium* causando danos em variedades de pitaia. Na variedade amarela, os patógenos *Fusarium moniliforme* e *F. oxysporum* são encontrados com frequência, sendo relacionados à sintomas de podridão (VARON, 2006). Em pitaia vermelha, foi observado incidência de uma podridão amarela no caule, sendo o agente causal detectado como *Fusarium solani* (WIWIK; DEWA; MADE, 2013).

2.5.2 Antracnose

Entre as principais doenças já relatadas na cultura da pitaia tem-se a antracnose, a qual causa o aparecimento de lesões com coloração avermelhada a preta e presença de halos cloróticos (ISKANDAR et al., 2015). A doença pode acometer cladódios e frutos sendo causada por agentes etiológicos fúngicos (PALMATEER et al 2007) e pode reduzir gravemente a produção (MASYAHIT, 2009).

As manchas nos frutos de pitaia nas fases de pré e pós-colheita podem gerar graves perdas econômicas (PIERANGEL, 2019). Inicialmente, as plantas apresentam descoloração da cutícula adquirindo cor clara com pequenos pontos de cor azeitona. Posteriormente, as manchas adquirem coloração café-escuro, com diâmetro entre 3 e 4 cm, apresentando também uma margem amarela. Em seguida, a parte afetada seca e muitas vezes o tecido afetado cai deixando orifícios nos cladódios. Outro sintoma observado, embora menos frequente, caracteriza-se por manchas indefinidas que podem invadir todo ou parte dos cladódios (MÉNDEZ-GALLEGOS et al., 2008).

Dentre os agentes fitopatógenos causadores de antracnose nos cladódios, destaca-se o gênero fúngico *Colletotrichum*, responsável pela antracnose em uma infinidade de culturas agrícolas nas mais diversas regiões do planeta (KELLY; OLSEN, 2011).

2.5.2.1 Gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* foi descrito em 1831 por August Carl Joseph Corda (1809-1849), sendo publicado em 1837 com a espécie tipo *C. lineola*. Trata-se de fungos filamentosos, que estão posicionados na classe Ascomycetes e ordem Phyllachorales, cujo teleomorfo é representado por *Glomerella* (Sutton, 1992).

Esses fungos são capazes de sobreviver em tecidos vivos ou mortos caídos no chão, e têm numerosos hospedeiros, proliferando em condições de alta temperatura e umidade, especialmente quando ocorrem chuvas freqüentes. É disseminado, principalmente, pelo vento e por respingos de chuvas, penetrando na planta através das aberturas naturais ou por ferimentos, podendo incidir nos órgãos da planta e permanecer inerte até que ocorram condições favoráveis de temperatura e umidade relativa alta, podendo se expressar apenas na pós-colheita, mesmo que tenha havido a infecção no período da floração (ANDRADE; DUCROQUET, 1998; TAVARES et al., 2005).

No Brasil, apesar dos desafios, vários estudos têm sido realizados com o gênero nos últimos anos, visando o seu conhecimento e identificação, tendo singular importância, principalmente na agricultura (MELLO et al., 2004; BRAGANÇA 2016). Encontram-se listadas na U.S. National Fungus Collections, 1215 espécies do gênero na América do Sul, e destas, 758 espécies no Brasil (FARR & ROSSMAN, 2022).

Fungos do gênero *Colletotrichum* são conhecidos por serem patógenos agressivos que ocasionam doenças e acarretam perdas em diversas culturas por todo o mundo (HYDE et al., 2009). Este gênero é considerado o oitavo mais importante dos fungos causadores de doenças em plantas, de acordo com sua relevância científica e econômica. O gênero causa doenças que afetam uma ampla gama de hospedeiros, incluindo cereais, gramíneas, leguminosas, hortaliças, culturas perenes e árvores frutíferas (DEAN et al., 2012). As espécies apresentam uma ampla distribuição geográfica, particularmente em regiões quentes e úmidas, como nos trópicos (PEREIRA, 2009).

Os estudos para a identificação e taxonomia do gênero *Colletotrichum* consideram, em conjunto, características morfológicas, culturais, fisiológicas e moleculares (WEIR, JOHNSTON, DAMM, 2012). As características morfológicas das espécies de *Colletotrichum* são baseadas na cor, tamanho e forma de setas, células conidiogênicas, conídios e apressórios que podem ser

encontrados nos substratos naturais e/ou em culturas. Outras características morfológicas são: a formação de acérvulos, com a presença ou não de setas e conídios hialinos, predominantemente cilíndricos (CANNON et al., 2012).

As colônias de *Colletotrichum* são polimórficas, a cor varia de acordo com o meio de cultura e a idade da colônia. As tonalidades variam do branco ao cinza-escuro, com a presença ou não de setores, de círculos concêntricos de cores distintas, de cirro conidial e de esclerócios e microesclerócios (CROUCH 2014). Os estudos para a identificação e taxonomia do gênero *Colletotrichum* consideram, em conjunto, características morfológicas, culturais, fisiológicas e moleculares (WEIR, JOHNSTON, DAMM, 2012).

Diversas espécies de fungos são identificadas por meio de caracteres morfológicos e culturais. Entretanto, a identificação baseada apenas nesses métodos apresenta dificuldades devido à grande diversidade fenotípica resultante das condições ambientais (CAI et al., 2009; ANDRADE et al., 2007). Técnicas moleculares utilizando marcadores filogenéticos são utilizadas em conjunto com métodos morfoculturais e permitem uma identificação mais precisa das espécies de *Colletotrichum*.

Para melhor compreender a variabilidade genética da espécie *Colletotrichum*, utiliza-se a região ITS (Internal Transcribed Spacer) e vários marcadores filogenéticos como gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), actina (ACT), chitin synthase (CHS-1), β -tubulina (TUB2), calmodulina (CAL), histamina (HIS3), glutamine synthetase (GS) e superóxido-dismutase de manganês (SOD) (CANNON et al., 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Identificar espécies fúngicas associados à cultura da pitaia utilizando estudos de caracterização molecular e morfocultural.

3.2 Objetivos específicos

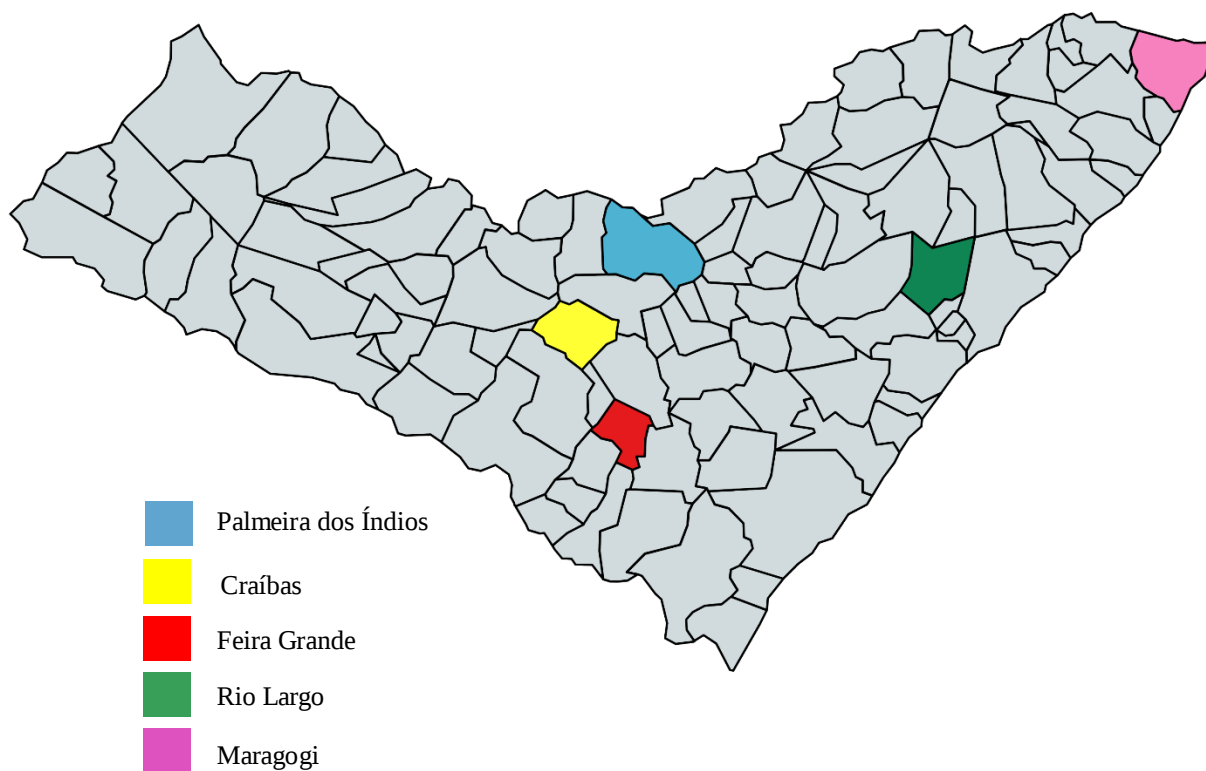
- Obter isolados fúngicos a partir de sintomas de antracnose e podridão em cladódios de pitaia;
- Realizar o teste de patogenicidade;
- Realizar análises multi-locus para identificação das espécies fúngicas associados a cultura da pitaia;
- Realizar a caracterização morfológica e cultural.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção dos Isolados

Os isolados foram obtidos a partir de amostras de cladódios com sintomas de antracnose e podridão. As coletas foram realizadas entre os meses de junho à outubro do ano de 2023 em plantios comerciais em quatro cidades do estado de Alagoas: Craíbas, Feira Grande, Maragogi, Palmeira dos Índios e uma área experimental localizada no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), na cidade de Rio Largo (Figura 1).

Figura 1: Locais de coleta dos isolados de pitaia.



Fonte: Dados da pesquisa (2024).

Os cladódios provenientes das coletas foram encaminhados para a Clínica fitossanitária, localizada no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias. O material vegetal foi lavado em água corrente e secos em papel toalha, posteriormente, pequenos fragmentos (4-5mm) foram retirados da região de transição entre o tecido doente e o sadio das lesões, com auxílio de um bisturi esterilizado, anteriormente flambado. Em câmara de fluxo laminar foi realizada a desinfestação superficial dos fragmentos com álcool a 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio a 1% por um minuto e duas lavagens com água destilada e esterilizadas (ADE) por 30 segundos cada uma.

Os fragmentos foram secos em papel filtro esterilizados e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), preparados com 20g de dextrose, 17g de ágar, 1000 mL de água destilada (AD). As placas foram incubadas a 25 °C, até o surgimento das hifas fúngicas. Discos (5 mm) das bordas das colônias foram retirados e depositados em novas placas de Petri com BDA, mantidas a 25± 1°C, com observação diária das estruturas vegetativas e reprodutivas dos isolados. Estes foram previamente identificados a nível de gênero com o auxílio de chaves taxonômicas disponíveis na literatura (LESLIE; SUMMERELL, 2006; WEIR et al., 2012; DAMM et al., 2019).

4.2 Obtenção da cultura monospórica e preservação dos isolados

Para obtenção da cultura monospórica, realizou-se uma raspagem em colônias que foram cultivadas em meio BDA e incubadas por 7 dias, sob fotoperíodo de 12h a 25± 1°C, posteriormente, foram realizadas diluições seriadas (1:2) de uma suspensão de esporos de 1x10⁶ conídios/mL da concentração inicial.

Uma alíquota de 20 µL foi uniformemente distribuída em placas de Petri contendo meio AA (ágar água), usando uma alça de Drigalski. Após 24 horas, o esporo germinado de cada isolado foi transferido para novas placas de Petri, contendo meio BDA. Os isolados foram preservados em tubos de eppendorf e pelo método Castellani (1967) para realização dos estudos de caracterização molecular, morfológica, cultural e teste de patogenicidades.

4.3 Teste de patogenicidade

Para testar a patogenicidade dos isolados, foram utilizados cladódios assintomáticos de pitaia das variedades de polpa branca e vermelha. Os cladódios foram lavados com detergente e água corrente. Após a secagem, foram realizados ferimentos com o auxílio de um furador de 5 mm de diâmetro. Colônias crescidas em meio de cultura BDA, por 7 dias, foram lavadas com 20 ml de ADE para obter uma suspensão de esporos que, posteriormente, foi ajustada a uma concentração de 10^6 conídios/mL, com auxílio de um hemacitômetro. Uma gota de 30 μ L da suspensão de esporos foi adicionada em cima dos ferimentos realizados nos cladódios. Cada isolado contou com 3 repetições e a testemunha, foi composta apenas por ADE. Os cladódios foram acondicionados separadamente em bandejas plásticas contendo papel filtro esterilizado e umedecido com ADE e envoltos com saco de polietileno para manter a umidade relativa do ar elevada e, assim, favorecer o desenvolvimento do patógeno. Os experimentos foram mantidos em temperatura ambiente por 15 dias. O patógeno foi reisolado para comprovar a patogenicidade das espécies conforme os postulados de Koch (1882).

4.4 Extração de DNA e amplificação por PCR

Para a extração de DNA, obteve-se a massa micelial dos isolados, a partir de três discos de BDA contendo estruturas do patógeno que foram transferidos para frascos de Erlenmeyer contendo meio sacarose-extrato de levedura-asparagina (ZAUZA et al., 2007). As culturas foram incubadas durante sete dias a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo 12h, o micélio foi coletado, lavado em ADE, seco em papel filtro autoclavado e armazenado em freezer até o momento da extração de DNA, que foi realizada utilizando o protocolo de Doyle e Doyle (1987).

A integridade do DNA foi determinada por eletroforese, em gel de agarose 1% usando o corante azul de bromofenol, e corados com brometo de etídeo, visualizados em transiluminador sob luz ultravioleta (UV) e fotografada em L-PIX-Chemi Loccus Biotecnologia®. Em seguida, o material foi armazenado sob temperatura de -20°C .

O DNA extraído foi usado como molde para a amplificação por PCR das sequências parciais de ITS, com os primers ITS1F/ITS4R (WHITE et al., 1990), β -tubulina com os primers T1/BT2B (O'DONNELL & CIGELNIK, 1997) e GAPDH, com os primers GDF/GDR (GUERBER et al., 2003; WEIR et al., 2012), para os isolados do gênero *Colletotrichum*. Para o

gênero *Fusarium* foram determinadas as sequências parciais para os genes TEF-1 α e RPB2 utilizando os pares de primers EFI/EF2 (O'DONNELL et al., 1998) e 5f2/7cR (REEB et al., 2004), respectivamente. As reações de PCR foram ajustadas para um volume final de 30 μ L com água Milli-Q autoclavada, tampão 10X (3 μ L), MgCl₂ 50 mM (0,9 μ L), 10 mM DNTP (2,4 μ L), 10 μ M de cada oligonucleotídeo (2 μ L), 1U Taq DNA polimerase (0,2 μ L) e 1 μ L de DNA (30ng/ μ L). As reações foram realizadas em termociclador Applied Biosystems (Thermal Cycler) conforme os protocolos estabelecidos para cada par de primer (Tabela 1).

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% utilizando o corante azul de bromofenol e o brometo de etídio como agente intercalante do DNA e visualizados em transiluminador sob luz ultravioleta (UV) e fotografada em L-PIX-Chemi Loccus Biotecnologia®. Em seguida, os produtos de PCR foram e enviados para o sequenciamento na empresa ACTgene Moleculares Ltda.

Tabela 1. Primers e condições de amplificação utilizadas no estudo.

Genes	Primer	Condições térmicas	Referências
ITS	ITS1F	Desnaturação inicial de 95 °C a 2 min, seguida de 38 ciclos de 95 °C a 1min, 55 °C a 30s, 72 °C a 45s e extensão final de 72 °C a 10 min.	White et al., (1990)
	ITSR4		
β -tubulina	T1	Desnaturação inicial de 95 °C a 4 min, seguida de 35 ciclos de 95 °C a 30s, 55 °C a 30s, 72 °C a 45s e extensão final de 72 °C a 7 min.	Glass e Donaldson (1995)
	BT2B		
GAPDH	GDF	Desnaturação inicial de 95 °C a 4 min, seguida de 35 ciclos de 95 °C a 30s, 52 °C a 30 s, 72 °C a 45s e extensão final de 72 °C a 7 min.	Guerber et al., (2003)
	GDR		
TEF-1 α	EF1	Desnaturação inicial 94 °C por 35s, seguida por 40 ciclos de 52 °C a 55s e 72 °C a 2 min, com uma extensão final de 10 min a 72 °C.	O'donnell et al., (1998)
	EF2		

RPB2	5F2	Desnaturação inicial de 94 °C a 30s, seguida de 40 ciclos de 55 °C a 30s, 68 °C a 2 min e extensão final de 68 °C a 5 min.	Reeb et al., (2004)
	7CR		

4.5 Análise filogenética

As sequências de DNA geradas a partir dos primers forward e reverso de cada região genômica foram editadas usando o Staden Package software (STADEN et al., 1998), afim de obter sequências consenso (contig) para cada isolado. Estas sequências foram analisadas com o algoritmo BLASTn e comparadas no banco de dados de nucleotídeos não-redundantes GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para determinar as espécies fúngicas com as quais elas compartilham maior identidade nucleotídica. Em seguida, múltiplos alinhamentos foram realizados com o algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004) e ajustados manualmente no MEGA11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis). Foram incluídas nos alinhamentos sequências de referência disponíveis no GenBank.

As árvores de Inferência Bayesiana foram construídas utilizando os alinhamentos das sequências parciais dos oligonucleotídeos selecionados de acordo com os gêneros previamente identificados, empregando o método da cadeia de Markov Monte Carlo, na web portal CIPRES (Miller et al., 2010) usando MrBayes v. 3.2.3 (Ronquist et al., 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado para cada gene usando MrModeltest 2.3 (Posada; Buckley, 2004), de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC). As árvores foram visualizadas no software FigTree v. 1.4 (ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e editadas no programa Inkscape.

4.6 Caracterização morfológica e cultural

Para caracterização cultural das espécies, discos de meio BDA (5mm) foram retirados da borda de culturas cultivadas durante 7 dias e transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio BDA sintético. As placas foram incubadas em estufa *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.),

sob temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, por 7 dias, do diâmetro das colônias (cm/dia) tomadas no verso das placas, em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada, e ao término desse período, foi observada a coloração e o aspecto das colônias. Os resultados foram submetidos ao cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), de acordo com a fórmula (1). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada isolado, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

$$IVCM = \sum \frac{\text{Diâmetro médio atual} - \text{Diâmetro médio anterior}}{\text{Número de dias após a inoculação}}$$

Para a caracterização morfológica, avaliou-se o comprimento e largura de cinquenta esporos e apressórios de cada representante das espécies de *Colletotrichum* e cinquenta macroconídios de *Fusarium* juntamente com a presença de clamidósporos, identificados com base nas análises filogenéticas multi-locus.

Os esporos e os macroconídios foram visualizados a partir de uma raspagem realizada nas colônias e depositadas em lâminas de vidro contendo uma gota (40 µL) de ADE. Enquanto para a formação dos apressórios foram utilizadas 30 µL de suspensão de esporos depositada sobre uma lâmina de vidro estéril acondicionada em placa de Petri forrada com papel filtro estéril umedecido com ADE e após 48 horas, o tamanho e forma dos apressórios foram observados.

As medidas de comprimento e largura de cinquenta conídios e apressórios, bem como os macroconídios foram aferidas utilizando o software BELView, as imagens foram verificadas por meio de imagens capturadas por câmera digital (Olympus IX2-SLP) acoplada ao microscópio de luz (Olympus CKX41) com aumento de 400x. Os dados das observações morfológicas foram resumidos em valores mínimos, máximos e médios.

5 RESULTADOS

5.1 Obtenção dos Isolados

Um total de 36 isolados foram obtidos a partir das coletadas realizadas nas cidades de Craíbas (9), Feira Grande (2), Maragogi (9), Palmeira dos Índios (12) e uma área experimental localizada no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), na cidade de Rio Largo (4). Os gêneros fúngicos mais recorrentes durante a identificação foram *Colletotrichum* e *Fusarium*, com um total de 14 e 22 isolados, respectivamente. Os isolados foram provenientes das variedades de pitaia denominadas Baby do Cerrado, Boreal Red, Golden de Israel, Pitaia Branca, Roxa do Pará e Vermelha do Pará (Tabela 2).

Tabela 2. Isolados obtidos a partir de diferentes variedades de pitaia.

Isolados	Variedades	Local de coleta	Código do Isolados	Gêneros
1	Borel Red	Craíbas	12F*	<i>Fusarium</i>
2	Borel Red	Craíbas	14F	<i>Fusarium</i>
3	Borel Red	Craíbas	1C	<i>Colletotrichum</i>
4	Borel Red	Craíbas	17F	<i>Fusarium</i>
5	Branca	Craíbas	9F	<i>Fusarium</i>
6	Baby do Cerrado	Craíbas	P3	<i>Fusarium</i>
7	Baby do Cerrado	Craíbas	P5	<i>Fusarium</i>
8	Baby do Cerrado	Craíbas	P6	<i>Colletotrichum</i>
9	Baby do Cerrado	Craíbas	P7	<i>Colletotrichum</i>
10	Borel Red	Feira Grande	P8	<i>Colletotrichum</i>
11	Borel Red	Feira Grande	P9	<i>Colletotrichum</i>
12	Roxa do Pará	Maragogi	16C	<i>Colletotrichum</i>
13	Roxa do Pará	Maragogi	6C	<i>Colletotrichum</i>
14	Roxa do Pará	Maragogi	22C	<i>Colletotrichum</i>
15	Roxa do Pará	Maragogi	15F	<i>Fusarium</i>
16	Roxa do Pará	Maragogi	4C	<i>Colletotrichum</i>
17	Roxa do Pará	Maragogi	5C	<i>Colletotrichum</i>
18	Roxa do Pará	Maragogi	21C	<i>Colletotrichum</i>
19	Borel Red	Maragogi	13F	<i>Fusarium</i>
20	Borel Red	Maragogi	2C	<i>Colletotrichum</i>
21	Branca	Palmeira dos Índios	16F	<i>Fusarium</i>
22	Branca	Palmeira dos Índios	1F	<i>Fusarium</i>
23	Branca	Palmeira dos Índios	2F	<i>Fusarium</i>
24	Branca	Palmeira dos Índios	3F	<i>Fusarium</i>
25	Branca	Palmeira dos Índios	4F	<i>Fusarium</i>

26	Branca	Palmeira dos Índios	5F	<i>Fusarium</i>
27	Branca	Palmeira dos Índios	6F	<i>Fusarium</i>
28	Branca	Palmeira dos Índios	7F	<i>Fusarium</i>
29	Branca	Palmeira dos Índios	8F	<i>Fusarium</i>
30	Branca	Palmeira dos Índios	10F	<i>Fusarium</i>
31	Branca	Palmeira dos Índios	11F	<i>Fusarium</i>
32	Branca	Palmeira dos Índios	23C	<i>Colletotrichum</i>
33	Boreal Red	Rio Largo	P2	<i>Fusarium</i>
34	Golden de Israel	Rio Largo	P1	<i>Fusarium</i>
35	Vermelha do Pará	Rio Largo	P4	<i>Fusarium</i>
36	Borel Red	Rio Largo	19C	<i>Colletotrichum</i>

* Isolados destacados em negrito foram enviados para sequenciamento.

5.2 Teste de patogenicidade

Quinze isolados foram testados quanto a patogenicidade causando lesões nas áreas de inoculação ao terceiro dia, sendo possível observar mudanças na superfície do tecido vegetal. As lesões aumentavam de tamanho à medida que os cladódios permaneciam em câmara úmida, sendo possível observar um escurecimento do tecido vegetal na área de inoculação do patógeno, passados 30 dias observou-se outra característica recorrente, a formação de halos na coloração cinza e amolecimento do tecido. Ao final do teste, a testemunha não apresentou lesões e o ferimento realizado cicatrizou sem causar maiores danos (Figura 2). Posteriormente, foi realizado o reisolamento do patógeno. Todas as placas tinham esporos característico dos patógenos inoculados, cumprindo-se assim os postulados de Koch.

Figura 2: Evolução da lesão após um mês da inoculação do patógeno (Isolado 16C) (A e B), verso do cladódio (C). Evolução da lesão após quinze dias da inoculação do patógeno (isolado 14F) (D, E e F). Lesão após um mês da inoculação do patógeno (Isolado 12F) (G e H). Os círculos vermelhos correspondem as testemunhas.



Fonte: Dados da pesquisa (2024).

Caracterização molecular

5.3.1 Caracterização molecular de espécies de *Colletotrichum*

Foram sequenciados nove isolados do gênero *Colletotrichum* que foram codificados como: P6, P7, P8, P9, 16C, 19C, 21C, 22C, e 23C, e seis do gênero *Fusarium* que receberam os códigos: P1, P2, 12F, 14F e 16F.

As sequências parciais do gene gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (*GAPDH*) foram analisadas juntamente com a pesquisa BLAST do banco de dados GenBank, indicando que sete isolados de *Colletotrichum* agruparam-se no complexo de *C. gloeosporioides* e dois no complexo de *C. truncatum*.

As análises filogenéticas concatenadas da região ITS e dos genes *GAPDH* e β -tubulina por Inferência Bayesiana sugeriram que os isolados se agruparam em três clados distintos dentro do complexo de *C. gloeosporioides*. Os isolados 19C e 21C apresentam-se próximo à espécie *C. theobromicola*. Os isolados P8 e P9 estão em um clado com as espécies *C. siamense* e *C. aeshynomene*, no entanto, quando comparados com as sequências disponíveis no banco de dados GenBank, demonstraram 100 % de identidade com a espécie *C. siamense*. Os isolados 16C, 22C e

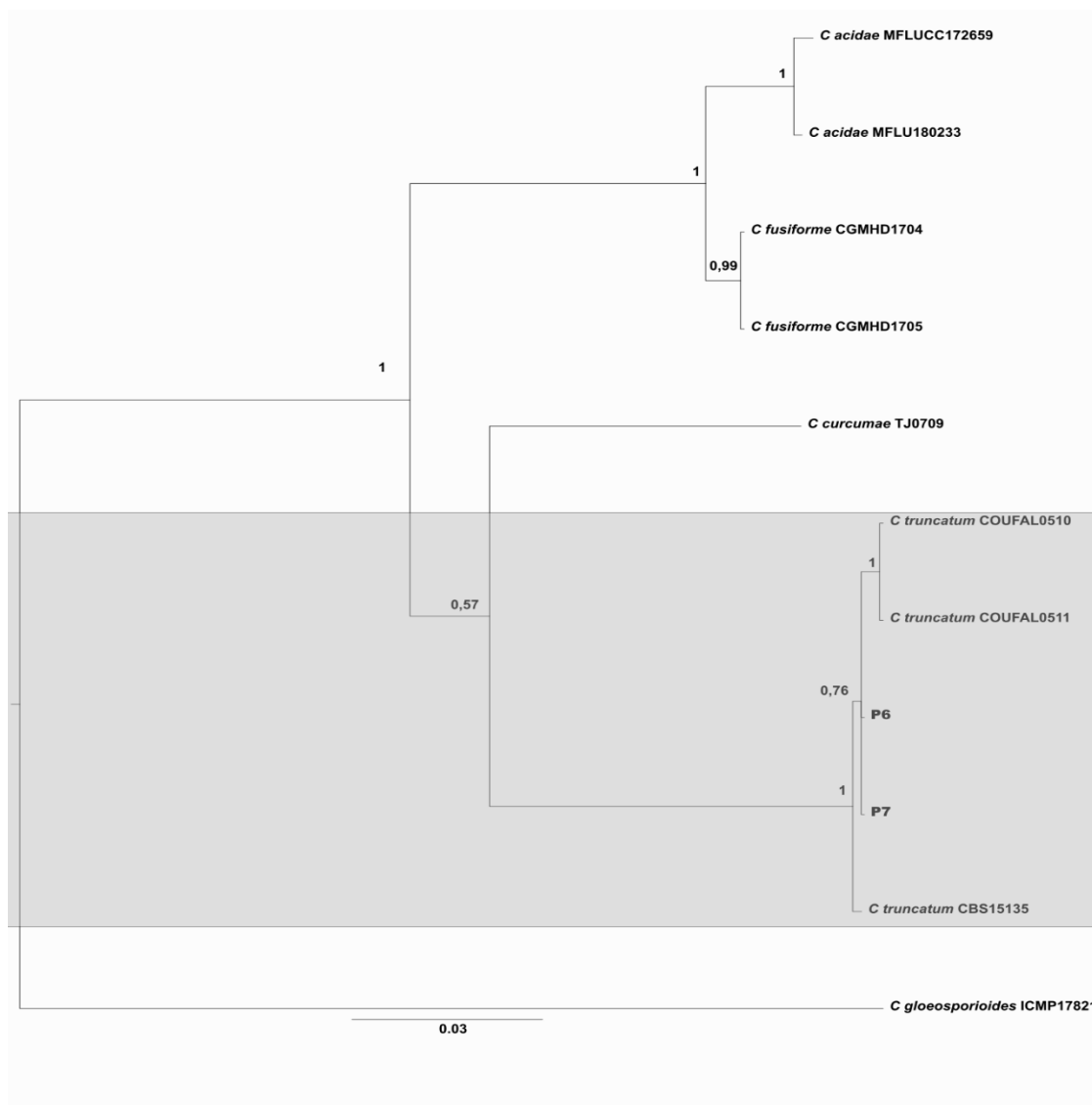
23C agruparam-se em um clado com várias espécies, dentre elas, *C. viniferum*, *C. chrysophilum* e *C. nupharicola*, apresentando maior identidade nos estudos Blasts com a espécie *C. fructicola*, com 99,58%, 99,56% e 95,42% (Figura 3).

[illegible]

30

A filogenia dos isolados do complexo *C. truncatum*, mostrou que P6 e P7 foram agrupados com a espécie *C. truncatum* em um clado bem suportado (Figura 4).

Figura 4. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo *Colletotrichum truncatum* baseada nas sequências parciais do genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), β -tubulina e região ITS. *Colletotrichum gloeosporioides* (ICMP17821) foi utilizado como grupo externo. A barra de escala (0,03) representa o número de substituição por sítio. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito.

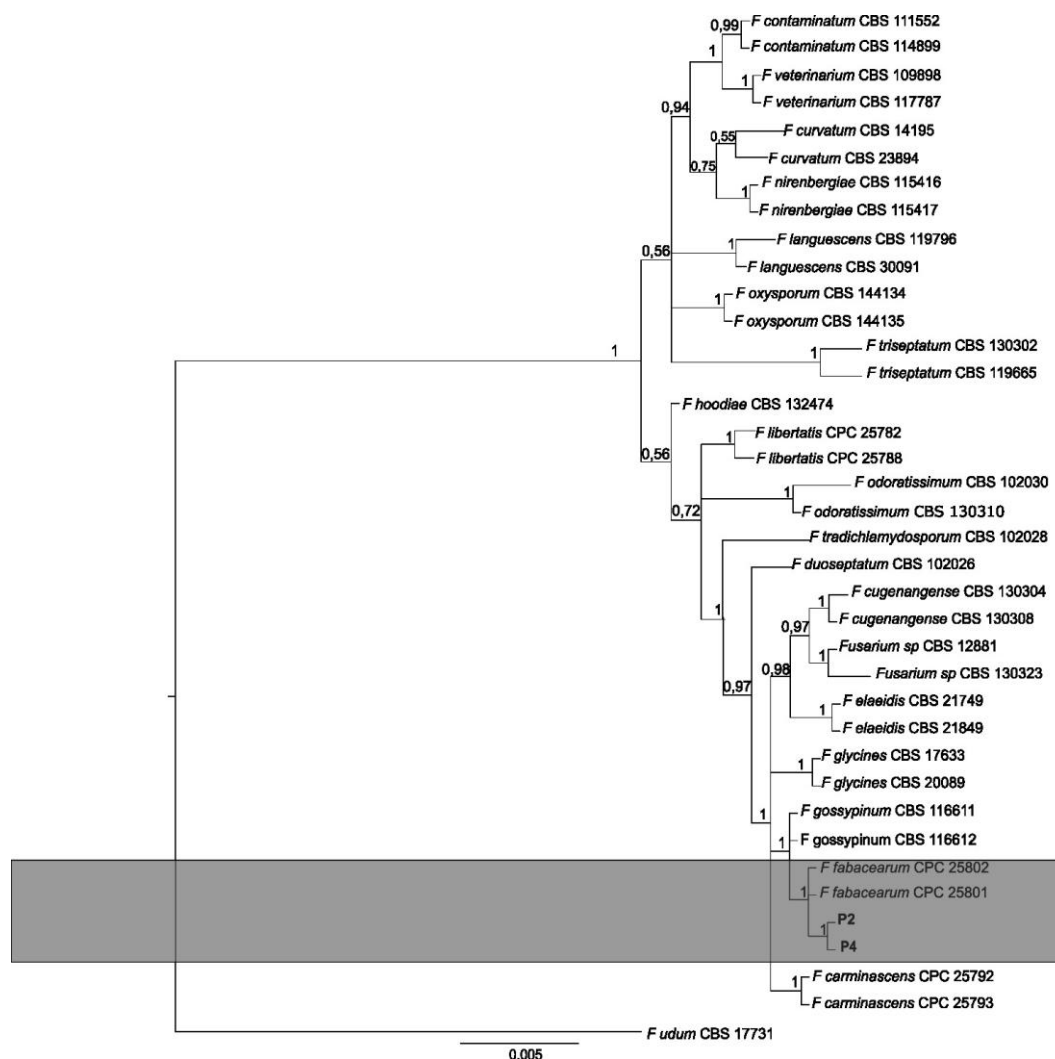


Fonte: Dados da pesquisa (2024).

5.3.2 Caracterização molecular de espécies de *Fusarium*

A análise filogenética mostrou agrupamento dos isolados de *Fusarium* em três complexos: *F. oxysporum*, *F. incarnatum-equiseti* e *F. fujikuroi*. Os isolados P2 e P4 mostraram-se pertencentes ao complexo de *F. oxysporum* na construção da árvore concatenada de Inferência Bayesiana com os genes RPB2 e TEF-1, os isolados agruparam-se próximo à espécie *F. fabacearum* (Figura 5).

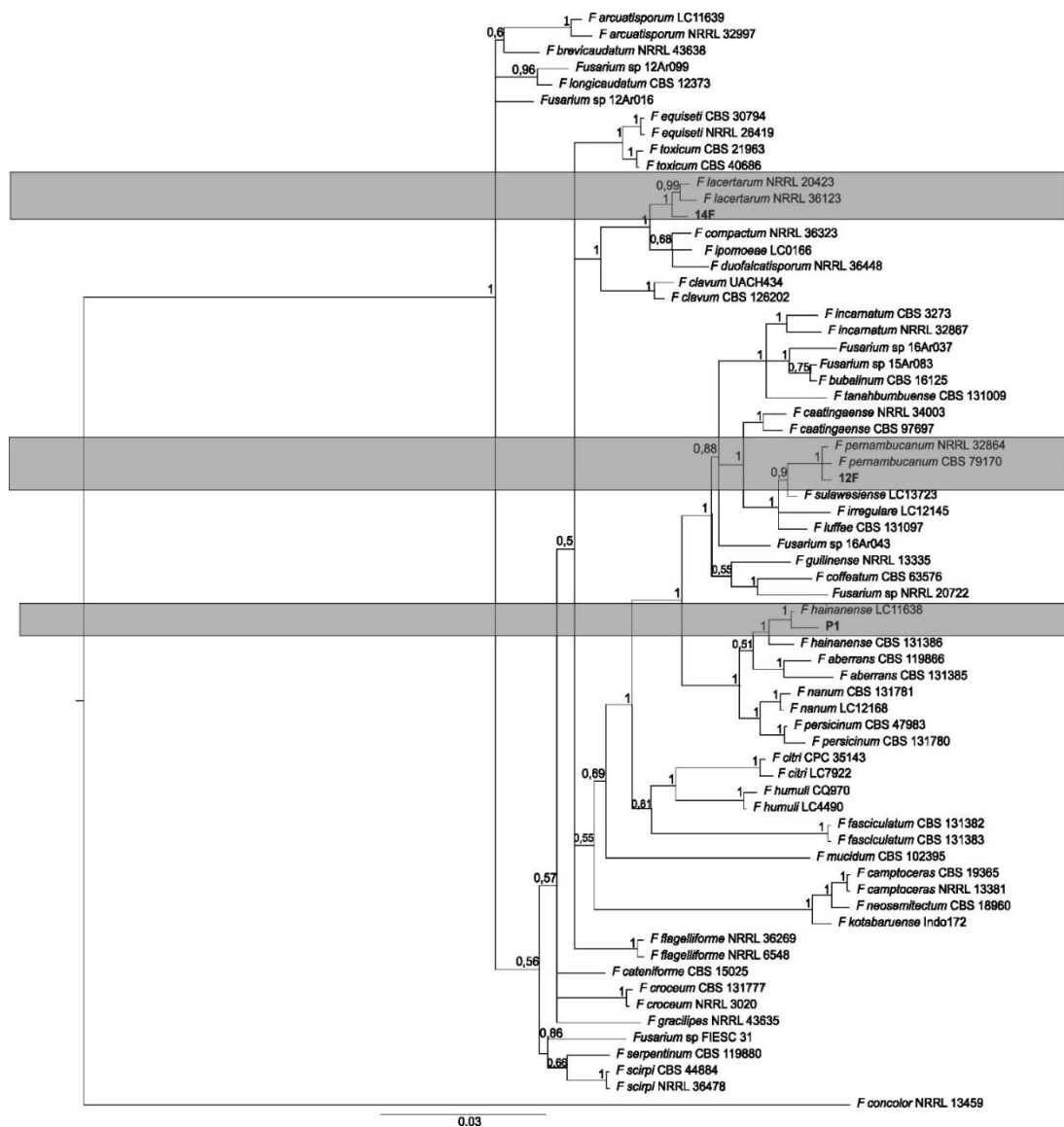
Figura 5. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo *Fusarium oxysporum* baseada nas sequências parciais dos genes TEF-1 α e RPB2. *Fusarium udum* (CBS 17731) foi utilizado como grupo externo. A barra de escala (0,005) representa o número de substituição por sítio. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito.



Fonte: Dados da pesquisa (2024).

Três isolados agruparam-se no complexo *F. incarnatum-equiseti*, quando utilizou apenas o gene TEF-1 α na construção da árvore filogenética de Inferência Bayesiana. O isolado 14F agrupou-se a um clado próximo à espécie *F. lacertarum*, 12F com a espécie *F. pernambucanum* e o isolado P1 com a espécie *F. hainanense* (Figura 6).

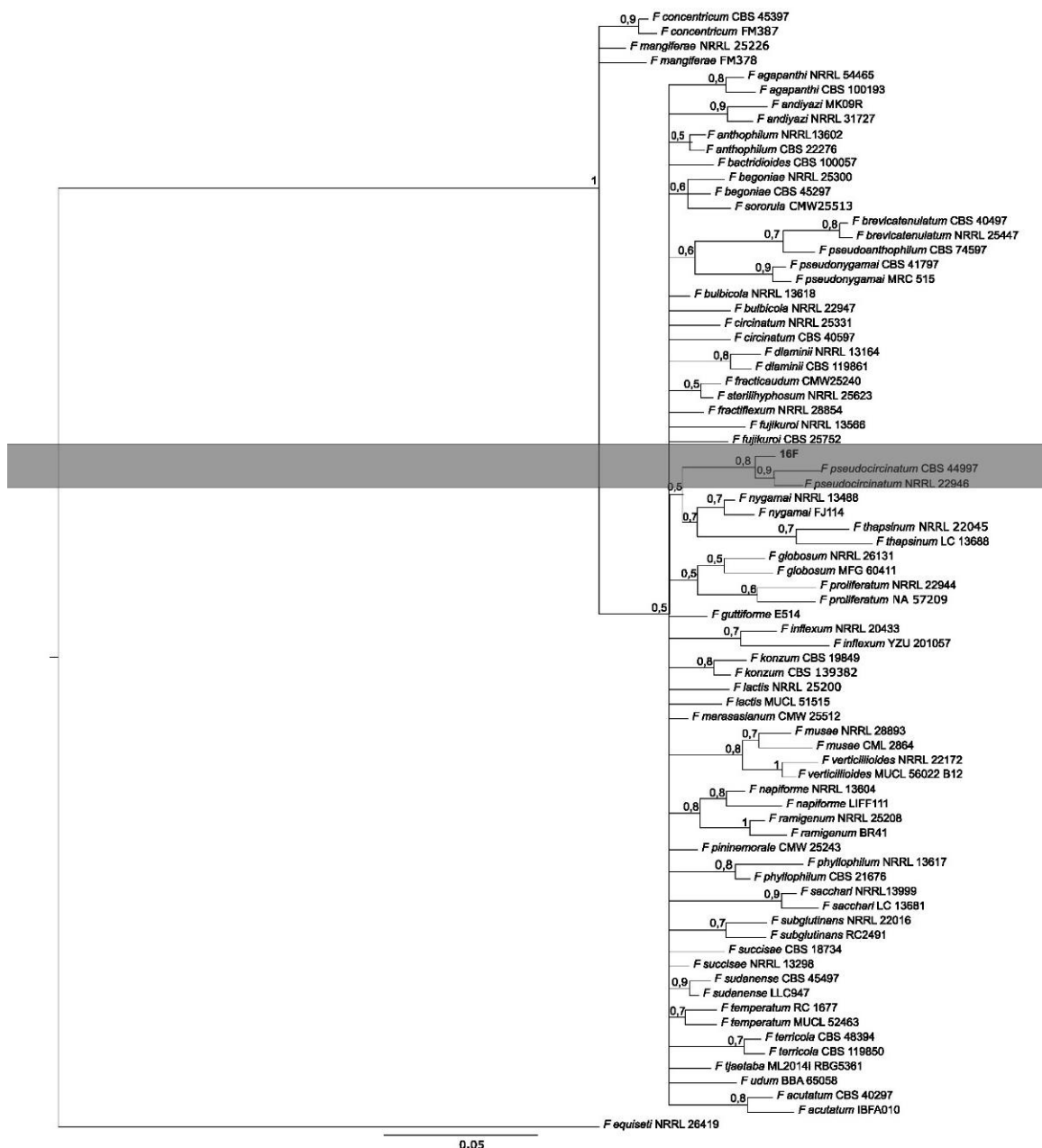
Figura 6. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo *Fusarium incarnatum-equiseti* baseada na sequência parcial do gene TEF-1 α . *Fusarium concolor* (NRRL 13459) foi utilizado como grupo externo. A barra de escala (0,03) representa o número de substituição por sítio. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito.



Fonte: Dados da pesquisa (2024).

A pesquisa realizada no BLAST do banco de dados GenBank, indicou que o isolado 16F pertence ao complexo *F. fujikuroi*. Após a construção da árvore de Inferência Bayesiana esse isolado agrupou-se com a espécie de *F. pseudocircinatum* (Figura 7).

Figura 7. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo *Fusarium fujikuroi* baseada na sequência parcial do gene TEF-1 α . *Fusarium equiseti* (NRRL 26419) foi utilizado como grupo externo. A barra de escala (0,05) representa o número de substituição por sítio. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito.



5.4 Caracterização morfológica e cultural

5.4.1 Caracterização morfológica e cultural de espécies de *Colletotrichum*

Os isolados representativos dos clados, nas árvores filogenéticas do complexo *C. gloeosporioides* e *C. truncatum*, apresentam características culturais e morfológicas distintas (Figura 8, 9 e Tabela 3).

O isolado P8, apresentou conídios hialinos, cilíndricos alongados, extremidades pontiagudas, com comprimento e largura médios de 6,36 x 2,53 μm , respectivamente, e uma taxa de crescimento médio de 3,9 mm/dia⁻¹. As colônias se mostraram na cor laranja-claro com micélios pouco cotonoso e não abundantes. Os apressórios possuíam formato ovalado assimétrico de coloração marrom escuro com longos tubos germinativos. O comprimento e largura médio foram de 5,75 x 4,21 μm , respectivamente.

O isolado 21C, os conídios apresentaram-se hialinos, cilíndricos. O comprimento e largura tiveram uma média de 13,02 x 3,40 μm , respectivamente, a taxa de crescimento médio foi de 4,6 mm/dia⁻¹. As colônias exibiram-se na coloração branca levemente acinzentada, no verso, observou-se o centro com uma coloração cinza-escuro. Os apressórios apresentaram formato irregular, coloração marrom escuro e tubos germinativos curtos. O comprimento e largura média foi de 6,10 x 4,11 respectivamente.

Os conídios do isolado 22C, mostraram-se cilíndricos, curtos e hialinos, os ápices arredondados, o comprimento e a largura média foi de 8,80 x 3,43 μm , a taxa de crescimento médio foi de 5,0 mm/dia⁻¹. As colônias apresentaram coloração cinza-claro com a presença de anéis concêntricos. Os apressórios exibiram forma globulada, coloração marrom escuro e um tubo germinativo curto. O comprimento e largura médio foi de 4,59 x 3,50 μm .

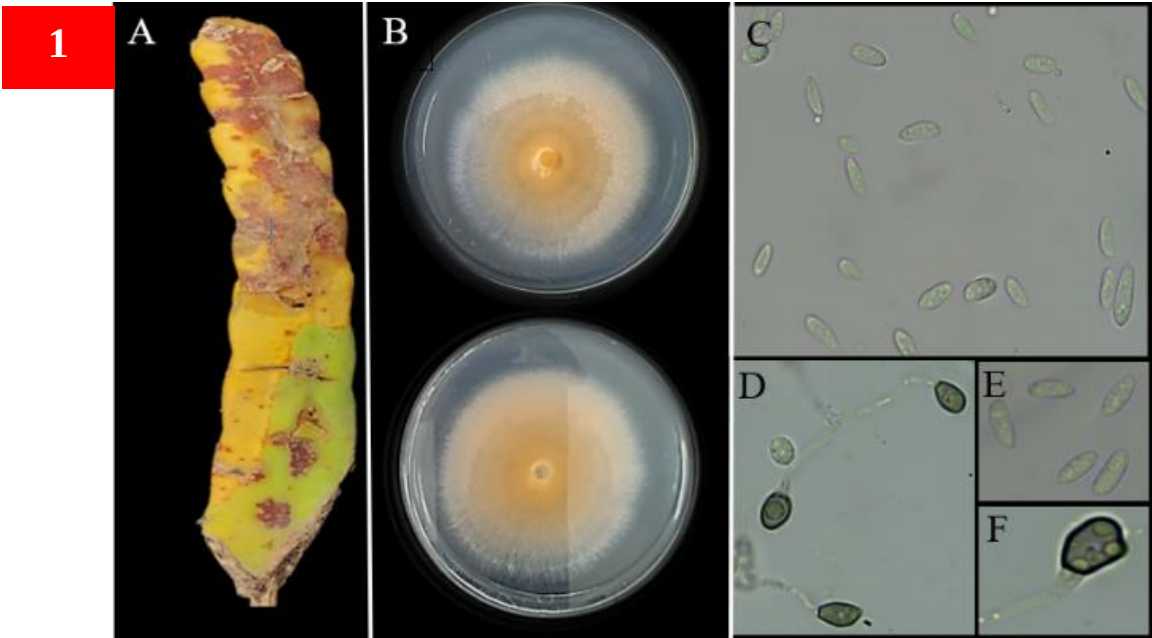
O isolado P6, apresentou conídios hialinos, formato falcado, com ápices afilados e não septados. O comprimento e largura média foi de 19,11 x 2,52 μm . A taxa de crescimento micelial foi de 3,6 mm/dia⁻¹. Os apressórios apresentaram comprimento e largura média de 9,02 x 5,18 μm .

Tabela 3. Características morfológicas e culturais dos isolados do gênero *Colletotrichum*.

Isolados	Conídios (µm)		Apressórios (µm)		Crescimento micelial (mm/dia)	Colônia
	Comprimento	Largura	Comprimento	Largura		
P8	6,36 (4,77 -14,78)	2,53 (1,56 – 3,54)	5,87 (4,26 – 8,06)	4,21 (3,07 – 4,88)	3,9	Coloração degradê indo de laranja à salmão em relação as bordas. Borda regular e micélio escasso.
21C	13,02 (9,54 – 14,77)	3,40 (2,06 – 4,08)	6,10 (4,92 – 7,50)	4,22 (2,91 – 5,61)	4,6	Coloração cinza claro, reverso da placa cinza mais escuro, presença de anéis concêntricos, micélio denso.
22C	8,8 (6,21 – 10,32)	3,43 (2,50 – 4,66)	4,59 (3,12 – 6,01)	3,5 (2,52 – 4,14)	5,0	Coloração do centro cinza com borda branca regular e micélio denso.
P6	19,11 (20,95 – 16,38)	2,52 (2,95 – 9,01)	9,02 (5,79 – 17,54)	5,18 (3,80 – 7,45)	3,6	Coloração laranja, anéis concêntricos cinzas e micélio escasso.

Fonte: Dados da Pesquisa (2024).

Figura 8: Isolados do complexo *C. gloeosporioides*. Sintomas de campo (Isolados **P8** 1A; **21C** 2A; **22C** 3A). Colônias em meio BDA (Isolados P8 1B; 21C 2B; 22C 3B). Conídios (Isolados P8 1C-E; 21C 2C; 22C 3C). Apressórios (Isolados P8 1-D-F, 21C 2D; 22C 3D-E-F).



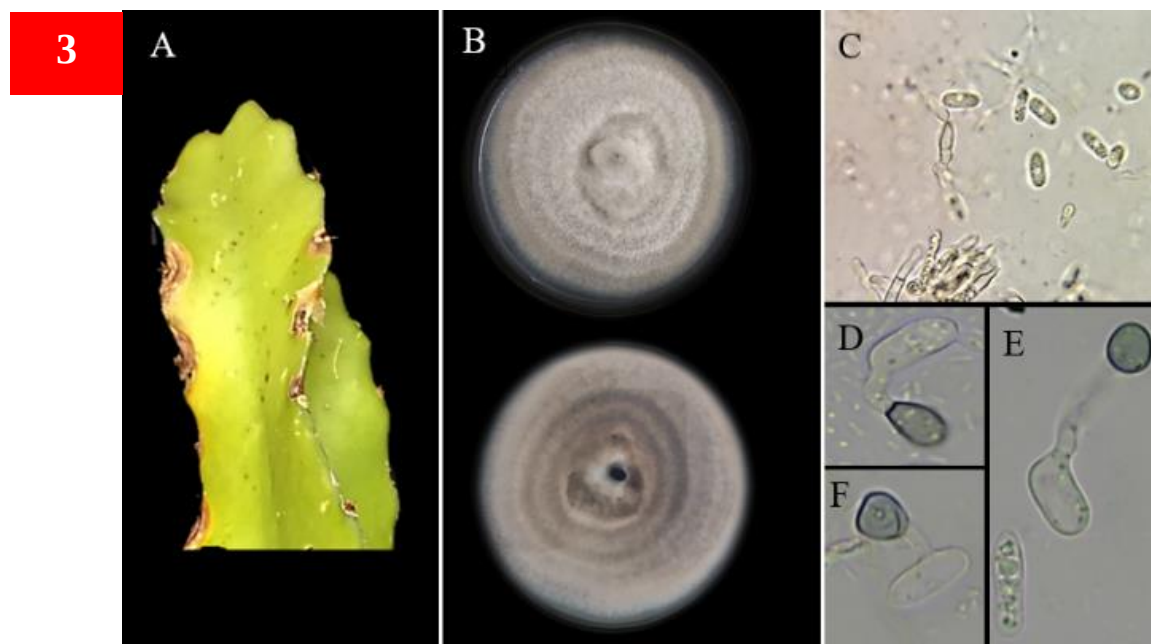
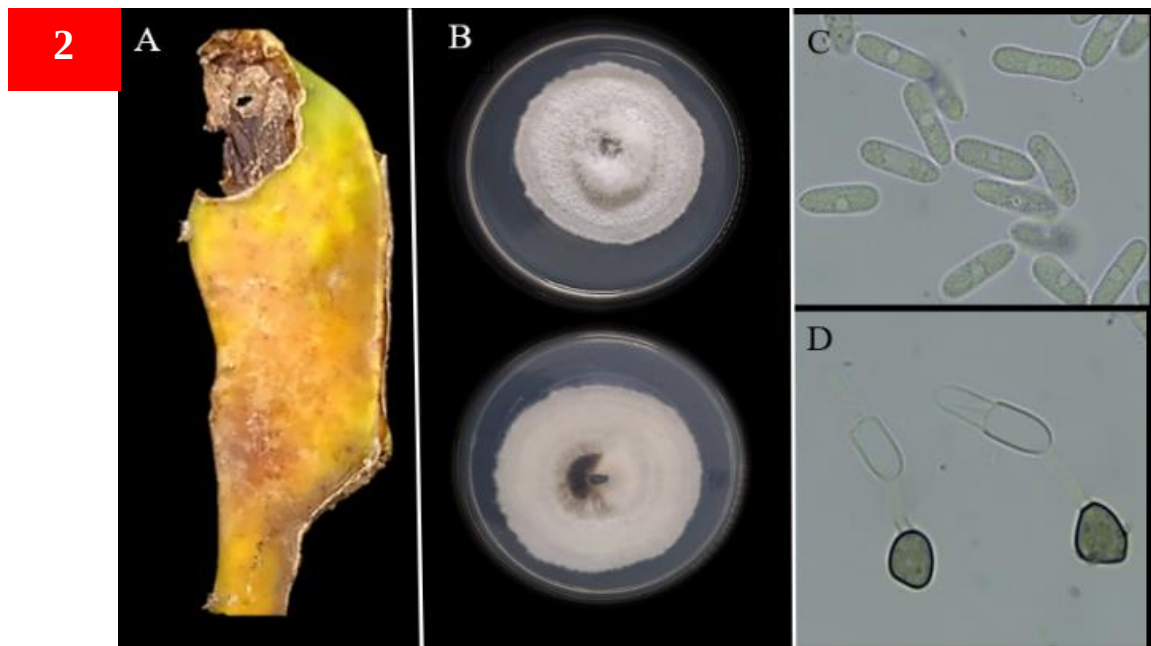
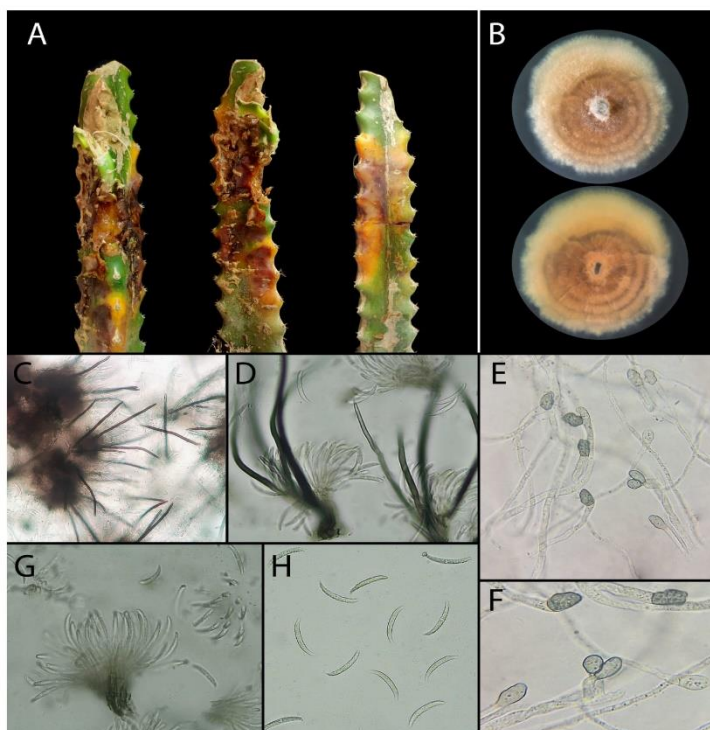


Figura 9: Isolado do complexo *C. truncatum*. Isolado **P6**. Sintomas de campo (A). Colônias em meio BDA (B). Setas (C e D). Conídios (G e H). Apressórios (E e F).



5.4.2 Caracterização morfológica e cultural de espécies de *Fusarium*

Isolados representativos dos clados, nas árvores filogenéticas dos complexos *F. oxysporum*, *F. incarnatum-equiseti* e *F. fujikuroi* apresentam características morfológicas semelhantes. As características avaliadas foram o tamanho e formato dos macroconídios, aspectos das colônias e velocidade de crescimento micelial (Figuras 10, 11 e 12 e tabela 4).

As características culturais das colônias, dos isolados dos complexos *F. oxysporum*, *F. incarnatum-equiseti* e *F. fujikuroi*, apresentaram heterogeneidade em relação à coloração do micélio variando de branco, salmão e rosa-claro, de acordo com o aspecto a maioria apresentou micélio cotonoso, bordas irregulares e regulares, e alguns com presença de anéis concêntricos. A variação da taxa de crescimento médio das colônias dentro do gênero foi de 1,6 a 4,1 mm.dia⁻¹. Os macroconídios apresentaram-se hialinos, formato falcado, e alguns isolados apresentaram clamidósporos. O comprimento médio dos macroconídios variou entre 8,42 e 22,40 µm e largura

média de 2,79 e 3,20 µm.

Tabela 4. Características morfológicas e culturais de isolados do gênero *Fusarium*.

Espécies	Conídios (µm)		Clamidósporo	Crescimento micelial (mm/dia)	Colônia
	Comprimento	Largura			
P2	17,12 (7,56 – 26,78)	2,96 (2,27 -3,87)	Presente	4,1	Coloração rosa claro, reverso rosa escuro com anéis concêntricos. Borda regular e micélio denso.
14F	18,15 (9,98 – 24,65)	2,63 (2,19 -3,34)	Presente	3,6	Coloração branco, borda regular e micélio escasso.
12F	17,48 (10,92 –25,01)	2,79 (2,15 -3,45)	Presente	3,0	Coloração laranja, borda branca e irregular. Micélio denso.
P1	22.40 (11,40 –30,86)	3,20 (2,36 -4,90)	Presente	1,6	Coloração laranja, borda irregular e micélio escasso.
16F	8,42 (6,23 – 13,39)	2,97 (2,33 -4,47)	Ausente	3,2	Coloração rosada, bora regular e micélio denso.

Fonte: Dados da Pesquisa (2024).

Figura 10: Isolado do complexo *F. oxysporum*. Isolado **P2**. Sintomas de campo (A). Colônias em meio BDA (B). Conídios (C). Clamidósporos (D e E).

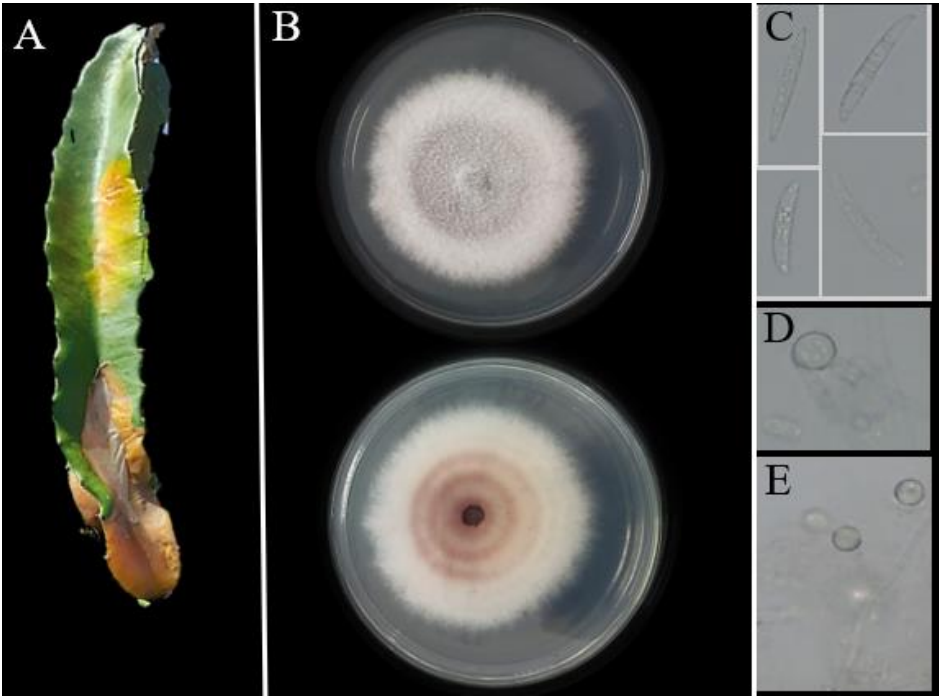
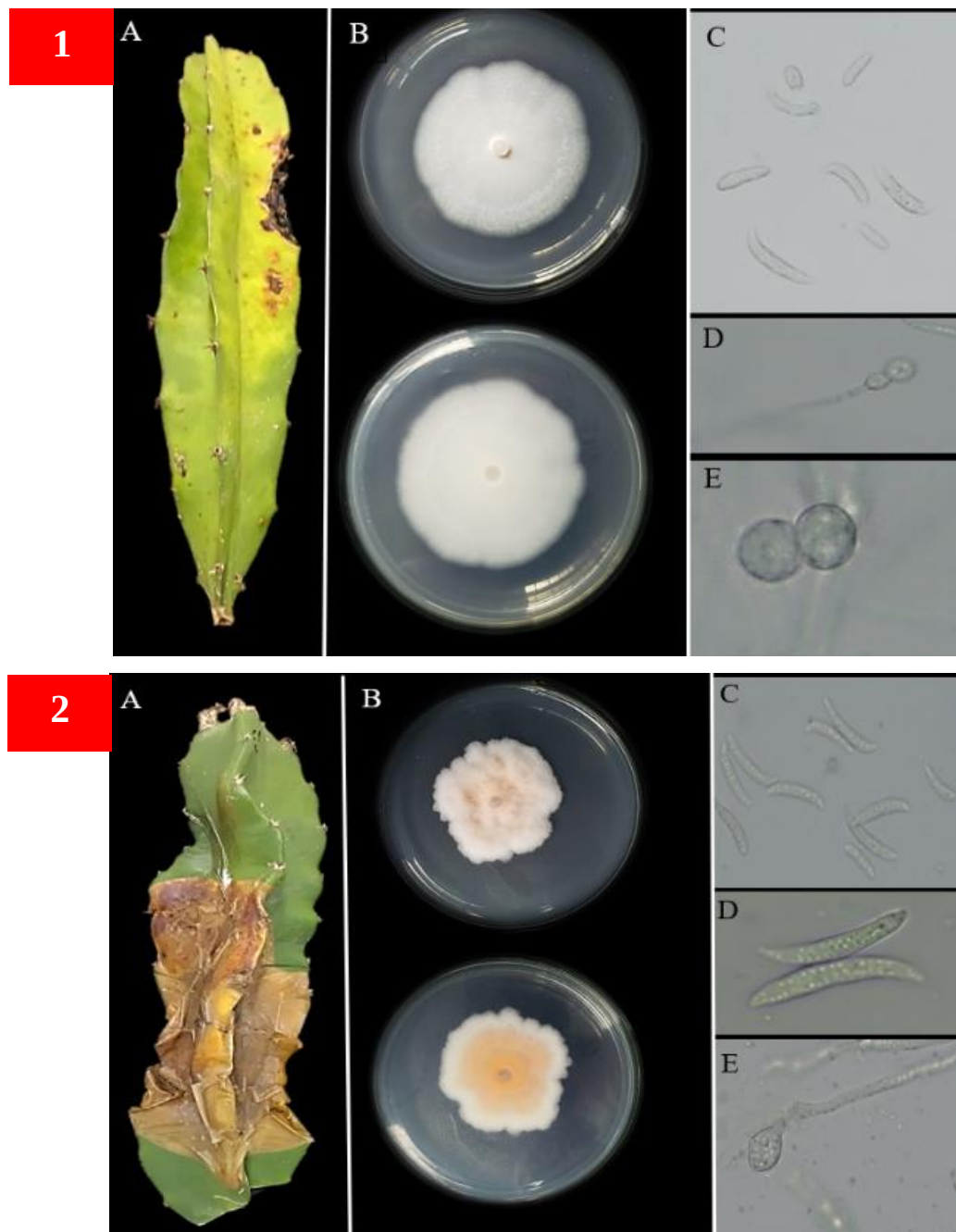


Figura 11: Isolados do complexo *F. incarnatum-equiseti*. Sintomas de campo (Isolados **14F** 1A; **12F** 2A; **P1** 3A). Colônias em meio BDA (Isolados **14F** 1B; **12F** 2B; **P1** 3B). Conídios (Isolados **14F** 1C; **12F** 2C-D; **P1** 3C-D). Clamidósporos (Isolados **14F** 1D-E; **12F** 2E; **P1** 3E).



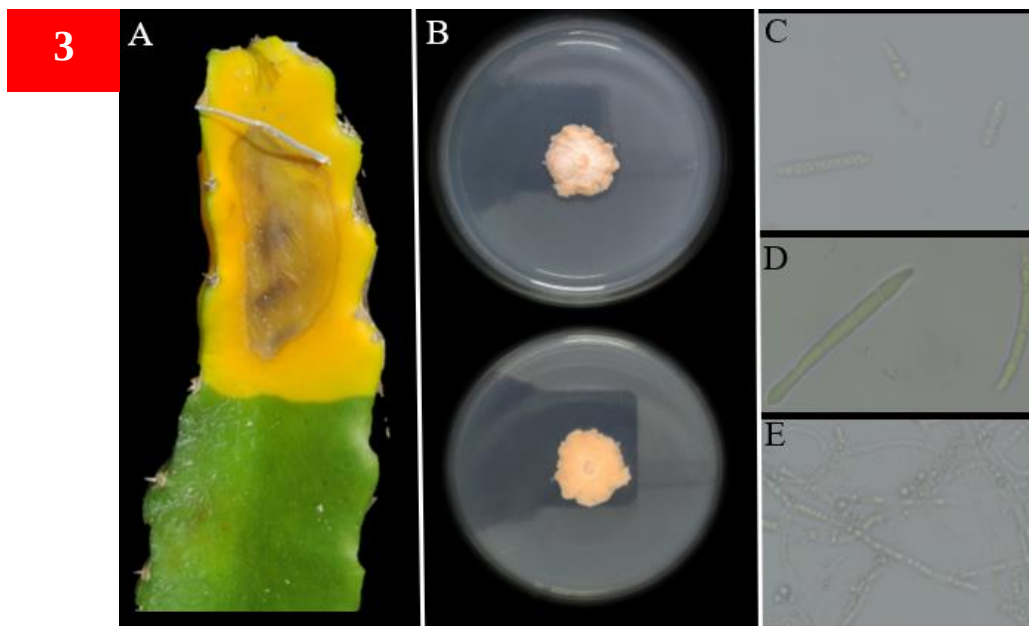
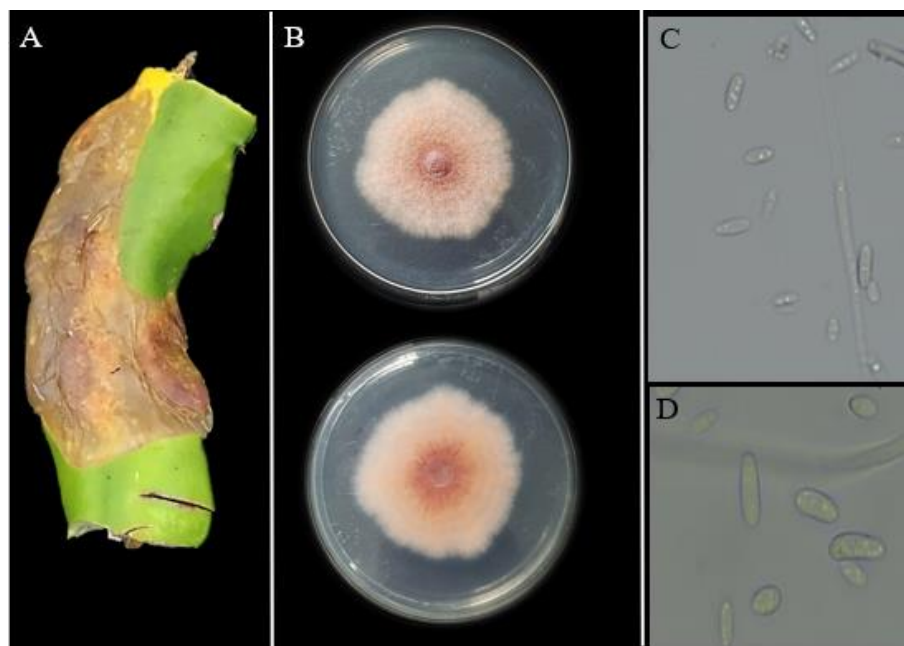


Figura 12: Isolado do complexo *F. fujikuroi*. Isolado **16F**. Sintomas de campo (A). Colônias em meio BDA (B). Conídios (C e D).



Fonte: Dados da Pesquisa (2024).

6 DISCUSSÃO

Os isolados obtidos demonstraram uma diversidade de espécies dos gêneros *Colletotrichum* e *Fusarium* causando sintomas de antracnose e podridão, respectivamente, na cultura da pitiaia. Apesar do número reduzido de isolados submetidos às análises filogenéticas para os dois gêneros, obteve-se dois complexos para *Colletotrichum*, com possíveis quatro espécies. Os isolados de *Fusarium* agruparam-se em três complexos e possíveis cinco espécies. Esses gêneros fúngicos são comumente encontrados causando danos em diversas culturas de importância econômica (SERRA; SILVA, 2004; MICHEREFF et al., 2005), incluindo a pitiaia (PALMATEER, PLOETZ 2007; SALAZAR et al., 2016).

Neste estudo, nove isolados pertencentes ao gênero *Colletotrichum* foram identificados causando antracnose em pitiaia, a partir dos estudos morfológicos, culturais, teste de patogenicidade e a análise da filogenia multi-locus. Essas análises possibilitaram a distribuição desses isolados em quatro clados dentro de dois complexos, sendo três clados pertencentes ao complexo *C. gloeosporioides*, próximos às espécies *C. siamense* e/ou *C. aschynomenes*, *C. theobromicola* e *C. fructicola* e/ou *C. chrysophilum* e um clado bem suportado no qual está inserido os isolados pertencentes ao complexo *C. truncatum*, próximo à espécie *C. truncatum*.

Estudos demonstraram a presença de inúmeras espécies do gênero *Colletotrichum* a infectar a mesma planta (MUNIR et al., 2016; MASYAHIT et al., 2009; ALI et al., 2014; ISKANDAR et al., 2015). As espécies dentro do complexo *C. gloeosporioides* são as mais relatadas, causando sintomas de antracnose e podridão em frutos tenros e suculentos em várias culturas. Por exemplo, espécies de *Colletotrichum* são frequentemente associadas a sintomas de podridão em uma ampla variedade de frutos como banana, manga, acerola, mamão, abacate, goiaba, entre outras (DEAN et al., 2012). No presente estudo, esse sintoma também foi observado em cladódios de pitiaia.

A maioria dos isolados de *Colletotrichum* obtidos neste estudo pertence ao complexo *C. gloeosporioides*, que inclui espécies com uma vasta distribuição e em condições favoráveis afetam uma ampla gama de hospedeiros (LIU et al., 2016; PARK et al., 2020; ASTOLFI et al., 2022). Este complexo é composto por um total de 57 espécies (WEIR et al., 2012; JAYAWARDENA et al., 2021), sendo, possivelmente, três delas obtidas no presente estudo.

Dois isolados estão alocados próximos às espécies *C. siamense* e/ou *C. aeschynomenes*. *Colletotrichum siamense* foi relatada como causadora de danos a uma variedade de culturas, sendo capazes de infectar frutos de maçã, pimentão e tomate (YANG et al., 2012). Na cultura da pitaia, foi reportada como causadora da antracnose em plantios localizados na Índia, Tailândia e China (ABIRAMI et al., 2019; ZHAO et al., 2018). Em um estudo realizado por Moura (2020), isolados de *C. siamense* também mostram-se patogênicos a frutos e cladódios de pitaia. A espécie *C. aeschynomenes* foi associada a algumas culturas, como o cacau (NASCIMENTO et al., 2019) e camu-camu (MATOS et al., 2020).

Outra espécie presente em nosso estudo foi *C. theobromicola*, conhecida por causar antracnose em diversas culturas com importância agrícola em muitos países (RODRIGUES et al., 2014). No Brasil, este patógeno é relatado em uma variedade de culturas, afetando folhas e frutos de cacaueiro (ROJAS et al., 2010), acerola e graviola (BRAGANÇA, 2013). Alguns autores relatam que *C. theobromicola* causa manchas de coloração marrom-escura no caule, nos frutos, incluindo também, podridão pós-colheita dos frutos (RODRIGUES et al., 2014; SHARMA et al., 2017; HAN et al., 2022). Até o presente momento, não há relato deste patógeno na cultura da pitaia.

Os isolados 16C, 22C e 23C que agruparam-se em um clado com as espécies de *C. fructicola* e/ou *C. chrysophilum*. Existem relatos de que *C. fructicola* acomete uma grande gama de hospedeiros, no Brasil, estando relacionado com a antracnose em culturas como o caqui, caju, pinha, graviola, manga e acelora (ANDRIOLI et al., 2021; NASCIMENTO, 2014). Estudos apontam que *C. fructicola* causa danos em duas espécies de pitaia *Hylocereus undatus* e *H. monacanthus*, nas Filipinas (EVALLO et al., 2021). A espécie de *C. chrysophilum* foi relatada causando antracnose em diversas culturas, incluindo maçã em plantios localizados em Nova York (KHODADADIE, 2020), mamão no México (PACHECO-ESTEVA et al., 2022) e banana (ASTOLFI et al., 2022) no Brasil.

No complexo *C. truncatum* foi possível agrupar dois isolados, sendo estes pertencentes à espécie *C. truncatum*, na qual é relada em plantios de *H. polyrhizus*, na Malásia e na China causando antracnose em cladódios, formando lesões marrom-avermelhadas, marrom escuras ou pretas, com halos cloróticos e acérvulos pretos foram frequentemente observados em lesões maduras (ISKANDAR et al., 2015).

Neste estudo, espécies de *Fusarium* foram relacionadas com sintomas de podridão em

cladódios de pitaia. As análises filogenéticas mostraram três complexos dentro desse gênero: *F. oxysporum*, *F. incarnatum-equiseti* e *F. fujikuroi*. O gênero *Fusarium* inclui alguns dos patógenos de plantas mais devastadores, afetando uma ampla gama de culturas agrônomicas. Sendo responsável por causar podridões pós-colheita em diferentes áreas de produção em todo o mundo (ARAÚJO et al., 2021). As espécies de *Fusarium* são citadas como sendo os principais patógenos associados às diversas espécies de *Hylocereus*, havendo relatos no Brasil (BALENDRES; BENGGOA, 2019; WANG et al., 2021).

O complexo *F. oxysporum*, é um complexo de espécies, que consiste em numerosas espécies crípticas (GORDON e MARTYN 1997; LAURENCE et al., 2014), inclui atualmente em torno de 26 espécies que representam patógenos de diferentes hospedeiros, tais como algodão, banana, soja, e tomate (LOMBARD et al., 2019; MARYANI et al., 2019). Entre esses patógenos está a espécie *F. fabacearum*, onde dois isolado (P2 e P4) do presente estudo agruparam-se. Esta espécie foi descrita por Lombard et al., (2019), encontradas em soja na África do Sul. Até o momento, não foi associada a cultura da pitaia.

O complexo *F. incarnatum-equiseti* foi o que apresentou uma maior variedade de espécies: *F. lacertarum*, *F. pernambucanum*, e *F. hainanense*. O complexo *incarnatum-equiseti* (FIESC) é composto por aproximadamente 30 espécies (PFENNING; MARTINS, 2000). As espécies de fungos pertencentes a este complexo possuem características semelhantes e são em sua maioria diferenciadas apenas por análise de DNA genômico. Há relatos dessas espécies causando podridão em plantas de casuarina (*Casuarina equisetifolia* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e palma (*N. Cochenillifera* L.) Mill) (CABAÑES et al., 2014)

A espécie *F. lacertarum* foi relatada causando tombamento em mudas de Casuarina no Brasil. Na semeadura, os sintomas da doença foram observados em cachos, e as mudas que apresentaram lesões necróticas nos caules e raízes, que mais tarde progrediu em amarelecimento das folhas, estagnação de crescimento, tombamento e morte, com perdas de até 80% das mudas de viveiro (POLETTTO et al., 2015). Não existem relatos desta espécie causando danos na cultura da pitaia, entretanto, este patógeno foi relatado no estado de Pernambuco, Brasil, como um patógeno em palma-doce (*Nopalea cochenillifera*) (SANTIAGO et al., 2018). A palma, assim como a pitaia pertencem à família das cactáceas (JUNQUEIRA et al., 2022; CAVALCANTI et al., 2017).

A espécie *F. pernambucanum* foi descrita pela primeira vez por Santos et al., (2019),

estando associadas a insetos como à mosca negra dos citros. Este patógeno foi relatado como causador de podridões em frutos de melão (ZHANG et al., 2021) e em flores de maracujá (LIU; TANG; ZHOU, 2021), relatos estes feitos na China. As espécies *F. pernambucanum* e *F. hainanense* apresentam hospedeiros em comum, havendo relatos no Brasil de podridão em pimenta malagueta (SANTOS et al., 2022). Nenhuma das espécies até o momento foi relacionada a cultura da pitaia.

O complexo *F. fujikuroi* apresentou um único isolado, este pertencente à espécie *F. pseudocircinatum*. Muitas das espécies neste complexo estão associadas a doenças devastadoras de plantas de importância econômica (BRANKOVICS et al., 2020). Espécies pertencentes a este complexo são de extrema importância para diversas culturas, incluindo o arroz e milho (NIEHAUS et al., 2014).

A espécie *F. pseudocircinatum* é uma espécie amplamente distribuída e ecologicamente diversa que infecta várias plantas silvestres e cultivadas, são capazes de infectar sementes e/ou outros tecidos vegetais no campo, causando perdas significativas (WIGMANN et al., 2019). Essa espécie foi relatada causando podridões do caule em plantas de baunilha (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews), na Indonésia (PINARIA et al., 2010). No Brasil, há relatos desta espécie causando nanismo e malformação em plantas de girassol (FARIAS et al., 2022). Apesar de ser um patógeno com ampla distribuição, não há relatos dele causando danos na cultura da pitaia.

Os isolados do gênero de *Colletotrichum* apresentaram ampla variação na coloração de suas colônias e na forma dos conídios, provavelmente por pertencerem a diferentes complexos. Estes resultados são semelhantes aos estudos de diversos autores (KAMEI et al., 2014; DAMM et al., 2014; BALENDRES et al., 2020). Alguns fatores podem influenciar na estabilidade e aspectos das colônias, como, por exemplo, a temperatura, armazenamento, luminosidade e meio da cultura (VIEIRA et al., 2018; KHODADADI et al., 2020). Os resultados encontrados neste trabalho para as características culturais e morfológicas dos isolados estão convergentes com os descritos em outros estudos publicados.

As características dos isolados do complexo *C. gloeosporioides* estão de acordo com os resultados obtidos por Cannon, Buddie e Bridge (2008); Weir, Johnston e Damm (2012) e Costa et al., (2019), nos qual a coloração das colônias abrangeram tonalidades que foram do branco, cinza-claro e laranja. Os conídios apresentam-se hialinos, subcilíndricos com extremidades arredondadas

e paredes lisas.

As colônias dos isolados do complexo *C. truncatum* apresentaram resultados semelhantes aos citados por Damm et al., (2009). A colônia apresentou-se pigmentada de laranja e os conídios com formatos falciformes, hialinos e unicelulares, apressório predominantemente truncados e presença de setas.

As características morfo culturais dos complexos de *Fusarium* assemelham-se e são descritas por (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Houve uma significativa variabilidade cultural, principalmente em relação às cores das colônias, que variaram de branco para laranja e rosa-claro. Observou-se a presença de macroconídios com o formato falcado e microconídios, os isolados de todos os complexos produziram clamidósporos, exceto a espécie *F. pseudocircinatum*, que pertencem ao complexo *F. fujikuroi*, a principal característica deste complexo é a ausência de clamidósporo (NIRENBERG; O'DONNELL, 1998).

Ao relacionar os gêneros fúngicos aos locais das coletas, observou-se uma distribuição homogênea dos isolados. Todas as localidades apresentaram os dois gêneros fúngicos: *Colletotrichum* e *Fusarium*, exceto a cidade de Feira Grande, de onde obteve-se somente dois isolados de *Colletotrichum*, fato que pode ser atribuído pelas poucas amostras coletadas. O gênero *Colletotrichum* e *Fusarium* são considerados espécies cosmopolitas e de ampla distribuição geográfica, principalmente em regiões de climas tropicais e subtropicais (FREEMAN et al., 1998; ALEXOPOULOS et al., 1996).

Os isolados testados de *Colletotrichum* e *Fusarium* foram patogênicos aos cladódios de pitaia de polpa branca e polpa vermelha. Foi possível observar crescimento da lesão e mudanças no tecido vegetal, culminando em escurecimento e amolecimento da superfície do tecido, onde houve a inoculação do patógeno. Resultados semelhantes foram obtidos por Moura et al., (2020).

No presente estudo, houve relatos de espécies dos gêneros *Colletotrichum* e *Fusarium*, que até o momento não tinham sido associadas à cultura da pitaia, assim, como outros patógenos que causam doenças em pitaia, que não foram encontrados neste estudo. A identificação de patógenos na cultura da pitaia é de extrema importância para a segurança fitossanitária e para o desenvolvimento de práticas agrícolas eficazes. Trabalhos que focam na identificação precisa dos agentes causadores de doenças, como fungos fitopatogênicos, são importantes para um entendimento dos vários patógenos que assolam esta cultura.

7 CONCLUSÃO

Isolados de *Colletotrichum* associados a antracnose na cultura da pitaia estão inseridos nos complexos *C. gloeosporioides* e *C. truncatum*.

Isolados de *Fusarium* associados a podridão na cultura da pitaia estão inseridos nos complexos *F. oxysporum*, *F. incarnatum-equiseti* e *F. fujikuroi*.

REFERÊNCIAS

- ABIRAMI, K.; SAKTHIVEL, K.; SHEORAN, N.; BASKARAN, V.; GAUTAM, R. K.; JERARD, B. A.; KUMAR, A. Occurrence of anthracnose disease caused by *Colletotrichum siamense* on dragon fruit (*Hylocereus undatus*) in Andaman Islands, India. **Plant Disease**, v. 103, n. 4, p. 619, 2019.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 869 p.
- ALI, A.; ZAHID, N.; MANICKAM, S.; SIDDIQUI, Y.; ALDERSON, P.G.; MAQBOOL, M. Induction of lignin and pathogenesis related proteins in dragon fruit plants in responseto submicron chitosan dispersions. **Crop Protection**, v. 63, p. 83-88. 2014.
- ANDRADE, E. R.; DUCROQUET, J. P. H. J. Comparação de diferentes métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em goiabeira serrana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 486-488, 1998.
- ANDRADE, E. M. et al. Caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p.2131, 2007.
- ANDRIOLI, J.; SCARIOT, F.J.; DELAMARE, A.P.L.; ECHEVERRIGARAY, S. Morphological characterization and molecular identification of *Colletotrichum* species associated to sweet persimmon anthracnose in Southern Brazil. **Ciência Rural**, v. 51, n. 9, 2021.
- ARAÚJO, M. B. M.; MOREIRA, G. M.; NASCIMENTO, L. V.; NOGUEIRA, G. A.; NASCIMENTO, S. R. C.; PFENNING, L. H.; AMBRÓSIO, M. M. Q. *Fusarium* rot of melon is caused by several *Fusarium* species. **Plant Pathology**, v. 70, p. 712 -721, 2021.
- ASTOLFI, P.; VELHO, A. C.; MOREIRA, V.; MONDINO, P.; ALANIZ, S. M.; STADNIK, M. J. Reclassification of the main causal agent of Glomerella leaf spot on apple into *Colletotrichum chrysophilum* in southern Brazil and Uruguay. **Phytopathology**, v. 112, n. 9, p. 1825-1832, 2022.
- BALENDRES, M. A.; BENGOLA, J.C. Diseases of dragon fruit (*Hylocereus species*): Etiology and current management options. **Crop Protection**, v. 126, 2019.
- BALENDRES, M. A.; MENDOZA, J.V.; CUEVA, F. D. Characteristics of *Colletotrichum musae* PHBN0002 and the susceptibility of popular banana cultivars to postharvest anthracnose. **Indian Phytopathology**, v.73, p.57-64, 2020.
- BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. Cactaceae. In: KUBITZKI, K.; ROHWER J. G.;BITTRICH, V. (Eds.) **Flowering plants dicotyledons. The families and genera of vascular plants**, v. 2. p. 161-197. 1993.
- BARTHANA, D.; NASIR, N. Description of symptoms and disease severity of yellow disease stem rot of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* L.) in Padang Pariaman, West Sumatera. **Journal Biology Unand**, v.2 n.3, p.222-228, 2013.

- BARRAL, B.; CHILLET, M.; DOIZY, A.; GRASSI, M.; RAGOT, L.; LÉCHAUDÉL, M.; DURAND, N.; ROSE, L.J.; VILJOEN, A.; SCHORR-GALINDO, S. Diversity and toxigenicity of fungi that cause pineapple fruitlet core rot. **Toxins**, v. 12, n. 5, p. 339, 2020.
- BECERRA, O. L. A. El cultivo de la pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). In: VILLEGAS, M. A. (Ed.). **Memorias de la primera Reunión Internacional y Segunda Nacional sobre Frutales Nativos e Introducidos con Demanda Nacional e Internacional**, Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, p. 85-92. 1994.
- BOOTH, C. **The genus *Fusarium***. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 327 p. 1971.
- BRAGANÇA, C.A.D.; DAMM, U.; BARONCELLI, R.; MASSOLA JUNIOR, N.S.; CROUS, P.W. Species of the *Colletotrichum acutatum* complex associated with anthracnose diseases of fruit in Brazil. **Fungal Biology**, v. 120, p. 547-561, 2016.
- BRAGANÇA, C. A. D. **Molecular characterization of *Colletotrichum* spp. associated with fruits in Brazil**. 2013. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- BRANKOVICS, B.; DIEPENINGEN, A. D.; DE HOOG, G. S.; VAN DER LEE, T. A. J.; WAALWIJK, C. Detecting introgression between members of the *Fusarium fujikuroi* and *F. oxysporum* species complexes by comparative mitogenomics. **Frontiers in Microbiology**, n. 11, 2020.
- CABAÑES, F. J. Phylogenetic diversity of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolated from Spanish wheat. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 106, n. 2, p. 309-317, 2014.
- CAI L. et al. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Divers**, v.39, p.183-204, 2009.
- CAJAZEIRAS, J. P. **Crescimento e ecofisiologia de pitaias cultivadas em vasos submetidas a diferentes doses de K e Ca**. 2016. 142p.Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, 2016.
- CANNON, P. F.; BUDDIE, A. G.; BRIDGE, P. D. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycotaxon**, v.104, p.189-204, 2008.
- CANNON, P. F.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, n. 1, p. 181-213, 2012.
- CANTO, C. R. A pitaya ou fruta do dragão. **Informativo Agropecuário**, v. 6, n. 1, p. 12-15, 1993.
- CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, p. 181-184, 1967.
- CAVALCANTE, Í. H. L.; MARTINS, A. B. G.; SILVA JÚNIOR, G. B.; ROCHA, L. F.; FALCÃO NETO, R.; CAVALCANTE, L. F. Adubação orgânica e intensidade luminosa no

crescimento e desenvolvimento inicial da pitaya em Bom Jesus-PI. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 970-982, 2011.

CAVALCANTE, I. H. L. **Pitaya: propagação e crescimento de plantas**. 2008 Tese (Doutorado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008.

CAVALCANTI, N. B.; SOUSA, A. H.; SILVA, T. G. F.; ZOLNIER, S.; AZEVEDO, P. V. de; SILVA, S. M. S. e; CAVALCANTE, A. C. R. Palma forrageira: cultivo e uso na alimentação animal. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 10, p. 755-760, 2017.

CHAGAS, E.A.; FLORES, P.S.; PIO, R.; CHAGAS, P.C.; ARAÚJO, M.C.R.; MAGALHÃES, H.M. Pitaya. In: PASQUAL, M.; CHAGAS, E.A. (Org.). **Cultura de Tecidos em Espécies Frutíferas**. 1. ed. Boa Vista. cap. 3, p. 237. 2014.

CORDEIRO, M. H. M.; SILVA, J. M. D.; MIZOBUTSI, G. P.; MIZOBUTSI, E. H.; MOTA, W. F. D. Physical, chemical and nutritional characterization of pink pitaya of red pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 20-26, 2015.

COSTA, J. F. O.; KAMEI, S. H.; SILVA, J. R. A.; MIRANDA, A. R. G. S. Species diversity of *Colletotrichum* infecting *annona* in Brazil. **European journal of plant pathology**. V, 153, p. 69-180, 2019.

COSTA, J. S. Efeito da temperatura e da pluviosidade na proliferação de doenças em plantas. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 34, n. 2, p. 150-158, 2012.

COSTA, S.S.; MATOS, K.S.; TESSMAN, D.J.; SEIXAS, C.D.S.; PFENNING, L.H. *Fusarium paranaense* sp. nov., a member of the *Fusarium solani* species complex causes root rot on soybean in Brazil. **Fungal Biology**, v.120, n.1, p.51-60, 2016.

CROUCH, J. A. *Colletotrichum caudatum* s.l. is a species complex. **Ima Fungus**, v. 5, n. 1, p. 17-30, 2014.

CROUS, P. W.; LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENI, M.; SEIFERT, K. A.; CHAVERRI, P.; THINES, M. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, n. 1, p. 1-184, 2021.

DAMM, U.; O'CONNELL, R. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. **Studies in Mycology**, v.79, p.49-84, 2014.

DAMM, U.; WOUTENBERG, J. H. C.; CANNON, P. F.; CROUS, P. W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, v.39, p.45-87, 2009.

DEAN, R.; VAN KAN, J.A.L.; PRETORIUS, Z.A.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; DI PIETRO, A.; PIETRO, D.S.; RUDD, J.J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G.D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

- DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 785-794, 2009.
- DONALDO, J. R. Efeito da pitaya no tratamento de doenças respiratórias. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 45-52, 2009.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, v.19, p.11–15, 1987.
- EDGAR, R. C. Muscle: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792-1797, 2004.
- IVALLO, E.; DAMM, U.; SUMALDE, A. C.; TAPAY, J.; AKRAM, N. A.; VILGALYS, R. First report of *Colletotrichum fructicola* in the Philippines. **Czech Mycology**, v. 73, n. 1, p. 79–90, 2021.
- FAN, C.; CAO, X.; LIU, M.; WANG, W. Determination of Alternaria mycotoxins in wine and juice using ionic liquid modified countercurrent chromatography as a pretreatment method followed by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1436, p. 133-140, 2016.
- FARIAS, O. R.; CRUZ, J. M. F. L.; VELOSO, J. S.; SOUZA, J. T.; DUARTE, I. G.; BARBOSA, P. R. R.; VARANDA, C. M. R.; MATERATSKI, P.; FÉLIX, M. R. F.; OLIVEIRA, M. D. M.; NASCIMENTO, L. C. *Fusarium pseudocircinatum* Causing Stunting and Malformation of Sunflower Plants in Brazil. **Diseases Caused by Fungi and Fungus-Like Organisms**, v. 34, n. 2, p. 487-498. 2022.
- FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections. **Agricultural Research Service** (ARS), United States Department of Agriculture (USDA), 2022.
- FERNANDES, L. M. S.; VIEITES, R. L.; LIMA, G. P. P.; BRAGA, C. L.; SIRTOLI, L. F.; AMARAL, J. L. Caracterização do fruto de pitaia orgânica. **Biodiversidade**, v. 16, n. 1, p. 167-178, 2017.
- FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, p. 596-605, 1998.
- FRÓES JÚNIOR, P. S. M.; CARDOSO, N. R. P.; REBELLO, F. K.; HOMMA, A. K. O.; LOPES, M. L. B. Aspectos da produção, comercialização e desenvolvimento da cultura da pitaya no estado do Pará. **Enciclopédia Biosfera**, v.16 n.29; p. 264- 279, 2019.
- GERLACH, W.; NIREMBERG, H. The genus *Fusarium*: a pictorial atlas. Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, 406 p. 1982.
- GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and environmental microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1323-1330, 1995.
- GORDON, TR.; MARTYN, R. D. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. **Annual Review of Phytopathology**, 1997.

- GREENME. **Pitaya - Propriedades curativas e várias formas de consumir**. 2017. Disponível em: <https://www.greenme.com.br/consumir/56004-pitaya-propriedades-curativas-consumir>.
- GUERBER, J. C.; Liu, B.; Correll, J.C.; Johnston, P. R. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia*, v. 95, p. 872–895. 2003.
- HA, D.; TRAN, C. R. Y. Morphological Characteristics and Pollination Requirement in Red Pitaya (*Hylocereus* spp.). **International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering**, v. 8, n. 3, p. 202-206, 2014.
- HAN, F.Y.; ZHANG, Y.T.; LIU, Z.Z.; GE, L.; WANG, L.D.; JI, Y.P.; QI, Y.K.; ZHU, W.C.; WANG, Q.H. First report of red-fleshed apple anthracnose caused by *Colletotrichum siamense*. **Plant Disease**, v. 106, n. 1, p. 317, 2022.
- HE, P. F.; HO, H.; WU, X. X.; HOU, M. S.; HE, Y. Q. *Bipolaris cactivora* causing fruit rot of dragon fruit imported from Vietnam. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 2, n.1, p. 31-35, 2012.
- HERNÁNDEZ, Y. D. O. Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* sp.). **Oaxaca**: Ed. IPN-CONACYT-SIBEJ-FMCN, n. 04, p. 124, 2000.
- HUDA-SHAKIRAH A. R.; KEE Y. J.; WONG K. L.; ZAKARIA L.; MOHD M. H. Diaporthe species causing stem gray blight of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Scientific Report**, v 11.2021.
- HYDE, K.D.; CAI, L.; CANNON, P.F.; CROUCH, J.A.; CROUS, P.W.; DAMM, U.; GOODWIN, P.H.; CHEN, H.; JOHNSTON, O.R. *Colletotrichum* Names in current use. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 147-182, 2009.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Resultados do Censo Agropecuário 2017. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/>.
- ISKANDAR, V.; ANUAR, I. S. M.; ZAKARIA, L. Characterization and Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum* Causing Stem Anthracnose of Red-Fleshed Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 1, p. 67-71, 2015.
- JAYAWARDENA, R.S.; BHUNJUN, C.S.; HYDE, K.D.; GENTEKAKI, E.; ITTHAYAKORN P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, v.12, p. 519–699, 2021.
- JÚNIOR, P. S.; CARDOSO, N. R.; REBELLO, F. K.; HOMMA, A. K.; LOPES, M. L. Aspectos da produção, comercialização e desenvolvimento da cultura da pitaya no estado do Pará. **Enciclopédia biosfera**, v.16, n.29; p. 264-279, 2019.
- JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. P.; RAMOS, J. D.; PEREIRA, A. V. Informações preliminares sobre uma espécie de pitaya do Cerrado. **Embrapa Cerrados**, 2002.
- JUNQUEIRA, K. P.; FERNANDES, D. R. **Características da pitaya e seu cultivo no Brasil**. Embrapa Cerrados. 2022.

- KARIN, M. M.; RAHMAN, M. M. E.; ISLAN, M. N.; AKHTER, M. S.; K. F.; RAHMAN, M. L.; GOSWAMI, B. K. Occurrence of stem rot disease of *Hylocereus undatus* in Bangladesh. **Indian Phytopathology**, v. 72, p. 545-549, 2019.
- KAMEI, S. H.; COSTA, J. F. O.; BRITO NETTO, M. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de anonáceas no estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 759-768, 2014.
- KELLY, J.; OLSEN, M. W. Problems and pests of agave, aloe, cactus and yucca. Arizona Cooperative Extension. **College of Agriculture and Life Sciences**, 9 p. 2011.
- KHODADADI, F.; GONZÁLEZ, J.B.; MARTIN, P.L. Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. nov. **Scientific Reports**, v. 10, p. 11043, 2020.
- KONDO, T.; MARTÍNEZ, M.; MEDINA, J. A.; REBOLLEDO, R. A.; CARDOZO, B. C. Tecnologías para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia. **Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica**, 2013.
- KOYYAPPURATH, S.; ATUAHIVA, T.; LE GUEN, R.; BATINA, H.; LE SQUIN, S.; GAUTHERON, N.; HERMANN, V. E.; JAHIEL, M.; STEINBERG, C.; LIEW, E. C. Y.; ALABOUVETTE, C.; BESSE, P.; DRON, M.; SACHE, I.; LAVAL, V.; GRISONI, M. *Fusarium oxysporum* f. sp. radicle-vanillae is the causal agent of root and stem rot of vanilla. **Plant Pathology**, v. 65, p. 612-625, 2016.
- LAURENCE, M. H.; SUMMERELL, B. A.; BURGESS, L.W.; LIEW, E. C. Y. Genealogical concordance phylogenetic species recognition in the *Fusarium oxysporum* species complex. **Fungal Biology**, v. 118. p.374-384, 2014.
- LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, n. 4, p. 237-250, 2006.
- LEONG, H. Y.; SHOW, P. L.; LIM, M. H.; OOI, C. W.; LING, T. C. Natural red pigments from plants and their health benefits: a review. **Food Reviews International**, v. 34, n. 5, p. 463-482, 2017.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B.A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell Publishing, 2006.
- LIMA, C. A. **Caracterização, propagação e melhoramento genético de pitaya comercial e nativa do cerrado**. 2013. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.
- LIU, M.; ZHANG, W.; ZHOU, Y.; LIU, Y.; YAN, J. Y.; LI, X. H.; HYDE, K. D. First report of twig anthracnose on grapevine caused by *Colletotrichum nymphaeae* in China. **Plant Disease**, v. 100, n. 12, p. 2530-2530, 2016.

- LIU, Y.; TANG, J.; ZHOU, Y. Identification and description of a new pathogen causing flower dry rot on *Passiflora edulis* in China. **Plant Disease**, v. 105, n. 7, p. 1967-1975, 2021.
- LONE, A. B.; BELTRAME, A. B.; SILVA, D. A.; GUIMARÃES, G. G. F.; DE HARO, M. M.; MARTINS, R. S. **Cultivo de Pitaia**. Boletim Técnico, n.196, 2020.
- LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; LAMPRECHT, S. C.; CROUS, P. W. Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos. Persoonia - **Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, p. 1-47, 2019.
- MASYAHIT, M.; SIJAM, K.; AWANG, Y.; GHAZALI, M. First report on bacterial soft rot disease on dragon fruit (*Hylocereus spp.*) caused by *Enterobacter cloacae* in peninsular Malaysia. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, n. 6, p. 659-666, 2009.
- MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 486 p. 2011.
- MATOS, S.; MACHADO, J. F.; CHAGAS, P. C.; SIQUEIRA, R. H. S.; SILVA, G. F.; XAVIER FILHA, M. S.; LIMA-PRIMO, H. E.; CHAGAS, E. A. Primeiro relato de *Colletotrichum aeshynomenes* e *C. tropicale* causando antracnose em *Myrciaria dubia* no Brasil. **Plant Disease**, v. 104, n. 11, p. 2975, 2020.
- MARTÍNEZ, R. C.; DIOS, H. C. Contenido nutricional de três espécies de pitahaya (*Hylocereus*). **Agricultura Tropical**, v. 33, n. 1, p. 86-92, 1996.
- MARYANI, N.; LOMBARD, L.; POERBA, Y. S.; SUBANDIYAH, S.; CROUS, P. W.; KEMA, G. H. J. Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. **Studies in Mycology**, v. 92, n. 1, p. 155-194, 2019.
- MÉNDEZ-GALLEGOS, S. J. Identificación y control de las principales enfermedades del nopal. **Revista Salud Pública y Nutrición**, v. 2, p. 2 – 13, 2008.
- MELLO, A. F. S.; MACHADO, A. C. Z.; BEDENDO, I. P. Development of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from green pepper in different culture media, temperatures, and light regimes. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 5, p. 542-544, 2004.
- MILANESI, P. M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de Fusarium spp. em genótipos de soja em sistema plantio direto**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) apresentada a Universidade Federal de Santa Maria. 2009.
- MILLER, M.A. 2010. CIPRES Science Gateway survey results. <http://www.phylo.org/tools/survey2.html>
- MIRANDA-CASTRO, S. P. Application of Chitosan in Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. **Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities**, p. 67-113, 2016.
- MICHEREFF, S.J.; DOMINGOS, E. G. T.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. p.1 – 18. **Imprensa Universitária**, 2005.

- MOLINA, D. J.; CRUZ, J. S. V.; QUINTO, C. D. V. **Producción y exportación de la pitahaya hacia el mercado europeo**. Monografía (Especialización en Finanzas) - Facultad de Economía y Negocios, 2009.
- MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; SILVA, F. O. R.; MARQUES, V. B. Boletim técnico - cultivo da pitaia: implantação. **Boletim técnico**, nº 92, p 1-16, 2012.
- MOREIRA, R. C.; MUNIN, E.; MORAES, P. M. A pitaya e seu valor comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 345-355, 2011.
- MORITZ, A. **Substrato e luz na emergência e no desenvolvimento inicial de pitaia**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, 2012.
- MOURA, N. M. **Doenças fúngicas da cultura da pitaia**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, 2020.
- MUNIR, M.; AMSDEN, B.; DIXON, E.; VAILLANCOURT, L.; GAUTHIER, N. A. W. Characterization of *Colletotrichum* species causing bitter rot of apple in Kentucky orchards. **Plant Disease**, v. 100, n. 10, p. 2194-2203, 2016.
- NASCIMENTO, A. D. **Identificação de *Colletotrichum* spp. e *Neopestalotiopsis* spp., associadas a doenças foliares do cacauieiro**. Tese (Doutorado em Fitopatologia) — Universidade Federal de Alagoas, 2019.
- NASCIMENTO, T.; L. **Diversidade de fungos endofíticos de aceroleira, potencial antagônico frente ao agente da antracnose e caracterização molecular de isolados de *colletotrichum* spp.** Tese (doutorado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco, 2014.
- NIEHAUS, E.; VON, B. K.; W.; ESPINO, J. J.; PFANNMÜLLER, A.; HUMPF, H.; TUDZYNSKI, B. Characterization of the fusaric acid gene cluster in *Fusarium fujikuroi*. **Applied microbiology and biotechnology**, p. 1-14, 2014.
- NUNES, E.N.; SOUSA, A.S.B.; LUCENA, C.M.; SILVA, S.M.; LUCENA, R.F.P.; ALVES, C.A.B.; ALVES, R.E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v.8, n.1, p.90-98, 2014.
- NIRENBERG, H.I.; O'DONNELL, K. New *Fusarium* species and the combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v. 90, p. 434-458, 1998.
- O'DONNELL, K.; AL-HATMI, A. M. S.; AOKI, T.; BRANKOVICS, B.; CANO-LIRA, J.F., COLEMAN, J.J.; DE HOOG, G. S. No to Neocosmospora: phylogenomic and practical reasons for continued inclusion of the *Fusarium solani* species complex in the genus *Fusarium*. **Sphere**, v.5, p.810-20, 2020.
- O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 7, p. 103, 1997.

O'DONNELL, K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca*–*Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, v. 92, p. 919–938, 2000.

O'DONNELL, K.; WARD, T.J.; ROBERT, V.A.R.G.; CROUS, P.W.; GEISER, D.M.; SEOGCHAN, K. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. **Phytoparasitica** v.43. p. 583–595, 2015.

OLIVEIRA, E. A. Produção de frutas tropicais no Brasil: Distribuição sazonal e aspectos econômicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 2, p. 123-135, 2019.

OLIVEIRA, J.; VIANA, I. G.; DHEIN, L. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G. Pitaya: 200 formas de utilização em receitas doces e salgadas. **Embrapa Cerrados**, 2023.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. FAO. FAOSTAT. Divisão de estatística. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>.

PACHECO, M. C.; SOTO, D.; VÁSQUEZ, L. A.; LIMA, N. B.; TOVAR, J. M. First Report of *Colletotrichum chrysophilum* Causing Papaya Anthracnose in Mexico. **Plant Disease**, v. 106, p. 3213, 2022.

PALMATEER, A.J.; PLOETZ, C. First Occurrence of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on pitahaya. **Plant Disease**, v. 91, n. 5, p. 631-631, 2007.

PARK, M.J.; BACK, C.G.; PARK, H. *Colletotrichum cymbidiicola* Causing Anthracnose on *Cymbidium* Orchids in Korea. **Mycobiology**, v. 48, n. 4, p. 321-325, 2020.

PASQUALI, M.; BEYER, M.; LOGRIECO, A.; AUDENAERT, K.; BALMAS, V.; BASLER, R.; BOUTIGNY, A.L.; A European database of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* trichothecene genotypes. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p.1-11, 2016.

PEREIRA, I. S.; ABREU, M. S. de; ALVES, E.; FERREIRA, J. B. Estudos histopatológicos da interação *Colletotrichum gloeosporioides* – Cafeeiro. *Bragantia*, v. 68, n. 1, p. 117-123, 2009.

PET AGRONOMIA. Boletim Pitaya UFSJ. São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei, 2017. Disponível em: <https://issuu.com/petagronomia/docs/boletim_pitaya_ufsj>.

PENHA, D.M. **Sombreamento e densidade de plantio no vingamento de botões florais na cultura da pitaia vermelha (*hylocereus* sp.)** Trabalho de conclusão de curso, graduação (Agronomia), Universidade Federal do Ceará, 2019.

PIERANGEL, E. C. G. **Espécies de fungos e bactérias associados à cultura da pitaia e avaliação de estádios de maturação na qualidade do fruto** . Tese((Doutorado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

PINARIA, A. G.; LIEW, E. C. Y.; BURGESS, L. W. *Fusarium* species associated with vanilla stem rot in Indonesia. **Australasian Plant Pathology**, v. 39, n. 2, p. 176-183, 2010.

PIO, L.A.S.; RODRIGUES, M.A.; SILVA, F.O.R. **O Agronegócio da Pitaia**. 321 p. 2020.

- PFENNING, L. H.; MARTINS, M. F. Espécies de *Fusarium* associados ao cafeeiro na região sul de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, **Embrapa Café** v. 1, p. 325- 326. Embrapa Café, 2000.
- POLETTTO, T.; MACIEL, C. G.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E.; T. POLETTTO; HARAKAWA, R.; BAGIOTTO, C. First report of *Fusarium lacertarum* causing Damping-Off in *Casuarina equisetifolia* in Brazil. **Plant Disease**, v.99, n.7, p.1040, 2015.
- POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology**, v. 53, p. 793-808, 2004.
- QIU, F.; YANG, J.; XIE, C.; LI, X.; LI, J.; ZHENG, F. Q. First Report of *Bipolaris cactivora* Causing Flower Rot of Pitaya (*Hylocereus costaricensis*) in China. **Plant Disease**, 2020.
- REZENDE, I. F.; SOUSA, A. C. G.; SUAREZ, N. F.; ROCHA, C. C.; RUFINI, J. C. M. Cultivo da pitiaia. **Boletim pitaia**, Universidade Federal de São João Del Rei, 2017.
- REEB, V.; LUTZONI, F.; ROUX, C. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, p. 1036-1060, 2004.
- RITA, W.S.; SUPRAPTA, D.N.; SUDANA, I.M.; SWANTARA, I.M.D. First report on *Fusarium solani*, a pathogenic fungus causing stem rot disease on dragon fruits (*Hylocereus* sp.) in Bali. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v.3, n.17, p.93-99, 2013.
- RODRIGUES, A. L.; PINHO, D. B.; LISBOA, D. O.; NASCIMENTO, R. J.; PEREIRA, O. L.; ALFENAS, A. C.; FURTADO, G. Q. *Colletotrichum theobromicola* causes defoliation, stem girdling and death of minicuttings of eucalyptus in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, p. 326-330, 2014.
- ROJAS, A.; REBOLLEDO, D.; KONDO, J.; TORO, Y.; OROZCO, M. **Pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus)**. Plegable divulgativo. Valle del Cauca: Centro de Investigación Palmira, 2008.
- ROJAS, E. I.; REHNER, S. A.; SAMUELS, G. J.; VAN BAELE, S. A.; HERRE, E. A.; CANNON, P.; CHEN, R.; PANG, J.; WANG, R.; ZHANG, Y.; PENG, Y. Q.; SHA, T. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. *Mycology*, **New York**, v. 102, p. 1318–1338, 2010.
- RONQUIST, F.; KLOPFSTEIN, S.; VILHELMSEN, L.; SCHULMEISTER, S.; MURRAY, D. L.; RASNITSYN, A. P. A total-evidence approach to dating with fossils, applied to the early radiation of the Hymenoptera. **Systematic Biology**, v. 61, n. 6, p. 973-999, 2012.
- SALAZAR, G. C.; SERNA, C. L.; GÓMEZ, L. Z. Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). **Agronomía Mesoamericana**, v. 27, n. 2, p. 277-285, 2016.

SANTIAGO, M. F.; SANTOS, A. M. G.; INÁCIO, C. P.; et al. First report of *Fusarium lacertarum* causing cladode rot in *Nopalea cochenellifera* in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 100, p. 611, 2018.

SANTOS, J. M. **Espécies de *Fusarium* causando podridão seca em frutos de pimenta malagueta na Zona da Mata Pernambucana**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2022.

SANTOS, V. R.; ANDRADE, I. F.; SANTIAGO, L. J. M.; LOURO, R. P. Análise ultra estrutural e anatômica do cladódio de *Opuntia vulgaris* (cactaceae). In: 64º **Congresso Nacional de Botânica**, 2013.

SANTOS, A. C. D. S.; TRINDADE, J. V. C.; LIMA, C. S.; BARBOSA, R. D. N.; COSTA, A. F.; TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T. Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. **Mycologia**, v. 111, n. 2, p. 244-259, 2019.

SERRA, I. M. de S.; SILVA, G. S. Caracterização morfofisiológica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* agente de antracnose em frutíferas no Maranhão. **Summa Phytopathologica**, v.30, p. 475-480, 2004.

SHARMA, G.; MAYMON, M.; FREEMAN, S. Epidemiology, pathology and identification of *Colletotrichum* including a novel species associated with avocado (*Persea americana*) anthracnose in Israel. **Scientific Reports**, v. 7, p. 15839, 2017.

SILVA-CABRAL, J. R. A.; BATISTA, L. R. L.; COSTA, J. F. O.; FERRO, M. M.; SILVA, S. J. C.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. First report of *Colletotrichum tropicale* causing anthracnose on pomegranate in Brazil. **Plant Disease**, v. 103, n. 10, p. 2660, 2019.

SOBRAL, R. R. S.; DOS SANTOS, R. C.; DE JESUS, M. O.; ALVES, P. F. S.; MIZOBUTSI, G. P.; NUNES, V. X.; MIZOBUTSI, E. H. Effect of ripening stages on shelf life and quality of pitaya fruits during storage. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 41, n. 5, p. 1-12, 2019.

SONG, H.; ZHENG, Z.; WU, J.; LAI, J.; CHU, Q.; ZHENG, X. White pitaya (*Hylocereus undatus*) juice attenuates insulin resistance and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 2, p. e0148143, fev. 2016.

SUÁREZ, R. **Evaluación de métodos de propagación em pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (Haw.) Britt & Rose y pitahaya roja *Hylocereus polyrhizus* (Haw.) Britt & Rose**. Tesis (MSc.). Universidad Nacional de Colômbia, Palmira, Colômbia, 2011.

SUMMERELL, B. A. Resolving *Fusarium*: current status of the genus. **Annual Review of Phytopathology**, v. 57, n. 1, p. 323-339, 2019.

SUTTON, B. C. The Genus *Glomerella* and Its Anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, p. 1-26. 1992.

- STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. D. The Staden Package, 1998. In: MISENER, S.; KRAWETZ, S. A. (Eds.). **Computer Methods in Molecular Biology**, v. 132, p. 115-130. 1998.
- TAVARES, H. C. C. S.; COSTA, O. S. V.; SANTOS, C. F. V. Manejo da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) na produção integrada de manga. **Instruções Técnicas de Embrapa Semiárido**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2005.
- VALENCIA-BOTÍN, A. J.; KOKUBU, H.; ORTÍZ-HERNÁNDEZ, Y. D. A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. **Australasian Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 437-440, 2013.
- VARÓN, F. Enfermedades de la pitahaya y su manejo. **Revista Asiava**, v. 73, p.19- 21, 2006.
- VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**, v.109, n.6, p.912-934, 2018.
- WANG, Y.-C.; LIU, J.-H.; HUANG, C.-C.; HONG, C.-F. First report of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) stem rot caused by *Diaporthe ueckerae* in Taiwan. **Plant Disease**, 2021.
- WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**. v. 73, p. 115-180, 2012.
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S. J. W. T.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNOCENTI, S. A. (Ed.). **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. New York: Academic Press, v. 18, n. 1, p. 315-322. 1990.
- WIGMANN, É. F.; BEHR, J.; VOGEL, R. F.; NIESSEN, L. MALDI-TOF MS fingerprinting for identification and differentiation of species within the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 13, p. 5323-5337, 2019.
- WIWIK, S.; DEWA, N.; MADE, S. First report on *Fusarium solani*, a pathogenic fungus causing stem Made.rot disease on dragon fruits (*Hylocereus* sp.) in Bali. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**,v. 3, p. 93-99. 2013.
- YANG, Y. L.; CAI, L.; YU, Z.; LIU, Z.; HYDE, K. D. *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. **Cryptogamie, Mycologie**, v. 32, p. 229–253, 2012.
- ZAUZA, E. A. V., ALFENAS, A. C., MAFIA, G. R. Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos. In: ALFENAS, C. A. & MAFIA, R. G. (eds.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, p. 42, 2007.
- ZHAO H, CHEN S, CHEN Y, ZOU C, WANG X, WANG Z, LIU A., AHAMMED G. First Repor Red Dragon Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) Anthracnose Caused by *Colletotrichum Siamense* in China. 2018.
- ZHANG, X.; XIA, J.; LIU, J.; ZHAO, D.; KONG, L.; ZHU, X. First report of *Fusarium pernambucanum* causing fruit rot of muskmelon in China. **Plant Disease**. 2021.

