



ELAINE CRISTINA GALVÃO PIERANGELI

**ESPÉCIES DE FUNGOS E BACTÉRIAS ASSOCIADOS À
CULTURA DA PITAIA E AVALIAÇÃO DE ESTÁDIOS DE
MATURAÇÃO NA QUALIDADE DO FRUTO**

LAVRAS-MG

2019

ELAINE CRISTINA GALVÃO PIERANGELI

**ESPÉCIES DE FUNGOS E BACTÉRIAS ASSOCIADOS À CULTURA DA PITAIA E
AVALIAÇÃO DE ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO NA QUALIDADE DO FRUTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de
concentração em Produção Vegetal, para a obtenção
do título de Doutor.

Orientadora

Profa. Dra. Leila Aparecida Salles Pio

Coorientador

Prof. Dr. José Darlan Ramos

LAVRAS-MG

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pierangeli, Elaine Cristina Galvão.

Espécies de fungos e bactérias associados à cultura da pitaia e
avaliação de estádios de maturação na qualidade do fruto / Elaine
Cristina Galvão Pierangeli. - 2019.

107 p. : il.

Orientador(a): Leila Aparecida Salles Pio.

Coorientador(a): José Darlan Ramos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. *Bipolaris cactivora*. 2. Pitaia. 3. Pós-colheita. I. Pio, Leila
Aparecida Salles. II. Ramos, José Darlan. III. Título.

ELAINE CRISTINA GALVÃO PIERANGELI

**ESPÉCIES DE FUNGOS E BACTÉRIAS ASSOCIADOS À CULTURA DA PITAIA E
AVALIAÇÃO DE ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO NA QUALIDADE DO FRUTO**

**SPECIES OF FUNGI AND BACTERIA ASSOCIATED WITH PITAIA CULTURE AND
EVALUATION OF MATURATION STAGES IN FRUIT QUALITY**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de
concentração em Produção Vegetal, para a obtenção
do título de Doutor.

Aprovada em 16 de abril de 2019.

Prof ^a . Dra. Ana Cláudia Costa	UNEMAT
Prof. Dr. Disney Ribeiro Dias	UFLA
Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning	UFLA
Prof ^a . Dra. Paula Nogueira Curi	UFLA

Profa. Dra. Leila Aparecida Salles Pio
Orientadora

LAVRAS – MG
2019

*Ao meu esposo Eduardo, ao meu filho Enzo Gabriel,
aos meus pais, Roberto e Marlene, e às minhas irmãs Laíssa e Lívia.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e ao Espírito Santo, por sempre estarem comigo, em todos os momentos, iluminando minha mente e meus caminhos, confortando-me e dando forças para que a realização deste sonho fosse concretizada.

À minha família, por tudo que sempre fizeram e fazem por mim.

Ao meu esposo Eduardo, pelo amor, paciência e compreensão.

Ao meu filho Enzo Gabriel, maior presente de Deus em minha vida.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida de poder aprimorar ainda mais meus estudos, através do Doutorado.

À minha orientada, Prof^a. Dr^a. Leila Aparecida Salles Pio, por ter me acolhido como orientada, pela amizade, alegria, humildade, confiança, dedicação, e pelos inúmeros auxílios no decorrer da tese, sem medir esforços. Minha eterna gratidão!

Ao Prof. Dr. José Darlan Ramos, pela coorientação e amizade.

A todos os amigos conquistados e funcionários do Setor de Fruticultura da UFLA, especialmente ao Evaldo e Arnaldo, pela disponibilidade e inúmeros auxílios no decorrer da implantação e condução do experimento.

Ao Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning, pela atenção, confiança e disponibilidade em nos ajudar na condução do experimento, bem como pelos conselhos. Minha eterna gratidão!

Aos amigos do Laboratório de Micologia do Departamento de Fitopatologia da UFLA, Nevenka, Acleide, Marileide, Edinho, Bárbara, Cláudia e Aline, pelas inúmeras ajudas no decorrer do experimento. Minha eterna gratidão!

A todos os membros da banca por terem aceitado participar da minha defesa.

À secretária do programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia - Departamento de Agricultura (DAG), Marli Túlio, por todas as informações repassadas e atenção.

Aos amigos da Pós-Graduação e da Fruticultura Tropical, pela amizade, convívio, ajuda no decorrer do curso, e ensinamentos, em especial à Deniete, Angélica, Neilton, Mayara, Felipe, Otávio, Paula, Martinha, Renata, Mateus, Elisson, Leonardo, Paulyene, Glória e Fran, pela disponibilidade em ajudar, amizade e ensinamentos.

A Natália, minha psicóloga, pelo direcionamento nos momentos mais difíceis enfrentados na caminhada. Minha eterna gratidão!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

A pitia é uma frutífera promissora para o cultivo. Porém seu cultivo está sendo afetado por várias doenças causadas por fungos e bactérias, além da curta vida útil pós-colheita dos frutos. Objetivou-se com este trabalho (i) identificar a diversidade de espécies de fungos associadas ao cultivo da pitia (ii) isolar e identificar bactérias presentes na polpa de frutos sintomáticos de pitia (iii) avaliar a qualidade de frutos colhidos em três níveis de coloração do exocarpo. No primeiro experimento, para o isolamento dos fungos, utilizou-se fragmentos de material vegetal, desinfestados, incubados em placas de Petri com meio malte (MA2%). Os 45 isolados de fungos obtidos foram agrupados em morfotipos e identificados até o nível de gênero e espécie. Oito isolados monospóricos das espécies do complexo *Fusarium fujikuroi* (FFSC) foram identificados por morfotipo. Foram realizados cruzamentos com isolados testadores das espécies. Realizou-se análise de filogenia molecular nos isolados *Bipolaris cactivora* (CML 4000) e *Alternaria alternata* (CML 4001 e CML 4062). Cinco isolados dos gêneros *Fusarium*, *Bipolaris* e *Alternaria* foram testados quanto à patogenicidade em frutos e cladódios. Os caracteres morfológicos das fases assexuada e sexuada dos isolados do FFSC foram de acordo com a literatura. Para o isolado do morfotipo *Fusarium proliferatum* não houve cruzamentos férteis, não sendo possível identificar o *mating type* e confirmar sua identidade. Para os sete isolados de *Fusarium verticillioides*, todos foram identificados como idiomorfo MAT-2. Pela análise filogenética, os isolados CML 4001 e CML 4062 foram identificados como *Alternaria alternata* e CML 4000 como *Bipolaris cactivora*. As espécies *Bipolaris cactivora*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticillioides* e *Alternaria alternata* são patogênicas a cladódios e frutos de pitia. Foi descrita pela primeira vez no Brasil, a ocorrência de *Bipolaris cactivora* em cladódios e frutos de pitia maduros. Foi constatada a associação dos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Botryosphaeria*, *Bipolaris* e *Fusarium* em associação com a pitia. No segundo experimento, para o isolamento e identificação das bactérias foram utilizadas alíquotas de 10 g da polpa de frutos de pitia com e sem sintomas, diluídas em 90 mL de água peptona estéril e homogeneizadas em Stomacher® por 2 minutos. A contagem dos microrganismos foi realizada em ágar YEPG e a identificação pelo perfil proteico dos isolados em MALDI-TOF MS. Pela análise química mineral verificou-se que frutos com sintomas de mancha gelatinosa apresentaram composição mineral maior para os micronutrientes boro, cobre e manganês. Foram identificadas as bactérias *Sphingobacterium multivorum*, *Microbacterium testaceum*, *Pseudomonas rhodesiae*, *Microbacterium arborescens*, *Enterobacter asburiae*, *Microbacterium imperiale* e *Kocuria kristinae* em polpas de pitia com sintomas da mancha gelatinosa. No terceiro experimento, para determinação do ponto de colheita, foram coletados frutos em três níveis de coloração do exocarpo (25%, 50% e 75%, respectivamente). Para a interação níveis de coloração do exocarpo x espécies houve efeito significativo para massa do fruto, firmeza da polpa, pH, sólidos solúveis e acidez. Para o nível de coloração do exocarpo foram verificados efeitos significativos para todas as variáveis, excetuando a massa do fruto. Com relação às espécies foi verificado efeito significativo para espessura do exocarpo, diâmetro transversal e formato do fruto. Diferenças importantes nas características massa do fruto, firmeza da polpa, pH, sólidos solúveis e acidez são encontradas ao se comparar os frutos das espécies de polpa vermelha e branca. É indicado que os frutos sejam colhidos no nível 3 de coloração do exocarpo, com 75% de coloração rosa do exocarpo.

Palavras-chave: *Bipolaris cactivora*. Complexo fujikuroi. Fitopatógenos. *Hylocereus* sp. Microrganismos. Pós-colheita.

ABSTRACT

Pitaya is a promising fruit for cultivation. However, its cultivation is being affected by several diseases caused by fungi and bacteria, as well as the short post-harvest life of the fruits. It was aimed at this work; (i) identifying the diversity of fungi species associated with Pitaya culture; (ii) isolating and identifying bacteria present in the pulp of symptomatic Pitaya fruits; (iii) evaluating the fruits quality harvested at three exocarp staining levels. In the first experiment, for the fungi isolation, fragments of plant material were used disinfested, incubated in petri dishes with malt (MA2%). Forty-five fungi isolates obtained were grouped into morphotypes and identified up to the level of genus and species. Eight monosporic isolates from the *Fusarium fujikuroi* (FFSC) species were identified by morphotype. Crosses were performed with testers isolated of species. Molecular phylogeny analysis was performed on isolates *Bipolaris cactivora* (CML 4000) and *Alternaria alternata* (CML 4001 and CML 4062). Five isolates from the *Fusarium*, *Bipolaris* and *Alternaria* genus were tested for pathogenicity in fruits and cladodes. The morphological characters of the asexual and sexed phases from FFSC isolates were according to the literature. For the *Fusarium proliferatum* morphotype isolate there were no fertile crosses, and it was not possible to identify the mating type and confirm its identity. For all seven *Fusarium verticillioides* isolates were identified as MAT-2 idiomorph. By phylogenetic analysis, isolates CML 4001 and CML 4062 were identified as *Alternaria alternata* and CML 4000 as *Bipolaris cactivora*. *Bipolaris cactivora*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticillioides* and *Alternaria alternata* species are pathogenic to cladodes and pitaya fruits. It was described for the first time in Brazil, the *Bipolaris cactivora* occurrence in cladodes and ripe pitaya fruits. It was found the association of the *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Botryosphaeria*, *Bipolaris* and *Fusarium* genera in association with the pitaya. In the second experiment, for the bacteria isolation and identification, aliquots were used, 10 g of the pitaya pulp fruit with and without symptoms diluted in 90 mL of sterile peptone water and homogenized in Stomacher® for 2 minutes. The microorganisms counting were carried out in YEPG agar and the identification by the protein profile of the isolates in MALDI-TOF MS. By mineral chemical analysis it was observed that fruits with symptoms of gelatinous spot had a higher mineral composition for micronutrients boron, copper and manganese. *Sphingobacterium multivorum*, *Microbacterium testaceum*, *Pseudomonas rhodesiae*, *Microbacterium arborescens*, *Enterobacter asburiae*, *Microbacterium imperiale* and *Kocuria kristinae* bacteria were identified in pitaya pulps with gelatinous spot symptoms. In the third experiment, fruits were collected at three levels of exocarp staining (25%, 50% and 75%, respectively) to determine the harvest point. For the interaction exocarp coloration levels x species had significant effect for fruit mass, pulp firmness, pH, soluble solids and acidity. For the levels of exocarp staining, significant effects were verified for all the variables, excepting the fruit mass. Regarding the species, a significant effect was verified for exocarp thickness, transverse diameter and fruit shape. Important differences in fruit mass characteristics; pulp firmness, pH, soluble solids and acidity are found when comparing red and white fruits of pulp species. It is indicated that the fruits are harvested at level 3 of exocarp staining, with 75% exocarp pink staining.

Keywords: *Bipolaris cactivora*. Fujikuroi complex. Phytopathogens. *Hylocereus* sp. Microorganisms. Post-harvest.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Isolados obtidos de pitaia.....	34
Tabela 2	Isolados de <i>Alternaria</i> utilizados no estudo.....	40
Tabela 3	Isolados de <i>Bipolaris</i> utilizados no estudo.....	42
Tabela 4	Relação dos cruzamentos entre isolados das espécies <i>F. proliferatum</i> e <i>F. verticillioides</i> com seus respectivos testadores.....	51
Tabela 5	Comprimento (C) e largura (L), (cm), das lesões dos isolados de <i>F. proliferatum</i> , <i>Bipolaris cactivora</i> , <i>F. verticillioides</i> , <i>Alternaria alternata</i> inoculados em cladódios de pitaia.....	53

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Composição mineral da polpa de frutos de pitaia vermelha sadios e com sintomas de mancha gelatinosa.....	75
Tabela 2	Bactérias identificadas na polpa de frutos com sintomas pela técnica de MALDI-TOF MS e caracterização do morfotipo das colônias bacterianas.....	76

CAPÍTULO 4

Tabela 1	pH (pH), sólidos solúveis (SS), massa do fruto (MF) e firmeza da polpa (FP) de frutos de pitaias <i>H. undatus</i> e <i>H. polyrhizus</i> colhidos em três níveis de coloração do exocarpo.....	93
Tabela 2	Massa do exocarpo (ME), massa da polpa (MP), rendimento de polpa (RE), espessura do exocarpo (EE), formato do fruto (FF), diâmetro transversal (DT) de frutos de pitaias <i>H. undatus</i> e <i>H. polyrhizus</i> colhidos em três níveis de coloração do exocarpo.....	95
Tabela 3	Espessura do exocarpo (EE), diâmetro transversal (DT) e formato do fruto (FF) de frutos das espécies de pitaias <i>H. undatus</i> e <i>H. polyrhizus</i>	97
Tabela 4	Coloração da polpa de frutos de <i>H. undatus</i> e <i>H. polyrhizus</i> colhidos em diferentes níveis de coloração do exocarpo.....	98
Tabela 5	Coloração do exocarpo de frutos de <i>H. undatus</i> e <i>H. polyrhizus</i> colhidos em diferentes níveis de coloração do exocarpo.....	100
Tabela 6	Coloração das brácteas de frutos de <i>H. undatus</i> e <i>H. polyrhizus</i> colhidos em diferentes níveis de coloração do exocarpo.....	103

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1	Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Alternaria</i> , usando sequências de <i>Plasma membrane ATPase</i> . <i>Pleospora herbarum</i> e <i>Pleospora tarda</i> , utilizados como <i>outgroup</i>	48
Figura 2	Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Bipolaris</i> , usando sequências de ITS. <i>Alternaria alternata</i> foi utilizada como <i>outgroup</i>	50
Figura 3	Marcadores morfológicos das espécies de <i>Bipolaris</i> , <i>Alternaria</i> e <i>Fusarium</i>	52
Figura 4	A- Cladódios inoculados com (CML 4058) <i>F. proliferatum</i>	54
Figura 5	Sintomas em frutos após 6 dias de inoculação.....	56

CAPÍTULO 3

Figura 1	Dendrograma do agrupamento hierárquico de bactérias obtidas da polpa de frutos de pitaia identificadas pela técnica MALDI-TOF MS.....	81
-----------------	---	----

CAPÍTULO 4

Figura 1	Níveis de maturação de frutos das espécies <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizus</i> colhidos na Universidade Federal de Lavras, UFLA.	90
-----------------	---	----

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	14
1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Origem, botânica e taxonomia	14
2.2	Importância da cultura.....	14
2.3	Qualidade pós-colheita.....	16
2.4	Pragas e doenças no cultivo da pitaia	18
2.5	Doenças fúngicas	19
2.5.1	Antracnose.....	19
2.5.2	Podridões por <i>Fusarium</i>.....	19
2.5.3	Podridões por <i>Bipolaris Cactivora</i>	20
2.5.4	Mancha de <i>Alternaria</i>	20
2.5.5	Cancro da pitaia.....	21
2.5.6	Olho de Peixe.....	21
2.6	Doenças bacterianas	21
2.6.1	Podridão aquosa do cladódio.....	22
	REFERÊNCIAS.....	23
	CAPÍTULO 2 DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE FUNGOS ASSOCIADAS A FRUTOS E CLADÓDIOS DA PITAIA (<i>HYLOCEREUS UNDATUS</i>)	30
1	INTRODUÇÃO	32
2	MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1	Isolamento.....	33
2.1.2	Obtenção dos isolados e preservação	33
2.2	Caracterização morfológica.....	38
2.3	Extração de DNA, PCR e análises filogenéticas.....	38
3	Testes de patogenicidade	42
3.1	Método da injeção da suspensão de conídios.....	42
3.1.1	Patogenicidade em cladódios	43
3.1.2	Patogenicidade em frutos	44
3.1.2.1	Método de injeção da suspensão de conídios.....	44
3.1.2.2	Método do Carborundum	44
3.2	Identificação de <i>mating type</i> e indução da fase sexuada.....	45
4	RESULTADOS	47
4.1	Análise filogenética	47
4.2	Determinação de <i>mating types</i> e teste de compatibilidade sexual.....	50
4.3	Caracterização morfológica.....	51
4.4	Teste de patogenicidade.....	52
4.4.1	Cladódios	52
4.5	Frutos	55
4.5.1	Frutos verdes.....	55
4.5.2	Frutos maduros.....	55

5	DISCUSSÃO	58
6	CONCLUSÕES.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65
	CAPÍTULO 3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS EM POLPA DE PITAIA VERMELHA (<i>HYLOCEREUS UNDATUS</i>) COM SINTOMA DE ‘MANCHA GELATINOSA’	69
1	INTRODUÇÃO	71
2	MATERIAL E MÉTODOS	73
2.1	Local de coleta e amostragem dos frutos.....	73
2.2	Análises químicas	73
2.3	Análises microbiológicas	74
2.3.1	Isolamento dos microrganismos	74
2.3.2	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis (MALDI-TOF MS)	74
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4	CONCLUSÕES.....	82
	REFERÊNCIAS.....	83
	CAPÍTULO 4 PONTO DE COLHEITA NA QUALIDADE DE FRUTOS DE PITAIA DE POLPA BRANCA E VERMELHA	86
1	INTRODUÇÃO	88
2	MATERIAL E MÉTODOS	90
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	92
3.1	Análises físico-químicas.....	92
3.2	Análises de coloração	97
	CONCLUSÕES.....	105
	REFERÊNCIAS.....	106

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

Em um mercado de frutas tropicais aberto a novidades, tornou-se promissor o cultivo da pitaita. Essa cactácea frutífera, originária das florestas tropicais das Américas, é apreciada por sua aparência exótica, características sensoriais, nutracêuticas, ornamentais e alto valor comercial.

Enquanto seu cultivo já está estabelecido em países como México, Israel, China, Estados Unidos e Malásia, no Brasil o plantio é incipiente e não existem informações sobre fitopatógenos associados. No intuito de contribuir para a sustentabilidade da cultura foram investigados os fungos que podem ser encontrados em associação com a parte vegetativa (cladódios) e os frutos, considerando-se que fitopatógenos podem afetar não somente a produtividade, mas a qualidade e, conseqüentemente, o valor comercial dos frutos.

A maior parte da produção dos frutos é destinada ao consumo *in natura*, assim, as características físico-química, sensoriais e fitossanitárias são de grande importância para agregação ao valor comercial.

A pitaita é considerada uma planta rústica, sendo poucos os problemas ocasionados na cultura por pragas e doenças. No entanto, recentemente, há relatos das mais diversas regiões do Brasil, destacando-se o Sul do estado de Minas Gerais, da ocorrência de podridão aquosa nos cladódios, com lesões na planta adulta evoluindo para a degradação completa da planta. Lesões no exocarpo e polpa dos frutos também têm comprometido a produção. No exocarpo, as lesões são irregulares, com coloração inicialmente amarela e região central marrom, expandindo e, eventualmente, coalescendo, principalmente na parte superior dos frutos, desencadeando em uma podridão negra, com aspecto cotonoso.

Já na polpa, as lesões são de aparência leitosa no centro e translúcidas na borda, podendo evoluir ou não para o exocarpo. Podridões no cladódio podem comprometer a produção, além disso, lesões na casca e polpa comprometem a qualidade final do fruto, prejudicando sua comercialização e consumo.

Outro entrave no cultivo é a determinação do ponto ideal de colheita, já que a fruta é considerada não climatérica, ou seja, a colheita deve ser realizada após a maturação fisiológica. Na prática, a maioria dos produtores realiza a colheita quando os frutos apresentam coloração de casca completamente rósea. Porém, sabe-se que, quanto mais tardiamente o fruto for colhido, menor será seu tempo de vida útil após a colheita. Além disso,

a coloração atrativa da fruta, quando madura, também é alvo do ataque de insetos e pássaros, contribuindo para o aumento das perdas pós-colheita. O ensacamento de frutos e a colheita antecipada, com o fruto ainda verde, podem contribuir para a redução destes problemas.

Essa prática, no entanto, deve ser cautelosa, pois em frutos não climatéricos, colhidos antes do ponto de maturação fisiológica, haverá alteração significativa da qualidade final e sabor do produto, impedindo a evolução das características organolépticas.

Entretanto, seu período de duração na pós-colheita é curto, deteriorando rapidamente em condições ambientais, pela exposição, condições de armazenamento e fisiologia dos frutos. Deficiências na gestão pós-colheita e ausência de tecnologias alternativas economicamente viáveis para a conservação da fruta, refletem diretamente no seu curto prazo de validade, sendo de três a quatro dias à temperatura ambiente e até 21 dias se armazenada em temperatura de 10 °C a 12 °C (VILAPLANA; PÁEZ; VALENCIA-CHAMORRO, 2017).

Assim, devido a escassez de trabalhos na literatura sobre esses assuntos, objetivou-se com este estudo (i) identificar a diversidade de espécies de fungos associadas ao cultivo da pitaia no Brasil, por meio de informações preliminares de sintomatologia, patogenicidade, identificação morfológica, filogenia molecular e cruzamentos em laboratório; (ii) isolar e identificar bactérias presentes na polpa de frutos de pitaia sintomática, baseado na caracterização do morfotipo e identificação do perfil proteico dos isolados e; (iii) avaliar a qualidade dos frutos colhidos em três níveis de coloração do exocarpo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem, botânica e taxonomia

Apresentando entre 120 e 200 gêneros, e aproximadamente 1500 a 2000 espécies, a família Cactaceae é uma eudicotiledônea encontrada especialmente em regiões semidesérticas, nas regiões quentes da América Latina (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT 2006).

Pertencente à família Cactaceae, as espécies denominadas ‘Pitaia’ estão agrupadas em quatro gêneros: *Stenocereus*, *Cereus*, *Selenicereus* e *Hylocereus* (MARQUES et al., 2011). Todas essas espécies têm como centro de origem a América Central e a do Sul. A *Selenicereus* (pitaia amarela), provavelmente surgiu na Colômbia ou Equador, e a *Hylocereus sp* (pitaia vermelha) é oriunda da Costa Rica e El Salvador, México e Guatemala. Comercialmente, as três espécies tradicionais são: *Hylocereus undatus* de casca vermelha e polpa branca; *H. polyrhizus* de casca e polpa vermelha; e a *Selenicereus megalanthus* de casca amarela e polpa branca, porém, com sementes maiores (DONADIO, 2009). A espécie *H. polyrhizus* tem ganhado destaque devido ao seu potencial antioxidante na polpa (SOCHA, 2007).

Hoje, pitaia do gênero *Hylocereus*, já se difundiu pelo mundo e é cultivada em todas as regiões de clima quente, desde Israel até a China (SOCHA, 2007).

As pitaias são plantas com hábito trepador, que se desenvolvem em árvores e rochas (SOCHA, 2007). As espécies de *Hylocereus* são epífitas ou semi-epífitas; as folhas, transformadas em espinhos, são agrupadas em aréolas (meristemas axilares especializados de Cactaceae), as flores são hermafroditas, aromáticas, brancas e grandes (cerca de 30 cm de diâmetro) (BARBEAU, 1990). Possui picos de florada no verão, com registro de 2 a 3 picos em Israel e Estados Unidos (MERTEN, 2003). Em trabalho realizado por Costa (2014) registrou-se na safra 2010/2011 e 2011/2012, em média, 4 surtos de florada. O fruto é indeiscente, apresentando formato globoso a elipsóide, com 10 a 12 cm de diâmetro (HERNÁNDEZ, 2000) e massa média de 400 g por fruto (CANTO, 1993).

2.2 Importância da cultura

A pitaia apresenta diversos usos, tanto os frutos, quanto cladódios e flores podem ser consumidos na culinária ou como fitoterápico. A cultura também apresenta importância ornamental, devido à beleza das suas flores e pode ser usada como cercas-vivas, por possuir espinhos.

Por sua aparência exótica e diversidade, a pitáia acabou despertando a atenção para diversos estudos que vêm comprovando a importância fitoterápica da planta. O cladódio pode ser utilizado para tratamento de enfermidades dos rins e problemas gastrointestinais como gastrite (CASTILLO MARTÍNEZ; CÁLIX DE DIOS, 1996), além de ser usado como shampoo para combater a caspa (CASTILLO MARTÍNEZ; CÁLIX DE DIOS, 1997). As flores apresentam grande quantidade de flavonoides, principalmente kaempferol, encontrada nas pétalas (YI et al., 2012; LI et al., 2013). Além disso, as flores de *H. undatus* são usadas na culinária chinesa com nome ‘Bawanghua’ (YIN et al, 2012).

No entanto, os frutos possuem maior importância comercial nessa cultura, com polpa de sabor doce e suave, e textura macia, podendo ser comercializados na forma de fruta fresca e polpa, ou industrializados como geleias, doces, drinks, bebidas e sorvetes.

Os frutos fornecem vitaminas e minerais, principalmente potássio, sendo fonte potencial de prébióticos, podendo ser utilizado como ingrediente em alimento funcional, suplementos alimentícios, produtos nutracêuticos e em uma ampla variedade de produtos alimentícios projetados para indivíduos com sobrepeso e produtos de prevenção de diabetes (WICHICHOT; JATUPORNPIPAT; RASTALL, 2010).

A pitáia de polpa vermelha possui betalaína, licopeno e polifenóis (ESQUIVEL et al., 2007). Essas substâncias atuam no combate ao câncer, doenças cardíacas, além de melhorar a pressão arterial (ZAINOLDIN; BABA, 2009). Foi constatado também, a presença de captina, considerado tônico cardíaco, e ainda possui efeito laxativo, melhora cefaleia, gastrite e infecção dos rins (DONADIO, 2009). Tenore, Novellino e Basile (2012) concluíram que extratos obtidos da polpa e casca de *H. polyrhizus* apresentam atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas como *Escherichia coli*.

Dentre os carboidratos encontrados nos frutos, a maior parte é glicose, frutose e alguns oligossacarídeos (em média 87 g/kg de polpa). Os oligossacarídeos apresentam atividade pro-biótica, estimulando o crescimento de bactérias benéficas no trato intestinal, além de outras propriedades funcionais, incluindo resistência às condições ácidas do estômago humano e capacidade de estimular o crescimento de lactobacilos.

Um estudo concluiu que componentes obtidos da casca da pitáia vermelha (*H. polyrhizus*) e branca (*H. undatus*), demonstraram capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas (WU et al., 2006; KIM et al., 2011). Também foi demonstrado que a casca de *H. polyrhizus* é uma fonte de pectinas, betacianinas e fibras (JAMILAH et al., 2011).

Já as sementes de *H. undatus* e *H. polyrhizus* apresentam grande conteúdo de óleo, 28,37% e 18,33%, respectivamente, sendo os principais ácidos graxos presentes o ácido

linoleico, oleico e palmítico, tendo assim, uma grande importância nutricional (LIAOTRAKOON et al., 2013). Esses óleos podem ser incorporados a cosméticos ou outros fármacos. Além disso, apresenta uma significativa quantidade de antioxidantes naturais e tocoferóis, podendo ser considerado um óleo de alto valor devido a sua composição.

Segundo Silva et al. (2011), a crescente procura por frutas de maior benefício nutritivo pelos consumidores é devida aos estímulos pela mídia, que tem divulgado os benefícios nutricionais do consumo, evidenciando-as como alimento funcional, balanceado e saudável. O mercado mundial tem se transformado e se tornado mais aberto e competitivo para as frutas exóticas.

Além das vantagens já citadas, acrescenta-se a facilidade de adaptação da espécie às diversas condições climáticas e rusticidade, tornando-se alternativa para regiões em que o solo não é propício a outras culturas, como solos arenosos e pedregosos (ANDRADE et al., 2006), gerando renda para os produtores dessas áreas (MARQUES et al., 2011).

A produtividade média da pitiaia é variável de acordo com as condições edafoclimáticas, técnicas de cultivo e idade do pomar, podendo variar de 10 a 30 t.ha⁻¹ (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006), sendo que na Nicarágua, cultivos bem conduzidos podem produzir até 26 t.ha⁻¹ (VAILLANT et al., 2005). O produtor recebe elevada remuneração pela produção devido ao alto preço do fruto.

2.3 Qualidade pós-colheita

Não há um consenso para definição do termo ‘qualidade’, porém, essa pode ser explicada como o conjunto de características peculiares de um produto que sejam significantes na determinação do grau de aceitação pelo consumidor desse produto. Propriedades sensoriais como aparência, textura, sabor e aroma, valor nutritivo e multifuncional advindos dos componentes químicos, e a presença ou ausência de defeitos físicos, são parâmetros utilizados para determinar a qualidade de um produto agrícola (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Por ser uma fruta não climatérica, a pitiaia atinge maior qualidade alimentar quando colhida madura, diminuindo durante o armazenamento (CHIEN et al., 2007). No entanto, essa fruta tem vida útil limitada, de modo que a exposição à temperatura ambiente durante o transporte e o armazenamento pode levar a uma aparência indesejável, como diminuição do tamanho e a perda da coloração das brácteas.

Além disso, a fruta também é suscetível à colonização por espécies como *Rhizopus*, *Fusarium*, *Botryosphaeria* e *Colletotrichum* (MA et al., 2009; ALI et al., 2013; ZAHID et al.,

2013), que podem causar deterioração da casca e brácteas (CASTILLO et al., 2014; PIECZYWEK et al., 2018).

O rendimento da cultura está diretamente relacionado à presença de bactérias, fungos, vírus e com o ataque de pragas na pós-colheita, podendo ocasionar perdas econômicas de até 44% (VALENCIA-BOTÍN; KOKUBU, ORTÍZ; HERNANDEZ, 2013). O controle de doenças na pós-colheita geralmente é realizado com manejo químico, por meio da aplicação de fungicidas sintéticos, como imazalil ou tiabendazol (HOLMES; ECKERT, 1999). O imazalil é utilizado na pós-colheita para controle da podridão negra, causada por *Alternaria alternata*, em pitáia amarela (VILAPLANA; PÁEZ; VALENCIA-CHAMORRO, 2017).

Podem ocorrer também outros problemas como lesão mecânica, lesão por frio e perda de água que afetam a qualidade pós-colheita (WALL; KHAN, 2008; CHANDRAN, 2010).

Sob condições ambientais, o fruto se deteriora facilmente, apresentando vida útil pós-colheita curta, cerca de 6 a 8 dias, sob condições naturais (MIZRAHI; NERD, 1999). A vida útil ou de prateleira é o tempo no qual o produto mantém um nível de qualidade predeterminado, em condições de armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O armazenamento a baixas temperaturas tem auxiliado no aumento do tempo de prateleira sendo a temperatura de 5 °C a melhor para manter as brácteas verdes e os frutos com maior firmeza e maior acidez titulável e menor perda de peso, além de menor incidência e severidade de podridões (FREITAS, 2019).

Sendo a espécie recém-cultivada, existem poucos estudos visando estender a qualidade pós-colheita da pitáia (WALL; KHAN, 2008; CHUTICHUDET; CHUTICHUDET, 2011; JADHAV, 2018), assim, torna-se necessário o investimento em pesquisas nessa área.

O conhecimento das diferentes etapas da fenologia reprodutiva de uma espécie é crucial para auxiliar no manejo da cultura, especialmente a determinação da época ideal de colheita. Nessa fase ocorrem muitas mudanças qualitativas e quantitativas nos frutos. Informações sobre essas mudanças são importantes, pois influenciam o comportamento e qualidade dos frutos e são úteis no desenvolvimento de novas tecnologias de produção e práticas de manejo (MAGALHÃES, 2017).

Quase não há relatos sobre essa importante fase da cultura da pitáia. Um dos poucos trabalhos relatados sobre o assunto tratou da evolução das características físicas e físico-químicas de pitáia vermelha de polpa branca durante seu desenvolvimento. Foram observados aumento do peso e da quantidade de polpa, pH, sólidos solúveis e diminuição do peso e da espessura da casca, firmeza e umidade e mudanças visuais na medida em que o fruto se

desenvolvia e amadurecia. Os autores verificaram também que o ponto ideal de colheita é de 34 a 38 dias após a antese (MAGALHÃES et al., 2019).

2.4 Pragas e doenças no cultivo da pitaita

A pitaita é cultivada em todo o mundo, em regiões tropicais e subtropicais. Entretanto, desde que seu cultivo comercial começou a expandir, alguns sintomas de ataque de pragas e patógenos em caules e frutos foram observados e são grandes os problemas que assolam a cultura. Esses ataques podem induzir perdas econômicas de até 44% (VALENCIA-BOTÍN et al., 2004a).

As principais pragas registradas em pitaita são formigas pertencentes aos gêneros *Atta* (*Atta caphalote*, *Atta colombica* e *Acromymex* sp) (BARBEAU, 1990) e *Solenopsis* (BADILLO, 1995; N'GUYEN, 1996; LE BELLEC, 2003) que podem causar grandes danos às plantas, às flores e frutos. Besouros dos gêneros *Cotinus mutabilis* (BARBEAU, 1990) e *Metamasius farei*, *Cotinis mutabilis*, *Euphoria limatula* (DELGADO et al., 2010), causam perfurações nos cladódios. Percevejos dos gêneros *Leptoglossus zonatus* (BARBEAU, 1990) e *Leptoglossus phyllosus* sugam seiva, deixando manchas e algumas deformações. A mosca *Dasiops saltans* deposita seus ovos nos botões florais e as larvas perfuram as anteras, consequentemente, os botões ficam vermelhos e caem facilmente (DELGADO et al., 2010) e mosca-das-frutas (*Bactrocera* spp) que oviposita nos frutos e suas larvas consomem a polpa (HO et al., 2006).

Além disso, diferentes espécies de pulgões e cochonilhas também foram observadas em flores e frutos (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006) e ataque de larvas de mariposas da espécie *Maracayia chlorisalis* (DELGADO et al., 2010). Até mesmo a atividade das abelhas (*Apis mellifera*) pode ser um problema por dificultar a polinização manual pela coleta de todo polen pelas mesmas (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2004).

Ratos e aves também podem causar sérios danos, principalmente as flores (LE BELLEC, 2003) e frutos maduros (N'GUYEN, 1996). As feridas abertas por essas pragas podem ainda ser porta de entrada para ataque de fungos e bactérias.

Em relação a doenças bacterianas em pitaita, foi relatada a podridão mole, causada por *Enterobacter cloacae* (VALENCIA et al., 2003b; MASYAHIT et al., 2009) e ainda, *Xanthomonas* sp. e *Erwinia* sp foram relatadas por N'Guyen (1996); Le Bellec (2003) e Masanto et al. (2009). Uma doença viral também foi detectada, Cactus Virus X (CVX), provocando

mosaico no caule, uma mistura de áreas verdes escuras e claras (DELGADO et al., 2010). Os nemátodes (*Meloidogyne* spp) também foram relatados atacando esta planta (HO et al., 2006).

No entanto, os problemas mais importantes em pitáia são doenças fúngicas como Antracnose causada por *Gloeosporium* sp. (MASANTO et al., 2009) ou *Colletotrichum gloeosporioides* (KIM et al., 2011; PALMATEER; PLOETZ, 2007; MASYAHIT et al., 2009); Murcha (*Fusarium oxysporium*) (GONZÁLEZ, et al., 2016); Podridão do caule (*F. semitectum*, *F. oxysporium*, *F. moniliforme*) (HAWA; SALLEH; LATIFFAH, 2010); Ferrugem (*Diplodia* sp., *Ascochyta* sp. e *Phoma* sp.); Mancha preta (*Alternaria* sp.); Mancha marrom (*Botryodiplodia* sp.); Podridão basal (*Pythium* sp.) (LIN et al., 2006) e Lesão do caule (*Septogloeum* sp.) (ZHENG et al., 2009); Cancro da haste (*Neoscytalidium dimidiatum*) (CHUANG et al., 2012). São relatados ainda, os patógenos *Botryosphaeria dothidea* e *Fusicoccum* sp. (VALENCIA-BOTÍN et al., 2003a; VALENCIA-BOTÍN et al., 2004a); *Bipolaris cactivora* (MASYAHIT et al., 2009; TARNOWSKI et al., 2010), *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Rhizopus* (VAZQUEZ et al. (2007) e *Curvularia lunata* (MASRATUL et al., 2009).

2.5 Doenças fúngicas

2.5.1 Antracnose

Uma das doenças fúngicas mais graves para a cultura da pitáia é a Antracnose, que pode reduzir gravemente a produção (CRANE; BALERDI, 2009; MASYAHIT et al., 2009). Iskandar et al. (2015) identificaram o patógeno *Colletotrichum truncatum* provocando sintomas nos cladódios de pitáia de polpa vermelha na forma de lesões marrom-avermelhadas, marrom-escuras ou pretas, com diâmetro de 20 mm a 30 mm, com halos cloróticos e acervulos pretos foram frequentemente observados em lesões maduras.

Colletotrichum gloeosporioides também foi considerado o patógeno causador da Antracnose (ALI et al., 2014). Este patógeno pode infectar tanto o fruto imaturo no campo quanto o maduro na pós-colheita (ALI et al., 2013; HU et al., 2019).

2.5.2 Podridões por *Fusarium*

Vários tipos de *Fusarium* causam a doença conhecida por podridão basal do fruto ou podridão mole, na Colômbia. 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). A doença se torna mais grave quando a colheita se aproxima (SUÁREZ, 2011). Em pitaia amarela os patógenos *Fusarium moniliforme* e *F. oxysporum* são indicados como os fungos mais frequentes e com menor frequência *F. roseum*, *F. equiseti*, *F. chlamydosporum* (VARON, 2006). E ainda, em pitaia vermelha, foi observado incidência de uma podridão amarela no caule de 99,5% de severidade (BARTHANA; NASIR, 2013), sendo o agente causal detectado como *Fusarium solani* (WIWIK; DEWA; MADE, 2013).

Masratul et al. (2013) identificaram na Malásia, *F. proliferatum* como agente causal da doença denominada podridão do caule em pitaia vermelha. O sintoma apareceu como lesão marrom aquosa com formação de esporos laranja e micélio branco sobre a superfície da lesão. Já Masratul et al. (2017) identificaram outro tipo de patógeno para a mesma doença *Fusarium fujikuroi*.

2.5.3 Podridões por *Bipolaris Cactivora*

Em pitaia vermelha, foi identificado na Malásia, o agente causal *Bipolaris cactivora* causando podridão na base do fruto (VALENCIA-BOTÍN; KOKUBU; ORTÍZ-HERNÁNDEZ, 2013). Esse mesmo patógeno foi identificado no Vietnã como causador de doença em pitaia vermelha de polpa branca. Os sintomas incluíram manchas aquosas de cor oliva a preto, que coalescem, causando uma podridão mole em estágio avançado (HE et al., 2012).

Sintomas de podridão por *B. cactivora* também foram identificados em frutos e cladódios de pitaia vermelha de polpa branca em Israel. O fruto apresentou manchas amarelas irregulares com centros castanhos, expandindo e, eventualmente, coalescendo, principalmente na parte superior do fruto (BEM-ZE'EV; ASSOULINE; LEVY, 2011).

B. cactivora também foi identificado no Japão causando podridão em frutos de pitaia na fase de pós-colheita. Os sintomas se caracterizavam por lesões deprimidas e aquosas, de cor verde oliva a pretas coalescendo em uma podridão mole (TABATA et al., 2007)

2.5.4 Mancha de *Alternaria*

O patógeno *Alternaria alternata* causa manchas nos frutos de pitaia nas fases de pré e pós-colheita (ARMITAGE et al., 2015; CABRAL et al., 2016) e importantes perdas econômicas e industriais (ESTIARTE et al., 2016). Esse fungo é considerado patogênico e toxigênico (VILAPLANA et al., 2017) pois produz micotoxina em frutos. Em pitaia vermelha

de polpa branca, Castro et al. (2018) verificaram que o fungo causa deterioração da epiderme e na polpa pode ou não ocorrer sintomas visíveis. Isso leva muitos consumidores a descartarem a epiderme e consumirem a polpa, o que gera grande preocupação para a saúde humana no consumo de alimentos com possível presença de micotoxinas (FAO, 2017).

2.5.5 Cancro da pitaia

O patógeno *Neoscytalidium dimidiatum* foi identificado em pitaia vermelha de polpa vermelha e branca na China, como agente causal da doença conhecida como cancro da pitaia. Esse patógeno possui rápida disseminação nas plantações da China, Malásia, Israel e EUA (XU et al., 2018). Os sintomas são o desenvolvimento lento do fruto no estágio inicial, podridão parda interna do fruto, com alteração do exocarpo de 10 a 15 dias após a antese (CHUANG et al., 2012; YI et al., 2015; XU et al. 2018).

Esse mesmo patógeno causa sintomas na parte vegetativa da planta passando a ser chamado de cancro da haste. Essa doença surgiu na maioria das plantações de frutos de pitaia vermelha na China, apresentando sintomas no cladódio, com pequenas manchas laranja circulares afundada, com presença de picnídeos de coloração preta, seguidas de podridão (MOHD; SALLEH; ZAKARIA, 2013).

2.5.6 Olho de Peixe

Esta doença desencadeia lesões no cladódio, com sintomas iniciais caracterizados por pontuações cloróticas, as quais evoluem, com formato semelhante ao olho de peixe. O agente causal é o patógeno *Botryosphaeria dothidea* Ces. & De Not, forma anamorfo de *Fusicoccum sp.* (VALENCIA-BOTÍN et al., 2003b, VALENCIA-BOTÍN et al., 2004b).

Esta doença está relacionada com a presença do inseto *Leptoglossus spp.* (Homoptera, Subordem Heteroptera: Coreidae) o qual desencadeia lesões na superfície do cladódio, podendo desenvolver halos cloróticos.

2.6 Doenças bacterianas

Algumas doenças causadas por bactérias têm sido relatadas associadas aos cladódios e frutos em áreas tropicais e subtropicais de países produtores como a podridão mole (*Erwinia sp.*, *Enterobacter cloacae*) (MASANTO et al. 2009b), pedrado (uma bactéria) (YUAN et al.,

2004). Outra podridão mole do cladódio também foi relatada na América Central e Austrália, sendo o agente causal a bactéria *Xanthomonas campestris*, comum em locais com excesso de irrigação ou chuvas constantes.

Os microrganismos que ocorreram naturalmente na polpa das frutas, alguns podendo provocar lesões, são desconhecidos. Em estudo realizado na Malásia com a pitia vermelha foram encontrados os enterococos, gênero *Enterococcus* (*Enterococcus casseliflavus* e *Enterococcus gallinarum*).

2.6.1 Podridão aquosa do cladódio

Foram relatadas no México na década de 90, duas espécies de enterobactérias causando podridão aquosa (mole) no cladódio (VALENCIA; CRUZ; RODRÍGUEZ, 2003a). A doença causa apodrecimento do cladódio, delimitado por halos cloróticos. Foi verificado que duas espécies de pitia (*Hylocereus undatus* e *H. purpusii*) são suscetíveis as bactérias, sendo a primeira mais suscetível que a segunda. Plantas com deficiências em cálcio e nitrogênio podem desenvolver sintomas mais graves da doença (VALENCIA; CRUZ; RODRÍGUEZ, 2003a).

Outra doença bacteriana que afeta cladódios e frutos, desencadeando sintomas de podridão aquosa de coloração amarela acastanhada foi relatada na Malásia, sendo *Enterobacter cloacae* o agente causal (MASYAHIT et al., 2009). Esta bactéria compromete outras frutíferas tropicais, como o mamão (*Carica papaya* L.) (NISHIJIMA; CONEY; ALVAREZ, 1987).

REFERÊNCIAS

- ALI, A. et al. Maqbool Effectiveness of submicron chitosan dispersions in controlling anthracnose and maintaining quality of dragon fruit Postharvest. **Biology and Technology**, [s.l.], v. 8, n. 6, p. 147-153, 2013.
- 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**, [s.l.], v. 63, p. 83-88. 2014.
- ANDRADE, J.L.; RENGIFO E.; RICALDE, M.F.; SIMÁ, J.L.; CERVERA, J.C.; VARGAS-SOTO, G. Microambientes de luz, crecimiento y fotosíntesis de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en un agrosistema de Yucatán, México. **Agrociência**, v. 40, p. 687-697, 2006.
- ARMITAGE, A.D.; BARBARA, D.J.; HARRISON, R.J.; LANE, C.R.; SREENIVASAPRASAD, S.; WOODHALL, J. W.; CLARKSON, J. P. Discrete lineages within *Alternaria alternata* species group: identification using new highly variable loci and support from morphological characters. **Fungal Biol.**, [s.l.], v. 119, p. 994–1006, 2015.
- BADILLO, J. Manual Técnico de Fitosanidad em Pitahaya. Managua, Nicaragua: MAG-FOR-OIRSA-VIFINEX, 2005. 85 p.
- BARBEAU, G. La pitahaya rouge, un nouveau fruit exotique. **Fruits**, [s.l.], v. 45, p. 141-147, 1990.
- BARTHANA, D.; NASIR, N. Description of symptoms and disease severity of yellow disease stem rot of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*, L.). In: PARIAMAN, P.; SUMATERA, W. **J. Bio.**, v. 2, p. 222-228, 2013.
- BEN-ZE'EV, I. S; ASSOULINE, I.; LEVY, E. First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. **Phytoparasitica**. [s.l.], v. 39, p. 195-197, 2011.
- CABRAL, L.C.; TERMINIELLO, L.; PINTO, V.F.; NIELSON, K.F.; PATRIARCA, A. Natural occurrence of mycotoxins and toxigenic capacity of *Alternaria* strains from mouldy peppers. **Int. J. Food Microbiol.**, [s.l.], v. 236, p. 155-160, 2016.
- CANTO, A. R. **El cultivo de pitahaya en Yucatan**. Gobierno Del Estado de Yucatan: Universidad Autónoma Chapingo, 1993. 53 p.
- CASTRO, J. C.; AVINCOLA, A. S.; ENDO, E. H.; SILVA, M. V.; DIAS FILHO, B. P.; MACHINSKI, M.; ABREU FILHO, B. A. Mycotoxigenic potential of *Alternaria alternata* isolated from dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.) using UHPLC-Qtof-MS. **Postharvest Biology and Technology**, [s.l.], v. 141, p.71-76, 2018.
- CASTILLO MARTÍNEZ, R.; CÁLIX DE DIOS, H.; Contenido nutricional de três espécies de pitahaya (*Hylocereus*). **Agricultura Tropical**, Colômbia, v. 33, n. 1, p. 86-92, 1996.
- _____; Las pitahayas, un recurso subaprovechado. **Ciencia y Desarrollo**, México, v. 136, p. 52-57, 1997.

- CASTILLO, S. et al. essential oils thymol and carvacrol applied in the packing lines avoid lemon spoilage and maintain quality during storage. **Food Control**, [s.l.], v. 35, n. 1, p. 132-136, 2014.
- CHANDRAN, S. Effect of film packing in extending shelf life of dragon fruit, *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. **Acta Horticulturae**, [s.l.], p. 875: 389-394, 2010.
- CHIEN, P.J.; SHEU, F.; Lin, H.R. Quality assessment of low molecular weight chitosan coating on sliced red pitayas. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 79, p. 736-740, 2007.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.
- CHUANG, M.F. et al. Firstreport of stem canker disease of Pitaya (*Hylocereus undatus* and *H. polyrhizus*) Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. **Plant Disease**, [s.l.], v. 96, n. 6, p. 906, 2012.
- CHUTICHUDET, B.; CHUTICHUDET, P. Effects of chitosan coating to some postharvest characteristics of *Hylocereus undatus* (Haw) Britton and Rose fruit. **International Journal of Agricultural Research**, [s.l.], v. 6, p. 82-92, 2011.
- COSTA, A. C. Floração e frutificação em diferentes tipos de cladódios de pitaia-vermelha em Lavras-MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 36, n. 1, p. 279-284, março, 2014.
- CRANE, J. H.; BALERDI, C. F. **Pitaya growing in the Florida home landscape**. Orlando: IFAS Extension of University of Florida, 2005. 9 p.
- DE ANDRADE, R. A. et al. Germinação de pitaya em diferentes substratos. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 71-75, 2008.
- DELGADO A.; KONDO, T.; IMBACHI, L. K.; QUINTERO, E. M.; BELLINE, M.; BURBANO, M.; MEDINA, S. J. A. Biología y algunos datos morfológicos de la mosca del botón floral de la pitaya amarilla *Dasiops saltans* (Townsend) Diptera: Lonchaeidae en el valle del Cauca, Colombia. **Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle**, [s.l.], v. 11, n. 2, p. 1-10, 2010.
- DONADIO, L. C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 31, n. 3, 2009.
- ESQUIVEL, P.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. genotypes. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s.l.], v. 8, n. 3, p. 451-457, 2007.
- ESTIARTE, N.; CRESPO-SEMPERE, A.; MARÍN, S.; SANCHIS, V.; RAMOS, A.J.; Effect of 1-methylcyclopropene on the development of black mold disease and its potential effect on alternariol and alternariol monomethyl ether biosynthesis on tomatoes infected with *Alternaria alternata*. **Int. J. Food Microbiol.**, [s.l.], v. 236, p. 74–82, 2016.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food safety & quality 2017**. Disponível em: <www.fao.org/food/food-safety-quality>. Acesso em: 22 jun. 2017.

FREITAS, M. A.; MEDEIROS, F. H.; MELO, I. S.; PEREIRA, P. F.; PEÑAFLORES, M. F. G.; BENTO, J. M.; PARÉ, P. W. Stem inoculation with bacterial strains *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) mitigates *Fusarium* root rot in cassava. **Phytoparasitica**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 135-142, 2019.

GONZÁLEZ, C. S. et al. Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). **Agronomía Mesoamericana**, [s.l.], v. 27, n. 2, p. 277-285, 2016.

HAWA, M. M.; SALLEH, B.; LATIFFAH, Z. Characterization and intraspecific variation of *Fusarium semitectum* (Berkeley and Ravenel) associated with red-fleshed dragon fruit *Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton and Rose) in Malaysia. **African Journal of Biotechnology**, [s.l.], v. 9, 273-284, 2010.

HERNÁNDEZ, Y. D. O. **Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* sp.)**. México, 2000. 124 p.

HO, T.T.; CLARK, C.J.; WADDELL, B.C.; Woolf, A.B. Postharvest quality of Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) following disinfecting hot air treatments. **Postharvest Biology and Technology**, [s.l.], v. 4, p. 62–69, 2006.

HOLMES, G.J.; ECKERT, J.W. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. **Phytopathology**, [s.l.], v. 89, p. 716-72, 1999.

HU, M.; ZHU, Y.; LIU, G.; GAO, Z.; LI, M.; SU, Z.; ZHANG, Z. Inhibition on anthracnose and induction of defense response by nitric oxide in pitaya fruit. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. p. 245, 224-230, 2019.

ISKANDAR, V. et al. Characterization and Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum* Causing Stem Anthracnose of Red-Fleshed Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Journal of Phytopathology**, [s.l.], v. 163, n. 1, p. 67-71, 2015.

JADHAV, P. B. Extending the storage and Post-Storage life of dragon fruit using a cold room (Ecofrost). **International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology**, [s.l.], v. 11, n. 3, p. 573-577, 2018.

JAMILAH, B.; SHU, C. E.; KARIDAH, M.; DZULKIFLY, M.; NORANIZAN, A. Physicochemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **International Food Research Journal**, Serdang, v. 18, p. 279-286, 2011.

KIM, H.; CHO, H. K.; MOON, J. Y.; KIM, Y. S.; MOSADDIK, A.; CHO, S. K. Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitaias and their correlation with flavonoid and polyphenol content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 79, n. 1, p. C38-C45, 2011.

KONDO, T. et al. **Manual técnico: Tecnologías para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia**. Palmira, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica, 2013.

- LAN, G. B.; HE, Z. F.; XI, P. G.; JIANG, Z. D. First report of brown spot disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Hylocereus undatus* in Guangdong, Chinese Mainland. **Plant Disease**, [s.l.], v. 96, n. 11, p. 1702-1702, 2012.
- 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.
- _____. Pollinisation et fécondation de *Hylocereus undatus* et de *H. costaricensis* à l'île de la Réunion. **Fruits**, Paris, v. 59, n. 6, p. 411-422, 2004.
- LE BELLEC, F. **La pitaya (*Hylocereus* sp.) en culture de diversification à l'île de la Réunion**: stratégie d'accompagnement de son développement. France: Mém, 2003. 55 p.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell, USA: Malden: 2006. 420 p.
- LI, X. et al. Antioxidant activity and mechanism in flower of *Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. et Rose. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, Krakow, v. 55, n. 1, p. 80-85, 2013.
- LIAOTRAKOON, W.; CLERCQ, N.; HOED, V. V.; DEWETTINCK, K. Dragon fruit (*Hylocereus* spp.) seed oils: their characterization and stability under storage conditions. **Journal of American Oil Chemists Society**, Heidelberg, v. 90, p. 207- 215, 2013.
- LIN, C.C.; GUO, W. B.; CAI, S. F. Diseases of red dragon fruit in Taiwan. **Good Year (Chinese)**, [s.l.], v. 56, p. 38-42, 2006.
- MA, T. F. et al. Market disease pathogens detection of imported fruits in Shanghai **Agricultural Sciences in China**, [s.l.], v. 8, n. 9, p. 1087-1096, 2009.
- MAGALHÃES, D. S. **Desenvolvimento e maturação de frutos de pitaia vermelha de polpa branca**. 2017. 52 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2017.
- MAGALHÃES, D. et al. Physical and physicochemical modifications of white-fleshed pitaya throughout its development. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], n. 243, p. 537-543, 2019.
- MARQUES, V. B.; MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; ARAÚJO, N. A.; SILVA, F. Fenologia reprodutiva de pitaia-vermelha no município de Lavras-MG. **Ciência Rural**, v. 41, p. 984-987. 2011.
- MASRATUL, H., M. et al. *Fusarium fujikuroi* associated with stem rot of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Annals of Applied Biology**, [s.l.], v. 170, n. 3, p. 434-446, 2017.
- MASRATUL, H.; M.; SALLEH, B.; LATIFFAH, Z. Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* causing stem rot of *Hylocereus polyrhizus* in Malaysia. **Annals of Applied Biology**, [s.l.], v. 163, n. 2, p. 269-280, 2013.

MASRATUL, H. First report of *Curvularia lunata* on red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Plant Disease**, [s.l.], v. 93, p. 971, 2009.

MASYAHIT, M. et al. First report on bacterial soft rot disease on dragon fruit (*Hylocereus* spp.) caused by *Enterobacter cloacae* in peninsular Malaysia. **Int. J. Agric. Biol**, [s.l.], v. 11, p. 659-666, 2009.

MERTEN, S. A review of *Hylocereus* production in the United States. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, [s.l.], v. 5, p. 98-105, 2003.

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 and Biology**, [s.l.], v. 11, p. 659-666, novembro, 2009.

MIZRAHI, Y.; NERD, A. Climbing and columnar cacti: new arid lands fruit crops. In: JANICK, J. (Ed.). **Perspective in new crops and new crops uses**. Alexandria: ASHS, 1999. p. 358-366.

MOHD, M. H.; SALLEH, B.; ZAKARIA, L. Identification and Molecular Characterizations of *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Stem Canker of Red-fleshed Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Journal of Phytopathology**, [s.l.], v. 161, n. 11-12, p. 841-849, 2013.

N'GUYEN, V. K. **Floral induction study of dragon fruit crop (*Hylocereus undatus*) by using chemicals**. Vietnam: University of Agriculture and Forestry, Hue University, 1996. 54 p.

NISHIJAMA, K. A.; CONEY, H. M.; ALVAREZ, A. M. Internal yellowing, a bacterial disease of papaya fruits caused by *Enterobacter cloacae*. **Plant Disease**, [s.l.], v. 71, p. 1029-1034, 1987.

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

PIECZYWEK, P. M. et al. Early detection of fungal infection of stored apple fruit with optical sensors – comparison of biospeckle, hyperspectral imaging and chlorophyll fluorescence. **Food Control**, [s.l.], v. 85, p. 327-338, 2018.

ROJAS, A.; A. REBOLLEDO, D.; KONDO, J.; TORO, Y.; OROZCO, M. **Pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*)**. Plegable divulgativo. Valle del Cauca: Centro de Investigación Palmira, Colômbia, 2008.

SILVA, J. A.A.; GRIZOTTO, R. K.; MIGUEL, F. B.; BÁRBARO, I. M. Caracterização físico-química de frutos de clones de *Dovyalis abyssinica* (Dovyalis abyssinica Warb). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 466-472, 2011.

SOCHA, A. M. A. **From Areoles to Zygoactis: an evolutionary masterpiece** - Synopsis of the Family Cactaceae. 2007. Disponível em: <www.nybg.org/bsci/herb/cactaceae1.html>. Acesso em: 30 maio 2019.

- 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 Colombia, Palmira, Colombia, 2011.
- TABA, S.; MIYAHIRA, N.; NASU, K.; TAKUSHI, T.; MOROMIZATO, Z. I. Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. **Journal of General Plant Pathology**, [s.l.], v. 73, n. 5, p. 374-376, 2007.
- TARNOWSKI, T. L. B.; PALMATEER, A. J.; CRANE, J. H. First report of fruit rot on *Hylocereus undatus* caused by *Bipolaris cactivora* in South Florida. **Plant Disease**, [s.l.], v. 94, p. 1506, 2010.
- TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 4, p. 129-136, 2012.
- VAILLANT, F.; PEREZ, A.; DAVILA, I.; DORNIER, M.; REYNES, M. Colorant and antioxidant properties of red pitahaya (*Hylocereus* sp.) **Fruits**, Paris, v. 60, p. 1-7, 2005.
- VALENCIA-BOTÍN, A. J.; KOKUBU, H.; ORTÍZ-HERNÁNDEZ, Y. A. D. A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. **Australasian Plant Pathology**, [s.l.], v. 42, n. 4, p. 437-440, 2013.
- VALENCIA, B. A. J.; CRUZ, H. P.; RODRÍGUEZ, C. A. Avances en la etiología y manejo de la pudrición blanda de tallos de pitahaya, *Hylocereus undatus* H. (Cactaceae). **Fitosanidad**, [s.l.], v. 7, p. 11-17. 2003a.
- VALENCIA-BOTÍN, A. J.; SANDOVAL-ISLAS, J. S.; E. CÁRDENAS-SORIANO, T. J. MICHAILIDES, G. *Botryosphaeria dothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. **Plant Pathology**, [s.l.], v. 52, p. 803, 2003b.
- VALENCIA-BOTÍN, A. J.; LIVERA-MUÑOZ, M.; SANDOVAL-ISLAS, J. S. Caracterización de una cepa de *Fusicoccum* sp. anamorfo de *Botryosphaeria dothidea* Moug.: Fr (Ces. and De Not.) aislada de pitahaya [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton y Rose] Cactaceae. **Revista Mexicana de Fitopatología**, [s.l.], v. 23, p. 157-161, 2004a.
- VALENCIA-BOTÍN, A. J.; SANDOVAL-ISLAS, J. S.; CÁRDENAS-SORIANO, E.; MICHAILIDES, T. J.; RENDÓN-SÁNCHEZ, G. A new stem spot disease of pitahaya (*Hylocereus undatus* H.) caused by *Fusicoccum*-like anamorph of *Botryosphaeria dothidea* in Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatología**, [s.l.], v. 22, p. 40-42, 2004b.
- VARÓN, F. Enfermedades de la pitahaya y su manejo. **Rev. Asiava**, [s.l.], v. 73, p.19-21, 2006.
- VÁZQUEZ, H. M. V.; ARÉVALO, G. L. L.; SAUCEDO, V. C.; CENTURION, Y. A. R.; ACOSTA, R. M. Control de enfermedades fungosas en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus* L.), con metiljasmonato. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, [s.l.], v. 51, p. 97-103. 2007.

VILAPLANA, R.; PÁEZ, D.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Control of black rot caused by *Alternaria alternata* in yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) through hot water dips. **LWT – Food Science and Technology**, [s.l.], v. 82, p. 162-169, 2017.

WALL, M.M.; KHAN, S.A. Postharvest quality of dragon fruit (*Hylocereus* spp.) after X-ray irradiation quarantine treatment. **HortScience**, [s.l.], v. 43, n. 7, p. 2115-2119, 2008.

WICHENCHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 120, p. 850-857, 2010.

WIWIK, S.; DEWA, N.; MADE, S. 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**, [s.l.], v. 3, p. 93-99, 2013.

WU, L.; HSU, H. W.; CHEN, Y. C.; CHIU, C. C.; LIN, Y. I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 95, p. 319-327, 2006.

XU, M. et al. Identification of *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Canker Disease of Pitaya In: Hainan, China. **Australasian Plant Pathology**, [s.l.], v. 47, n. 5, p. 547-553, 2018.

YI, R. H.; MO, J. J.; WU, F. F.; CHEN, J. Fruit internal brown rot caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on pitahaya in Guangdong province, China. **Australasian Plant Disease Notes**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 13, 2015.

YI, Y.; ZHANGBA, Q. W.; LI, S. L.; WANG, Y.; YE, W. C.; ZHAO, J.; WANG, Y. T. Simultaneous quantification of major flavonoids in “Bawanghua”, the edible flower of *Hylocereus undatus* using pressurised liquid extraction and high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 135, p. 528-533, 2012.

YUAN, C.L.; ZHANG, W.F.; YUAN, H. X. Preliminary report on investigation and control practices for pitaya diseases in Shuyuexi Prefecture. **South China Fruits (Chinese)**, [s.l.], v. 33, p.49–50, 2004.

ZAHID, N. et al. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. **Biology and Technology**, [s.l.], v. 79, p. 69-72, 2013.

ZAINOLDIN, K. H.; BABA, A. S. The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, [s.l.], v. 60, p. 361-366, 2009.

ZHENG, W.; WANG, B.; CAI, Y. Q. Inhibitory test for *Septogloeum* sp. causing stem lesion of pitaya with fungicides. **Jiangsu Agricultural Sciences (Chinese)**, [s.l.], v. 5, p.151–152, 2009.

CAPÍTULO 2 - DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE FUNGOS ASSOCIADAS A FRUTOS E CLADÓDIOS DA PITAIA (*HYLOCEREUS UNDATUS*)

RESUMO

A pitaia ou fruta do dragão (*Hylocereus undatus*, Cactaceae), é uma frutífera tropical exótica, com propriedades nutracêuticas e alto valor comercial. Porém, seu cultivo é incipiente e suscetível ao ataque de vários patógenos. Objetivou-se com este trabalho (i) identificar a diversidade de espécies de fungos associados a cladódios e frutos de pitaia no Brasil, por meio de informações de sintomatologia, identificação morfológica, filogenia molecular e cruzamentos em laboratório; (ii) avaliar a patogenicidade dos fungos representativos em frutos e cladódios pelos métodos da injeção da suspensão de conídios e pó de carborundum e; (iii) avaliar o estágio de desenvolvimento do fruto em que o patógeno se instala e o momento de aparecimento dos primeiros sintomas. Para o isolamento dos fungos, cladódios e frutos em diferentes estágios de maturação, com e sem sintomas de doença foram coletados em quatro áreas no estado de Minas Gerais e uma área em Brasília, DF. Fragmentos de material vegetal, após desinfestação superficial, foram incubados em placas de Petri 90 mm contendo meio malte (MA2%) com antibiótico. Os 45 isolados de fungos obtidos foram agrupados em morfotipos e identificados até o nível de gênero e espécie. As avaliações foram realizadas por observações dos sintomas e mensuração do tamanho das lesões nos frutos e cladódios. Oito isolados monospóricos das espécies do complexo *Fusarium fujikuroi* (FFSC) foram identificados por morfotipo e realizados cruzamentos com isolados testadores das espécies. Realizou-se análise de filogenia molecular nos isolados *Bipolaris cactivora* (CML 4000) e *Alternaria alternata* (CML 4001 e CML 4062). Cinco isolados dos gêneros *Fusarium*, *Bipolaris* e *Alternaria* foram testados quanto à patogenicidade em frutos e cladódios, pelos métodos de injeção de suspensão de conídios em ambos e do carborundum em frutos. Os caracteres morfológicos das fases assexuada e sexuada dos isolados do FFSC foram de acordo com a descrição da literatura. Para o isolado do morfotipo *Fusarium proliferatum* não houve cruzamentos férteis, não sendo possível identificar o mating type e confirmar sua identidade. Os sete isolados de *Fusarium verticillioides* foram identificados como idiomorfo MAT-2. Por meio de análise filogenética dos genes Plasma membrane ATPase e ITS, os isolados CML 4001 e CML 4062 foram identificados como *Alternaria alternata* e CML 4000 como *Bipolaris cactivora*. As espécies *Bipolaris cactivora*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticillioides* e *Alternaria alternata* são patogênicas a cladódios e frutos maduros de pitaia. Foi descrita pela primeira vez no Brasil, a ocorrência de *Bipolaris cactivora* em cladódios e frutos de pitaia maduros. Foi constatada a associação dos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Botryosphaeria*, *Bipolaris* e *Fusarium* em associação com a pitaia.

Palavras-chave: *Bipolaris cactivora*. Cactaceae. Complexo fujikuroi. Fitopatógenos. Patogenicidade.

ABSTRACT

Pitaya or dragon fruit (*Hylocereus undatus*, Cactaceae), is an exotic tropical fruit, with nutraceutical properties and high commercial value. However, its cultivation is incipient and susceptible to the attack of several pathogens. It was aimed at this work; (i) identifying the diversity of fungal species associated with cladodes and pitaya fruits in Brazil, through information on symptomatology, morphological identification, molecular phylogeny and laboratory crosses; (ii) evaluating the fungi pathogenicity representative in fruits and cladodes by the methods of conidia suspension injection and carborundum powder; (iii) evaluating the fruit development stage in which the pathogen is installed and the moment of appearance of the first symptoms. For the fungi isolation, cladodes and fruits in different maturation stages with and without disease symptoms were collected in four areas in the *Minas Gerais* state and in an area in *Brasília, DF*. Fragments of plant material, after superficial disinfection, were incubated in 90 mm Petri dishes containing medium malt (MA2%) with antibiotic. Forty-five fungi isolates obtained were grouped into morphotypes and identified up to the level of genus and species. The evaluations were performed by observations of symptoms and measurement of lesion size in fruits and cladodes. Eight monosporic isolates from the *Fusarium fujikuroi* (FFSC) species were identified by morphotype and crosses were performed with testers isolated of species. Molecular phylogeny analysis was performed on isolates *Bipolaris cactivora* (CML 4000) and *Alternaria alternata* (CML 4001 and CML 4062). Five isolates from the *Fusarium*, *Bipolaris* and *Alternaria* genus were tested for pathogenicity in fruits and cladodes by the methods of suspension injection of conidia in both and carborundum in fruits. The morphological characters of the asexual and sexed phases from FFSC isolates were according to the literature. For the *Fusarium proliferatum* morphotype isolate there were no fertile crosses, and it was not possible to identify the mating type and confirm its identity. For all seven *Fusarium verticillioides* isolates were identified as MAT-2 idiomorph. By phylogenetic analysis of the Plasma membrane ATPase and ITS genes, the isolates CML 4001 and CML 4062 were identified as *Alternaria alternata* and CML 4000 as *Bipolaris cactivora*. *Bipolaris cactivora*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticillioides* and *Alternaria alternata* species are pathogenic to cladodes and pitaya fruits. It was described for the first time in Brazil, the *Bipolaris cactivora* occurrence in cladodes and pitaya fruits. It was found the association of the *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Botryosphaeria*, *Bipolaris* and *Fusarium* genera in association with the pitaya.

Keywords: *Bipolaris cactivora*. Cactaceae. Fujikuroi complex. Phytopathogens. Pathogenicity.

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Hylocereus undatus* (Haw.), conhecida como pitaia ou fruta dragão, é uma cactácea frutífera nativa da América do Sul e Central (ARUL et al., 2017). Amplamente cultivada nos países asiáticos, a pitaia adaptou-se a diferentes condições edafoclimáticas, apesar de no Brasil seu cultivo ser incipiente e recente.

Seus frutos são considerados exóticos, com cor e aparência atraentes, sabor agradável, nutracêuticos, com inúmeros benefícios para a saúde, além do alto valor econômico (FAN et al., 2018). Esses fatores têm contribuído para despertar o aumento do interesse dos produtores e consumidores.

Com o aumento das áreas plantadas com pitaia, a incidência de doenças tem sido relatada com frequência. Seu cultivo é suscetível ao ataque de vários patógenos e deterioração por microrganismos (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRIL-SALAZAR, 2012; CASTRO et al., 2017). Dentre as principais doenças que acometem o cladódio destacam-se o cancro, podridão e antracnose (YUAN et al., 2004; MASRATUL HAWA et al., 2013a,b).

As frutas também podem ser atacadas, durante os estágios de maturação e pós-colheita, por microrganismos, resultando em podridões, manchas negras, necrose e consequente deterioração, inviabilizando seu consumo resultando no descarte dos frutos (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILO-SALAZAR, 2012).

No Brasil, o cultivo de pitaia é recente, no entanto, há relatos das mais diversas regiões do Brasil, com destaque para o Sul do estado de Minas Gerais, da ocorrência de podridão aquosa nos cladódios, com lesões evoluindo para a degradação completa da planta. Lesões no exocarpo dos frutos também têm comprometido a produção. No exocarpo, as lesões são irregulares, com coloração inicialmente amarela e halo marrom, expandindo e, eventualmente, coalescendo, principalmente na parte superior dos frutos, desencadeando em uma podridão negra, com aspecto cotonoso.

Podridões no cladódio podem comprometer a produção, além disso, lesões no fruto comprometem a qualidade final do produto, prejudicando sua comercialização e consumo.

Assim, devido a escassez de trabalhos na literatura sobre esses assuntos, objetivou-se com este experimento (i) identificar e caracterizar a diversidade de espécies de fungos patogênicos associados a cladódios e frutos de pitaia vermelha de polpa branca, usando informações preliminares de sintomatologia, identificação morfológica, filogenia molecular e cruzamentos em laboratório e; (ii) avaliar a patogenicidade dos fungos em cladódios e em frutos com 15 e 35 dias após a antese, em ambiente controlado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Isolamento

Foram realizadas nos meses de abril e maio de 2017, coletas aleatórias de frutos de pitaiia vermelha de polpa branca [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] em plantas com quatro anos pós-plantio instaladas no Setor de Fruticultura, do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, para condução do experimento e posterior isolamento dos fungos. O município de Lavras está situado a 21°14'06" de latitude sul e 45°00'00" de latitude oeste, a altitude média de 918 m. O clima da região é do tipo Cwa, temperado chuvoso (mesotérmico), caracterizado por apresentar inverno seco e verão chuvoso (ALVARES et al., 2013).

As plantas foram conduzidas no sistema do tipo espaldeira, com mourões de eucalipto a 1,8 m de altura do solo, no espaçamento de 2,5 x 2,5 m, e foram adubadas de acordo com a necessidade, com base em resultados da análise química do solo.

A irrigação e o controle de plantas daninhas foram realizados conforme recomendações para a cultura.

As coletas foram realizadas semanalmente após a antese, até os 42 dias, totalizando seis coletas e seis frutos por coleta.

Os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Micologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, lavados em água corrente e colocados para secar a temperatura ambiente por 30 minutos. Foram cortados fragmentos com 2 cm da região de inserção da flor. Na sequência foi realizada a desinfestação dos fragmentos com álcool 70% (C₂H₅OH), hipoclorito de sódio 1% (NaOCl) e água destilada esterilizada por um minuto em cada etapa de assepsia. Os fragmentos dos frutos foram secos em papel filtro estéreis e plaquedados em meio Malte 2% no número de cinco fragmentos por placa. As placas foram incubadas a temperatura ambiente (25°C) por cinco dias.

2.1.2 Obtenção dos isolados e preservação

Foi obtida uma coleção com 45 isolados de diversas espécies de fungos de cladódios e frutos de pitaiia assintomáticos e sintomáticos de diferentes origens geográficas (TABELA 1). Foram selecionados isolados para serem depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML), Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil (<http://www.dfp.ufla.br/cml/>). Os isolados foram depositados pelo método de Castellani a 10 °C e criopreservação em suspensão de esporos em glicerol 15% a -80 °C

Tabela 1 - Isolados obtidos de pitaia (*Hylocereus undatus*) (continua...)

Espécie	CML	Origem Geográfica	Substrato	<i>ATPase</i>	<i>ITS</i>	<i>MAT</i>	Data da coleta
<i>Alternaria alternata</i>	4062	Lavras, MG	Fruto c/ lesão	X			2017
<i>Alternaria</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Alternaria alternata</i>	4001	São Thomé das Letras, MG	Cladódio	X			2017
<i>Bipolaris cactivora</i>	4000	Lavras, MG	Fruto c/lesão		X		2017
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia				
<i>Bipolaris cactivora</i>		Três Pontas, MG	Fruto c/ lesão				
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia				
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia				2017

Tabela 1 - Isolados obtidos de pitaiá (*Hylocereus undatus*). (continua...)

Espécie	CML	Origem Geográfica	Substrato	ATPase	ITS	MAT	Data da coleta
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia				2017
<i>Bipolaris cactivora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Bipolaris cactivora</i>		Ribeirão Vermelho, MG	Cladódio				2017
<i>Botryosphaeria</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia				
<i>Chaetomium</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Cladosporium</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
<i>Cladosporium</i>		Lavras, MG	Fruto 4				2017
<i>Colletotrichum</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
<i>Curvularia</i>		Ribeirão Vermelho, MG	Cladódio				2017
<i>Fusarium</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão (clínica)			Nd	2017
<i>Fusarium</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão (clínica)			Nd	2017
<i>Fusarium</i>		Três Pontas, MG	Fruto c/ esporulação			Nd	

Tabela 1 - Isolados obtidos de pitaia (*Hylocereus undatus*). (continua...)

Espécie	CML	Origem Geográfica	Substrato	ATPase	ITS	MAT	Data da coleta
<i>Fusarium oxysporum</i>		Brasília, DF	Cladódio				2018
<i>Fusarium oxysporum</i>		Brasília, DF	Cladódio				2018
<i>Fusarium proliferatum</i>	4058	Lavras, MG	Fruto c/lesão (clínica)			Nd	2017
<i>Fusarium proliferatum</i>		Ribeirão Vermelho, MG	Cladódio			Nd	2017
<i>Fusarium semitectum</i>		Três Pontas, MG	Fruto c/ lesão				
<i>Fusarium semitectum</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				
<i>Fusarium solani</i>	4064	São Tomé das Letras, MG	Cladódio				2017
<i>Fusarium verticillioides</i>	4059	Lavras, MG	Fruto c/lesão			2	2017
<i>Fusarium verticillioides</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão			2	2017
<i>Fusarium verticillioides</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia			2	
<i>Fusarium verticillioides</i>		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia			2	
<i>Fusarium verticillioides</i>	4061	Três Pontas, MG	Cladódio c/ esporulação			2	

Tabela 1 - Isolados obtidos de pitaia (*Hylocereus undatus*). (conclusão)

Espécie	CML	Origem Geográfica	Substrato	ATPase	ITS	MAT	Data da coleta
<i>Fusarium verticillioides</i>	4060	Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia			2	2017
<i>Fusarium verticillioides</i>	4063	Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia			2	
<i>Melanospora</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
Micélio estéril		Lavras, MG	Fruto c/ parte branca sadia				
Micélio estéril		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Nigrospora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Nigrospora</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Penicillium</i>		Lavras, MG	Fruto c/lesão				2017
<i>Phialophora sp</i>		Brasília, DF	Cladódio				2018
<i>Ulocladium</i>		Lavras, MG	Fruto c/ lesão				2017
<i>Fusarium verticillioides</i>	766T	Estados Unidos	Estados Unidos		2		
<i>Fusarium verticillioides</i>	767T	Estados Unidos	Estados Unidos		1		
<i>Fusarium proliferatum</i>	770T	Estados Unidos	Estados Unidos		2		
<i>Fusarium proliferatum</i>	771T	Estados Unidos	Estados Unidos		1		

CML: Coleção Micológica de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil; ATPase., ITS, MAT: Mating type dos isolados identificados por PCR. MAT-1 = 1; MAT-2; Nd: Não definido.

Fonte: Da autora (2019).

2.2 Caracterização morfológica

Para avaliação das características macromorfológicas das espécies do gênero *Fusarium*, *Bipolaris* e *Alternaria*, isolados monospóricos foram crescidos em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) e incubados a 25 °C, no escuro, por 4 dias, para observação da taxa de crescimento e após 10 dias, para avaliação da pigmentação da colônia (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

As características micromorfológicas foram observadas e avaliadas em meio de cultura *Synthetic Nutrient-poor Agar* (SNA) acrescido de folha de cravo, incubadas a 20 °C, sob fotoperíodo com luz branca fluorescente, após um período de 10 a 14 dias (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Foram avaliados formas e tamanhos de macroconídios e microconídeos, formação de conídios em cadeias microconidiais ou falsas cabeças, produção de esporodoquio, tipos de fiálides e presença de clamidósporos. Para cada isolado, foram realizadas três repetições. Foram tomadas medições das estruturas da fase assexuada em microscópio de luz (Modelo Olympus BX-50F4, Tóquio, Japão).

2.3 Extração de DNA, PCR e análises filogenéticas

Dois isolados monospóricos de *Alternaria* e um de *Bipolaris* foram cultivados em meio malte líquido 2% incubado em agitador a 100 rpm por três dias à temperatura ambiente que variou de 25 °C a 28 °C (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Os micélios foram filtrados, macerados em nitrogênio líquido e a extração de DNA foi realizada utilizando o protocolo CTAB modificado de Murray e Thompson (1980). As concentrações e integridade do DNA foram estimadas em aparelho NanoDrop 2000 e verificada visualmente em gel de agarose 1,2%, pela intensidade da banda.

As reações foram realizadas utilizando o kit GoTaq[®] Colorless Master Mix (Promega). Para *Alternaria* amplificou-se o gene *Plasma membrane ATPase* e para *Bipolaris* o gene ITS. Na amplificação do gene *Plasma membrane ATPase* foram utilizados os primers *ATPDF1* (forward; 5'-ATCGTCTCCATGACCGAGTTCG-3') e *ATPDRI* (reverse; 5'-TCCGATGGAGTTCATGATAGCC-3') com as condições de reação de: 94°C, por 4 minutos, 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 59 °C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto e 72°C por 5 minutos (LAWRENCE et al., 2013). Para a amplificação do gene ITS os primers utilizados foram ITS 4 e ITS 5 com as condições descritas por White et al. (1990).

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,2%, corado com GelRed (Biotium®), com posterior visualização em fotodocumentador. Os fragmentos amplificados foram purificados utilizando o kit de purificação de DNA em colunas (Ludwig Biotec). Os fragmentos gênicos foram sequenciados nas direções senso e antisenso, pela empresa Macrogen, USA.

Os eletroferogramas gerados foram analisados visualmente por meio do programa SeqAssem (HEPPERLE, 2004). As sequências editadas foram comparadas com a base de dados GenBank do National Center for Biotechnological Information – NCBI utilizando a ferramenta BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST/>).

Foram gerados alinhamentos múltiplos das sequências de nucleotídeos utilizando a ferramenta CLUSTALW implementado no programa MEGA 6 e estes foram corrigidos manualmente. A análise filogenética foi realizada pelo método de Máxima Parcimônia no programa MEGA 6 (TAMURA et al., 2011) e o suporte do clados foi inferido a partir de 1.000 repetições. A análise bayesiana foi realizada no programa MrBayes 3.2 (RONQUIST et al., 2012). O modelo de substituição nucleotídica foi estimado no programa Mega 6. Os modelos escolhidos foram: TN93+G para *Alternaria* e JC+G para *Bipolaris*. Os algoritmos Markov Chain Monte Carlo de quatro cadeias foram executados 2×10^4 gerações tanto para análise de *Alternaria* quanto de *Bipolaris* e foram amostradas a cada 10 gerações. Vinte e cinco por cento das árvores iniciais geradas foram descartadas para obtenção da árvore consenso. As árvores filogenéticas foram visualizada no figTree 1.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) e editadas no software Corel Draw X7. Sequências de isolados de referência foram utilizadas nas análises de *Alternaria* e *Bipolaris* (TABELA 2 e TABELA 3). Sequência de *Embellisia annulata* (CBS 302.84) foi utilizada como outgroup para a análise filogenética de *Alternaria*, com base nos resultados obtidos por Lawrence et al. (2013). Para *Bipolaris* como outgroup foi utilizado à sequência tipo de (E.G.S 34.016).

Tabela 2 - Isolados de *Alternaria* utilizados no estudo (continua...)

Códigos	Espécie	Hospedeiro	País	Número de acesso do GenBank ATPase
CML 4062	<i>A. alternata</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil	
CML 4001	<i>A. alternata</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil	
EGS 34.016 ^T = CBS 916.96	<i>A. alternata</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	India	JQ671874
EGS 40.140 = CBS 119408	<i>A. alternata</i> (<i>A. herbiphorbicola</i>)	<i>Euphorbia esula</i>	USA	JQ671888
EGS 46.069 = CBS 121454	<i>A. alternata</i> (<i>A. destruens</i>)	<i>Cuscuta gronovii</i>	USA	JQ671873
CBS 106.34 = EGS 06-198	<i>A. alternata</i> (<i>A. lini</i>)	<i>Linum usitatissimum</i>	Unknown	JQ671863
EGS 45-007 = CBS 102604	<i>A. alternata</i> (<i>A. dumosa</i>)	<i>Minneola tangelo</i>	Israel	JQ671877
CBS 595 93	<i>A. alternata</i> (<i>A. rhadina</i>)	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japan	JQ671870
EGS 42.013 = ATCC 96837	<i>A. celosiae</i>	<i>Celosia cristata</i>	Baton Rouge, LA	JQ671891
EGS 52.039	<i>A. alternantherae</i>	-	-	JQ671892
CBS 124392 = HSAUP2798	<i>A. alternantherae</i>	<i>Solanum melongena</i>	China	-
ATCC 58175	<i>A. porri</i>	<i>Allium fistulosum</i>	USA	JQ671901
EGS 42.060 = CBS 119411	<i>A. pseudorostrata</i>	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	USA	JQ671912

Tabela 2 - Isolados de *Alternaria* utilizados no estudo. (conclusão...)

Códigos	Espécie	Hospedeiro	País	Número de acesso do GenBank ATPase
CML 4062	<i>A. alternata</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil	
EGS 33.169 = CBS 116702	<i>A. cinerariae</i>	<i>Cineraria maritima</i>	Great Britain	JQ671848
EGS 46.051 = ATCC 96831	<i>A. sonchi</i> <i>A. radicina</i>	<i>Daucus carota</i> seed	France	JQ671849 JQ671851
EGS 25-198 = CBS 109382	<i>A. selini</i>	<i>Petroselinum crispum</i>	Saudi Arabia	JQ671853
EGS 29-180 = CBS 482.81	<i>A. panax</i>	<i>Aralia racemosa</i>	USA	JQ671846
EGS 41-005 = CBS 121339	<i>A. eryngii</i>	<i>Eryngium</i> sp.	Unknown	JQ671844
EGS 37-139 = CBS 196.86	<i>A. conjuncta</i>	<i>Pastinaca sativa</i>	Switzerland	JQ671824
EGS 27-193 = CBS 210.86	<i>A. infectoria</i>	<i>Triticum aestivum</i>	UK	
EGS 01-056 = CBS 118696	<i>A. mimicula</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	USA	JQ671842
EEB 2232	<i>A. brassicicola</i>	-	-	JQ671843
CBS 118699 = EGS 42-002	<i>A. brassicicola</i>	<i>Brassica oleracea</i>	USA	-
CBS 302.84	<i>Embellisia annulata</i>	<i>Cancer pagurus</i>	North Sea, Skagerrak	JQ671766

Fonte: Da autora (2019).

Tabela 3 - Isolados de *Bipolaris* utilizados no estudo.

Códigos	Espécie	Hospedeiro	País	Número de acesso do GenBank
				ITS
CML 4000	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil	
DB13GEN09	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Italy	KF041822
Strain 737	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	HM598679
Strain 738	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	HM598678
Strain 739	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	HM598677
Isolate 1.6	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Thailand	KT287110
CBS 127235	<i>B. micropus</i>	Human clinical samples	USA	HE792934
Strain L1	<i>B. spicifera</i>	<i>Saccharum officinarum</i>	China	JN695634
CBS 327.64	<i>B. victoriae</i>	<i>Avena sativa</i>	USA	KJ909778
ICMP 6227	<i>B. sacchari</i>	<i>Oplismenus imbecillis</i>	New Zealand	KJ922386
MFLUCC 100715	<i>B. oryzae</i>	<i>Oryza sativa</i>	Thailand	JX256416
BRIP 14845	<i>B. coffeana</i>	<i>Coffea arabica</i>	Kenya	KJ415525
CBS 136.29	<i>B. maydis</i>	<i>Zea mays</i>	Japan	KJ909769
CBS 690.96	<i>B. bicolor</i>	Unknown	Cuba	KJ909762
CBS 241.92	<i>B. heveae</i>	<i>Hevea</i> sp.	Nigeria	KJ909763
CBS 480.74	<i>B. sorokiniana</i>	<i>Tribulus terrestris</i>	South Africa	KJ909771
BRIP 11512	<i>B. zea</i>	<i>Zea mays</i>	Australia	KJ415538
BRIP 14840	<i>B. gossypina</i>	<i>Gossypium</i> sp.	Kenya	KJ415528
BRIP 16571	<i>B. salviniae</i>	<i>Salvinia auriculata</i>	Brazil	KJ415535
EGS 34.0160	<i>A. alternata</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	India	AF071346

Fonte: Da autora (2019).

3 Testes de patogenicidade

3.1 Método da injeção da suspensão de conídios

Os isolados foram repicados em meio de cultura *Synthetic Nutrient-poor Agar* (SNA), incubados a temperatura ambiente por sete dias. As suspensões de conídios foram preparadas com água destilada autoclavada, com as culturas fúngicas e conídios extraídos das placas de Petri 90 mm por raspagem da superfície da cultura com auxílio de uma lâmina de vidro. As suspensões de conídios foram filtradas em gase, em seguida calibradas para a concentração de 1×10^6 conídios mL^{-1} em um hemocitômetro (Neubauer). A inoculação foi realizada em cladódios e frutos saudáveis, pelo método de injeção da suspensão de conídios (0,2 mL), injetada em dois pontos equidistantes de cada cladódio e fruto, utilizando uma seringa e agulha descartáveis (HAWA et al., 2017). As testemunhas foram inoculadas com 0,2 mL de

água destilada autoclavada. Todas as plantas e testemunhas inoculadas foram colocadas em casa de vegetação com temperaturas diurnas e noturnas variando de 30-35°C e 23-30°C, respectivamente. Todas as mudas inoculadas foram organizadas de forma aleatória, em bancadas na casa de vegetação. O desenvolvimento dos sintomas foi observado continuamente, a cada dois dias, durante quatro semanas.

Cinco isolados fúngicos foram selecionados: *Fusarium proliferatum*, dois de *Fusarium verticillioides*, *Bipolaris cactivora* e *Alternaria alternata* + testemunha.

Os isolados fúngicos foram re-isolados e re-identificados, baseando nas características morfológicas, para confirmação do Postulado de Koch. Os testes de patogenicidade foram repetidos duas vezes com o intuito de determinar a consistência do desenvolvimento da doença e os sintomas produzidos pelos isolados.

3.1.1 Patogenicidade em cladódios

Para o teste de patogenicidade foram utilizados cladódios com aproximadamente 25 cm de comprimento e três meses de idade, obtidos de um pomar de pitaia instalado no Setor de Fruticultura, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, os quais foram cultivados e mantidos em casa de vegetação no Setor de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, com temperaturas diurnas e noturnas de aproximadamente 15-20°C e 10-20°C, respectivamente. Cinco isolados fúngicos representativos foram selecionados para o teste de patogenicidade. A distância entre os pontos de inoculação foi de dois centímetros.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, sendo os tratamentos compostos por cinco isolados fúngicos (*Fusarium proliferatum*, *Bipolaris cactivora*, dois de *Fusarium verticillioides*, *Alternaria alternata*) + testemunha (sem inoculação), com três repetições e cinco plantas/parcela, totalizando 90 mudas. As avaliações dos sintomas de podridão nos cladódios foram realizadas a cada dois dias por um período de três semanas. Foram realizadas medições do comprimento e largura das lesões com auxílio de trena milimetrada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

Para completar o postulado de Koch's realizou-se o reisolamento e reidentificação dos isolados inoculados, baseado nas características morfológicas. Os testes de patogenicidade

foram repetidos duas vezes para determinar a consistência do desenvolvimento da doença e os sintomas produzidos pelos isolados.

3.1.2 Patogenicidade em frutos

3.1.2.1 Método de injeção da suspensão de conídios

A inoculação foi realizada em frutos saudáveis, em dois estágios de maturação, 15 e 35 dias após a antese, obtidos de um pomar de pitaia instalado no Setor de Fruticultura, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. Após a coleta foram desinfestados em água corrente com detergente neutro e álcool 70%, em seguida colocados para secar em bandejas plásticas em bancada.

Todos os frutos e controles inoculados foram organizados aleatoriamente nas bandejas e incubados em câmara úmida por 17 horas, com temperaturas diurnas de aproximadamente 25°C e noturnas de 22°C, por 14 dias, com os frutos acomodados individualmente em placas de Petri, com o fundo das bandejas revestidas com toalhas de papel embebidas em água. Em seguida as bandejas foram seladas com saco plástico com o intuito de manter um ambiente úmido, em bancada. Cinco isolados fúngicos representativos foram selecionados para o teste de patogenicidade, sendo a distância entre os pontos de inoculação de dois centímetros. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramento casualizado, sendo os tratamentos compostos por cinco isolados fúngicos (*Fusarium proliferatum*, *Bipolaris cactivora*, dois de *Fusarium verticillioides*, *Alternaria alternata*) + testemunha (sem inoculação), com seis repetições, sendo um fruto por parcela. As avaliações dos sintomas de podridão nos frutos foram realizadas diariamente por um período de três semanas. Após esse período os sintomas de podridão foram avaliados com medições do comprimento e largura das lesões.

Os isolados de fungos foram reisolados e reidentificados para confirmação do postulado de Koch. Os testes de patogenicidade foram repetidos duas vezes para determinar a consistência do desenvolvimento da doença e os sintomas produzidos pelos isolados.

3.1.2.2 Método do Carborundum

A inoculação foi realizada em frutos saudáveis de pitaia em dois estágios de maturação, com 15 e 35 dias após a antese, pelo método de carborundum, por esfregação do pó

de carborundum antes da inoculação da suspensão de conídios (0,2 mL) ser aplicada, em dois pontos equidistantes de cada fruto, utilizando uma pipeta com ponteira descartável.

Nas testemunhas foram aplicadas 0,2 mL de água destilada esterilizada. Todos os frutos e controles inoculados foram colocados em bandejas de plástico incubadas em câmara úmida em bancada, com temperaturas diurnas de aproximadamente 25°C e noturnas de 22°C, organizadas aleatoriamente. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, sendo os tratamentos compostos por cinco isolados fúngicos (*Fusarium proliferatum*, *Bipolaris cactivora*, dois de *Fusarium verticillioides*, *Alternaria alternata*) + testemunha (sem inoculação), com seis repetições, sendo um fruto por parcela. As avaliações dos sintomas de podridão nos frutos foram realizadas diariamente por um período de 3 semanas. Após 3 semanas os sintomas de podridão foram avaliados com medições do comprimento e largura das lesões.

Os isolados de fungos foram reisolados e reidentificados para confirmação do postulado de Koch. Os testes de patogenicidade foram repetidos duas vezes para determinar a consistência do desenvolvimento da doença e os sintomas produzidos pelos isolados.

3.2 Identificação de *mating type* e indução da fase sexuada

Os isolados com características morfológicas das espécies do complexo *Fusarium fujikuroi* foram identificados inicialmente por morfotipo. Os identificados no morfotipo *F. verticillioides* (produção de cadeias longas de microconídios a partir de monofiálides) foram cruzados com os isolados testadores da espécie CML 766 (MAT-2) e CML 767 (MAT-1), para confirmar a espécie biológica e o *mating type* dos isolados. O mesmo foi feito para o isolado do morfotipo *F. proliferatum* (produção de cadeias curtas de microconídios a partir de polifiálides), sendo esses cruzados com os isolados testadores da espécie CML 770 (MAT-2) e CML 771 (MAT-1). Os cruzamentos foram realizados de acordo com metodologia padrão para estudo de compatibilidade sexual no FFSC (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Os isolados usados como parental masculino foram cultivados em tubo de ensaio contendo meio completo e incubados a 20°C sob fotoperíodo de 12 h de luz branca fluorescente combinada com luz negra, por sete dias. Os isolados usados como parental feminino foram cultivados em placas de Petri (60 mm) contendo meio cenoura ágar e incubados a 25°C no escuro por sete dias. Após o período de incubação foi preparada uma suspensão de esporos usando o parental masculino pela adição de 1 mL de solução de Tween 80 e água destilada esterilizada a 2,5%

(v/v). Em seguida, a suspensão foi depositada na superfície da colônia do isolado usado como parental feminino e por meio de uma alça de Drigalski, espalhado de modo a umedecer completamente o micélio. Os cruzamentos foram incubados a 20 °C, com fotoperíodo de 12 h de luz branca fluorescente combinada com luz negra, por um período de até cinco semanas. Foram considerados férteis os cruzamentos que produziram peritécios com exsudação de ascósporos. Os cruzamentos foram repetidos duas vezes para confirmação dos resultados. As estruturas da fase sexuada foram caracterizadas de acordo com Leslie e Summerell (2006).

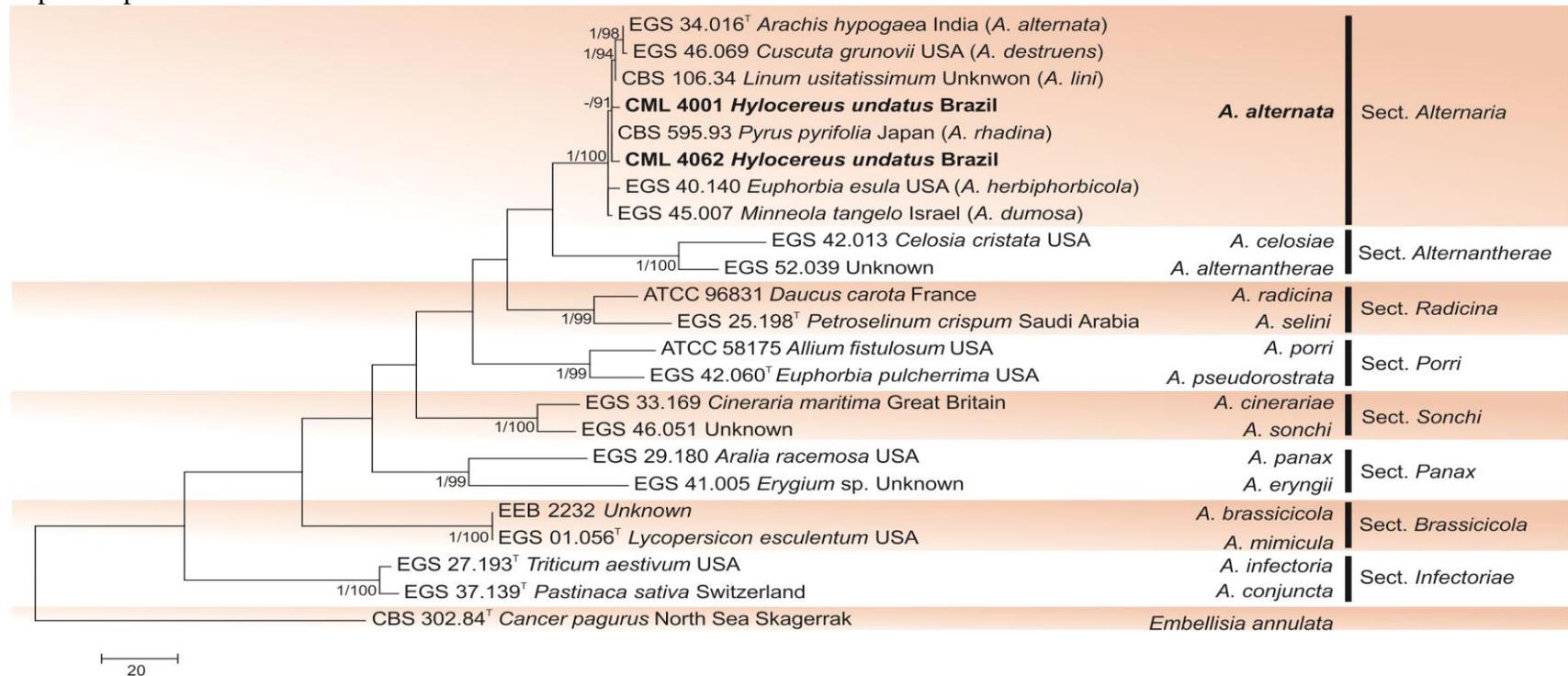
A viabilidade dos ascósporos foi avaliada pelo teste de germinação em ágar-água 2%. Utilizando um estilete, cirros de ascósporos foram coletados, depositados na superfície do meio e espalhados com alça de Drigalski. Posteriormente, as placas foram incubadas a 25 °C por 24 h. Após o período de incubação, a germinação dos ascósporos foi avaliada em microscópio de luz.

4 RESULTADOS

4.1 Análise filogenética

De acordo com a análise filogenética com base em sequências de DNA do gene *Plasma membrane ATPase*, os isolados CML 4001 e CML 4062 obtidos de cladódio e fruto de pitaia sintomáticos foram identificados como *Alternaria alternata* (FIGURA 1). A análise filogenética de Máxima Parcimônia gerou quatro árvores mais parcimoniosas e a topologia gerada evidenciou ainda que esses isolados agruparam na seção *Alternaria* do Clado A. Estes isolados agruparam com o isolado tipo E.G.S. 34.016 com 100% de *bootstrap* e probabilidade posterior (FIGURA 1).

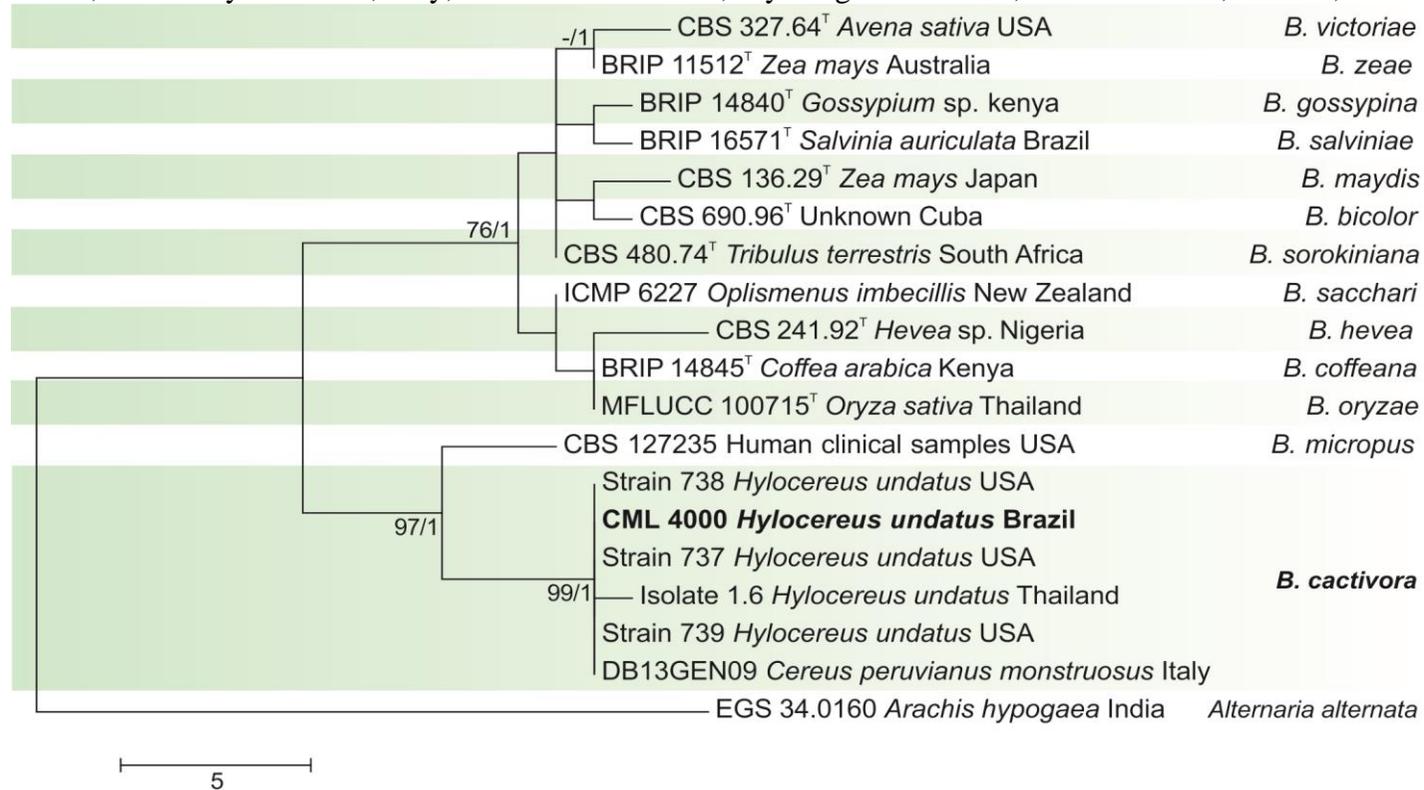
Figura 1 - Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Alternaria*, usando sequências de *Plasma membrane ATPase*. *Pleospora herbarum* e *Pleospora tarda*, utilizados como *outgroup*. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior ≥ 0.90 e de *bootstrap* ≥ 0.70 de 1000 repetições são indicados em porcentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.673, RI = 0.713 na análise de máxima parcimônia. Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras; CBS - Centraalbureau voor Schimmelcultures, Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, The Netherlands; EGS - EG Simmons, Mycological Services, Crawfordsville, Indiana; ATCC - American Type Culture Collection, Manassas, Virginia; BMP - BM Pryor, School of Plant Sciences, University of Arizona, Tucson, Arizona; DGG – DG Gilchrist, Department of Plant Pathology, University of California, Davis, California; EEB - EE Butler, Department of Plant Pathology, University of California, Davis, California. T – espécie tipo.



Fonte: Da autora (2019).

Em relação ao alinhamento de espécies de *Bipolaris* para o gene ITS, este continha 19 sequências com 565 caracteres, destes 419 conservados, 143 variáveis e 70 informativos. A análise filogenética pelo método de Máxima parcimônia gerou sete árvores mais parcimoniosas. A topologia gerada evidenciou que o isolado CML 4000 obtido de fruto de pitaia com podridão agrupou com o material de referência de *Bipolaris cactivora* com 99% de suporte e 100% de probabilidade posterior (FIGURA 2).

Figura 2 - Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Bipolaris*, usando sequências de ITS. *Alternaria alternata*, foi utilizada como *outgroup*. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior ≥ 0.90 e os valores de *bootstrap* ≥ 0.70 de 1000 repetições são indicados em porcentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.862, RI = 0.914 na análise de máxima parcimônia. Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras; CBS - Centraalbureau voor Schimmelcultures, Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, The Netherlands; BRIP - Queensland Plant Pathology Herbarium, Brisbane, Queensland, Australia; ICMP - International Collection of Microorganisms from Plants, Auckland, New Zealand; MFLUCC - Mae Fah Luang University Culture Collection, Chiang Rai, Thailand; DB13GEN09 - Center of Competence Agroinnova, University of Torino, Italy; EGS - EG Simmons, Mycological Services, Crawfordsville, Indiana; T – espécie tipo.



Fonte: Da autora (2019).

4.2 Determinação de *mating types* e teste de compatibilidade sexual

Para o isolado do morfotipo *F. proliferatum* (CML 4058) não houve cruzamentos férteis com os isolados testadores da espécie *F. proliferatum*, não sendo possível identificar o *mating type* e confirmar a identidade do isolado utilizando o critério de espécie biológica. Os sete isolados de *F.* inicialmente identificados por morfologia como *F. verticillioides* tiveram sua identidade confirmada por meio do cruzamento com os testadores. Todos os isolados de *F. verticillioides* são do *mating type* MAT-2 e a formação dos peritécios ocorreu uma semana após os cruzamentos, com exsudação em três semanas. Os ascósporos exsudados pelos peritécios de todos os cruzamentos férteis de todas as espécies avaliadas mostraram-se viáveis, germinando após 12 h de incubação. Os isolados quando cruzados com testadores de outras espécies do FFSC, não produziram peritécios.

Tabela 4 - Relação dos cruzamentos entre isolados das espécies *F. proliferatum* e *F. verticillioides* com seus respectivos testadores

Espécie	♀ (<i>MAT-1</i>) ^a	♂ (<i>MAT-2</i>) ^b	♀ (<i>MAT-2</i>) ^c	♂ (<i>MAT-1</i>) ^d
<i>F. proliferatum</i>	CML 771	CML 4058	CML 770	x CML 4058
<i>F. verticillioides</i>	CML 767	x NFA5B*	CML 766	x NFA5B
	CML 767	x NFA12*	CML 766	x NFA12
	CML 767	x CML 4060*	CML 766	x CML 4060
	CML 767	x NFA16*	CML 766	x NFA16
	CML 767	x NFA17*	CML 766	x NFA17
	CML 767	x NFA20*	CML 766	x NFA20
	CML 767	x CML 4063*	CML 766	x CML 4063

^a ♀ (*MAT-1*) indica os isolados do *mating type* *MAT-1* férteis como fêmea

^b ♂ (*MAT-2*) indica os isolados do *mating type* *MAT-2* férteis como macho

^c ♀ (*MAT-2*) indica os isolados do *mating type* *MAT-2* férteis como fêmea

^d ♂ (*MAT-1*) indica os isolados do *mating type* *MAT-1* férteis como macho

* cruzamentos férteis

Fonte: Da autora (2019).

4.3 Caracterização morfológica

Os caracteres macroscópicos e micromorfológicos da fase assexuada dos isolados das espécies *Fusarium proliferatum* e *Fusarium verticillioides* foram de acordo com a descrição da literatura (LESLIE; SUMMERELL, 2006; MARASAS et al., 2001). Ambas as espécies se caracterizam por produzir macroconídios em esporodóquios e não produzir clamidósporo.

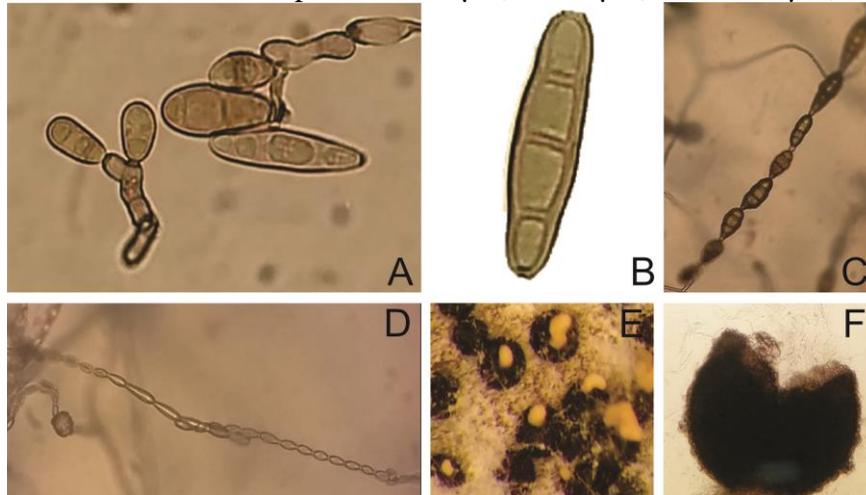
Fusarium proliferatum produz microconídios em cadeias curtas, a partir de polifiálides. Já *Fusarium verticillioides* caracteriza-se pela produção de microconídios em cadeias longas a partir de monofiálides (FIGURA 3).

As estruturas da fase sexuada foram semelhantes para os isolados representantes das espécies *F. proliferatum* e *F. verticillioides*, apresentando características morfológicas descritas para as espécies (KUHLMAN, 1982; LESLIE; SUMMERELL; DOE, 2005).

Para o isolado *Bipolaris cactivora* os resultados obtidos neste experimento foram semelhantes aos encontrados por Tarnowski et al. (2010), Taba et al. (2007), Oeurn et al. (2015) e He et al. (2012).

Os resultados obtidos pelo isolado *Alternaria alternata* foram semelhantes aos encontrados por Castro et al. (2017) e Hoog, Cuarro e Figueras (2000).

Figura 3 - Marcadores morfológicos das espécies de *Bipolaris*, *Alternaria* e *Fusarium* (A-B) - Conídios de *Bipolares cactivora*, C- Conídios em cadeia de *Alternaria alternata*, (D- F). Microconídios em cadeia de *F. verticillioides*, (E-F) - Estruturas da fase sexuada, peritécios exsudando ascósporos. A= 35 μm , B= 25 μm , C e D= 20 μm , F= 150 μm .



Fonte: Da autora (2019)

4.4 Teste de patogenicidade

4.4.1 Cladódios

Verificou-se efeito significativo para as variáveis comprimento (cm) e largura (cm) das lesões entre os isolados testados ($p < 0,05$). Todos os isolados foram patogênicos para *H. undatus* (TABELA 5).

Tabela 5 - Comprimento (C) e largura (L), (cm), das lesões dos isolados de *F. proliferatum*, *Bipolaris cactivora*, *F. verticillioides*, *Alternaria alternata* inoculados em cladódios de pitaia.

	C	L
CML 4058	1,96a	1,92b
CML 4000	1,50b	1,00d
CML 4060	2,19a	2,38a
CML 4062	1,94a	1,89b
CML 4063	1,84a	1,68c

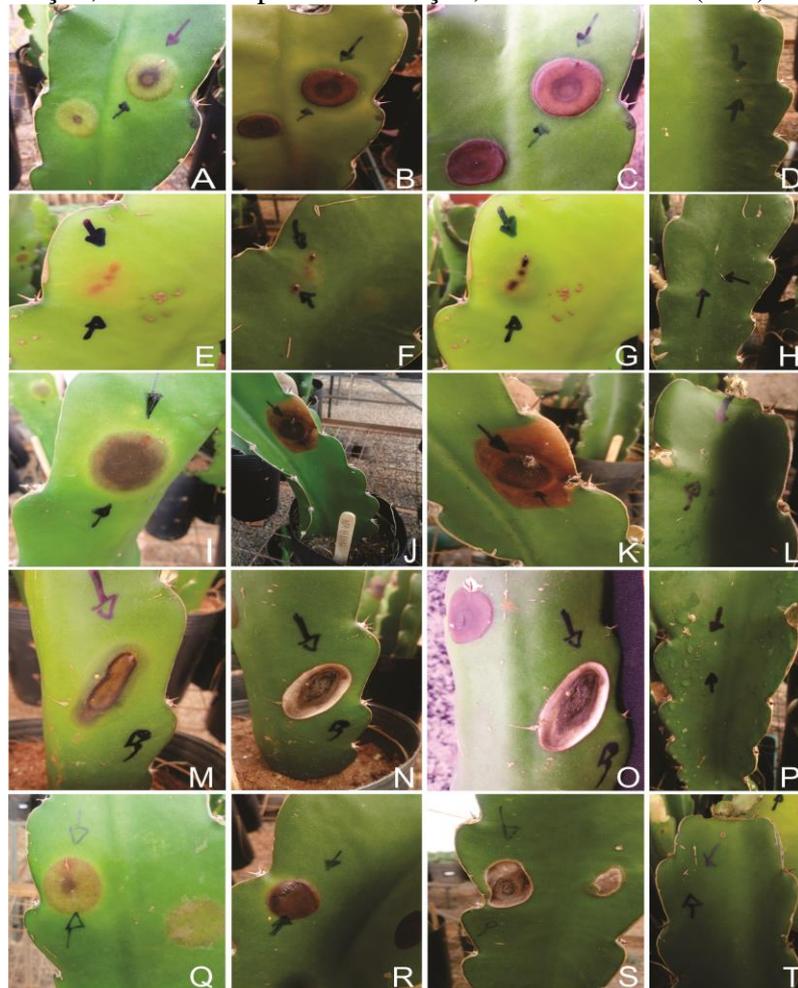
Grupo de médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$). CML 4058 (*Fusarium proliferatum*), CML 4000 (*Bipolaris cactivora*), CML 4060 (*Fusarium verticillioides*), CML 4062 (*Alternaria alternata*), CML 4063 (*Fusarium verticillioides*), C (comprimento da lesão) (cm), L (largura da lesão) (cm).

Fonte: Da autora (2019).

Os cinco isolados fúngicos testados induziram sintomas de podridão no cladódio quando inoculados em cladódios de três meses de *H. undatus* cinco dias após as inoculações, variando de acordo com a espécie inoculada. Não foi observado sintoma nos cladódios inoculados com água esterilizada. Os postulados de Koch foram cumpridos. Todos os cinco isolados foram patogênicos. Os sintomas foram semelhantes ao observado no campo. O teste de patogenicidade foi repetido duas vezes e os sintomas de podridão do cladódio foram semelhantes. Re-isolamentos confirmaram que a sintomatologia em cladódios infectados foi causada pelos isolados inoculados.

A progressão dos sintomas de acordo com os isolados inoculados está apresentada na Figura 4.

Figura 4 - A- Cladódios inoculados com (CML 4058) *F. proliferatum*. A- 5 dias após a inoculação, B- 20 dias após a inoculação, C- 32 dias após a inoculação; D- Testemunha (E-G) Cladódios inoculados com (CML 4000) *Bipolaris cactivora*. E- 5 dias após a inoculação, F- 20 dias após a inoculação, G-32 dias após a inoculação; H- Testemunha (I-K) Cladódios inoculados com (CML 4060) *F. verticillioides*. I- 5 dias após a inoculação, J- 20 dias após a inoculação, K- 32 dias após a inoculação; L- Testemunha (M-O) Cladódios inoculados com (CML 4062) *Alternaria alternata*. M- 5 dias após a inoculação, N- 20 dias após a inoculação, O-32 dias após a inoculação; P- Testemunha (Q-S) Cladódios inoculados com (CML 4063) *F. verticillioides*. Q- 5 dias após a inoculação, R- 20 dias após a inoculação, S- 32 dias após a inoculação; T- Testemunha (U-Z).



Fonte: Da autora (2019).

Para o isolado de *F. proliferatum* (CML 4058) foram observadas lesões circulares, de coloração marrom, com presença de esporodóquios laranja e micélio branco na superfície (A-C). Os sintomas nos cladódios inoculados com os isolados *F. verticillioides* CML 4060 e CML 4063 iniciaram-se a partir de cinco dias com a formação de lesões variando de coloração amarela a marrom, com aspecto inicialmente seco e com o desenvolvimento da

doença passou para aquosa, algumas já com exsudação e esporulação, com presença de micélio aéreo branco, de aspecto cotonoso.

Os primeiros sintomas do isolado *Bipolaris cactivora* (CML 4000) foram pequenas pontuações de coloração marrom e halo avermelhado, progredindo para lesões totalmente negras, medindo 1,5 cm de comprimento e 1 cm de largura, com esporulação visível 20 dias após a inoculação.

O isolado CML 4062 *Alternaria alternata* apresentou sintomas iniciais com lesões de coloração marrom, com região central mais escura e halo vermelho, algumas já com exsudação. Com a progressão da doença as lesões tornaram-se negras, com esporulação, bolor e micélio aéreo.

4.5 Frutos

4.5.1 Frutos verdes

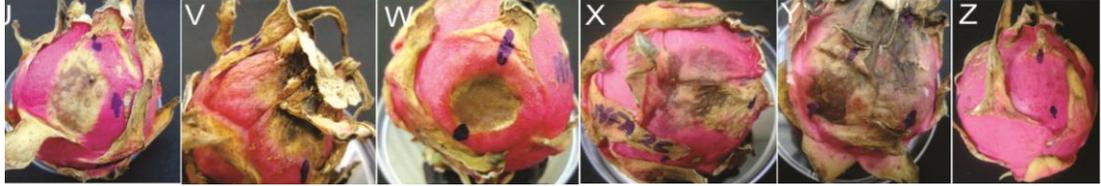
Os frutos verdes, colhidos com 15 dias após a antese, não apresentaram sintomas após as inoculações, em ambos os métodos utilizados.

Não foram observados sintomas em frutos inoculados com água destilada autoclavada, utilizado como controle.

4.5.2 Frutos maduros

Nos frutos colhidos com 35 dias após a antese, os isolados inoculados começaram a manifestar sintomas quatro dias após a inoculação, em temperatura ambiente (máx 25°C, mín 22°C), variando de acordo com o método de inoculação e espécie inoculada. Com quatro dias de inoculação surgiram os primeiros sintomas, os quais evoluíram com a progressão dos dias, ficando mais intensos a partir de seis dias após a inoculação, quando foram realizadas as medições das lesões. O reisolamento foi realizado com 14 dias após a inoculação (FIGURA 5).

Figura 5 - Sintomas em frutos após 6 dias de inoculação. Frutos inoculados com U- (CML 4058) *F. proliferatum*; V- (CML 4000) *Bipolaris cactivora*; W- (CML 4060) *F. verticillioides*; X- (CML 4062) *Alternaria alternata*; Y- (CML 4063) *F. verticillioides*; Z- Testemunha.



Fonte: Da autora (2019).

Não foi observado sintoma nos frutos inoculados com água destilada autoclavada, utilizado como controle.

Os isolados CML 4058, CML 4060 e CML 4063, apresentaram sintomas iniciais quatro dias após a inoculação. As lesões foram de formato circular, com coloração amarela amarronzada, progredindo para marrom escuro e consequente podridão aquosa. Alguns frutos apresentaram esporulação, com presença de micélio aéreo branco, de aspecto cotonoso. O isolado CML 4058 apresentou largura e comprimento médio de lesão variando de 0,5 a 1 cm, respectivamente, com seis dias após a inoculação. Alguns frutos apresentaram apenas pontuações de coloração amarela como sinais iniciais da inoculação, não sendo possíveis as medições. Já o isolado CML 4060 as médias das medições das lesões foram de 1,1 cm de largura x 0,96 cm de comprimento. Para o isolado CML 4063 os sintomas iniciais foram de manchas pequenas (pontuações) de coloração amarelada a marrom escura, com aspecto aquoso, porém não foi possível realizar as medições das lesões nesse período de avaliação, pois os sintomas foram apenas pontuações. Porém, com o progresso da doença até o reisolamento, surgiram as podridões aquosas. Em todos os frutos testados houve presença do patógeno *Bipolaris cactivora*, com esporulação notável.

Para o isolado CML 4000, inicialmente surgiram lesões amarelas irregulares, acastanhadas no centro, expandindo-se e eventualmente coalescendo, nos locais inoculados, afetando geralmente a parte superior dos frutos. Após quatro a seis dias de inoculação, o fungo cresceu e cobriu as lesões com um feltro denso e preto de conidióforos e conídios. As médias das lesões foram de 1,9 cm de largura e 2,5 cm de comprimento.

Já o isolado CML 4062 apresentou como sintomas da inoculação lesões amarronzadas, desuniformes, as quais progrediam para aspecto mole, desencadeando em podridão, porém não aquosa. Suas medições de largura e comprimento das lesões variaram entre 0,4 e 0,5,

respectivamente. Presença de esporulação visível com micélio verde nos pontos de inoculação de alguns frutos.

Em todos os tratamentos foi observada a presença de pontuações negras, de aspecto cottonoso (feltro), características do isolado CML 4000. A esporulação do *Bipolaris* foi melhor no meio Malte, se comparado ao SNA.

5 DISCUSSÃO

O isolado de *F. proliferatum* (CML 4058) foi confirmado como patogênico aos cladódios e frutos de pitaia, com sintomas de podridão.

O patógeno não é específico de um hospedeiro, infectando outras espécies. *F. proliferatum* já foi apontado como patógeno de cladódios de pitaia e os sintomas observados foram os mesmos descritos na literatura (HAWA et al., 2013). Os resultados dos testes de patogenicidade indicaram que *F. proliferatum* é um patógeno importante no cultivo da pitaia já que causa podridão nos cladódios e frutos. Espécies patogênicas de *Fusarium* que causam sintomas de podridão nos cladódios são comuns no solo, sobrevivendo nos restos de cultura e os conídios podem ser disseminados por equipamentos e ferramentas agrícolas, influenciando a progressão da doença que está diretamente relacionada com o manejo cultural (FLETCHER, 1994; KATAN, 2000).

Não houve cruzamentos férteis entre o isolado CML 4058 e os isolados testadores da espécie, não sendo possível identificar o mating type e confirmar sua identidade. Em contrapartida Hawa et al. (2013) trabalhando com a espécie *Hylocereus polyrhizus* na Malásia obteve resultados diferentes com relação a determinação de *mating types* e teste de compatibilidade sexual, pois ambos os alelos MAT ocorreram entre *F. proliferatum* isolados da podridão do cladódio e os cruzamentos sexuais produziram peritécios férteis, indicando que os isolados pertencem ao complexo de espécies de *Gibberella fujikuroi*. De acordo com Leslie et al. (2004), são poucos os isolados de *F. proliferatum* e *F. fujikuroi* que possuem compatibilidade sexual, resultando em cruzamentos férteis, com produção de peritécio e progênie viável. Incompatibilidade sexual entre diferentes espécies biológicas dentro do FFSC também foram relatadas por Desjardins et al. (2000) e Steenkamp et al. (2001).

Além de *F. proliferatum*, outras duas espécies agrupadas no FFSC foram identificadas, CML 4060 e CML 4063 como *Fusarium verticillioides*, agente causal da podridão do cladódio e fruto, com base na caracterização morfológica. *F. fujikuroi* está associado à doença de Brusone no arroz. Devido à variação intraespecífica, foram agrupados separadamente. Hawa et al. (2017) relataram em experimento com *Hylocereus polyrhizus* e em outros estudos prévios, que a espécie *F. fujikuroi* não está associada somente ao cultivo do arroz, já que foram encontrados isolados nas culturas de baunilha (PINARIA et al., 2010), grama d'água (CARTER; LESLIE; WEBSTER, 2008), trigo (SUGA et al., 2014), soja (PEDROZO; FENOGLIO; LITTLE, 2015). Fenômenos de mudança de hospedeiro de espécies de

Fusarium também foram relatadas em cereais, com o *F. graminearum* migrando para as culturas da batata e beterraba (BURLAKOTI et al., 2008) e *F. oxysporum* f. sp. *betae* de beterraba para amaranto (*Amaranthus retroflexus*) (MACDONALD; LEACH, 1976). O fenômeno do deslocamento do hospedeiro geralmente ocorre em ambiente onde há consórcio de culturas entre ecossistemas nativos e agrícolas (STENLID et al., 2011). Por *H. undatus* ser uma espécie originária da América tropical, o cultivo é mais suscetível a doenças de ambientes quente e úmido. A cultura pode não desenvolver resistência à doença, existindo risco de *F. fujikuroi* mudar do hospedeiro nativo para *H. undatus*.

Houve cruzamentos férteis para todos os sete isolados de *F. verticillioides* cruzados com os isolados testadores da espécie, sendo todos identificados como idiomorfo *MAT-2*, confirmando sua identidade. Além disso a reprodução sexual também resulta em aumento da variabilidade genética do patógeno, tendo conseqüentes implicações no desenvolvimento de variedades tolerantes de *H. undatus* e manejo do patógeno (HAWA et al., 2017).

Hawa et al. (2017) observou em trabalho conduzido com *Hylocereus polyrhizus* na Malásia bons níveis de cruzamentos férteis com FFSC, podendo ocorrer reprodução sexual em condições de campo, com formação dos ascósporos. A possível ocorrência dos ascósporos no campo contribui para a compreensão da epidemiologia da podridão do cladódio e frutos em *H. undatus*.

Os sintomas da podridão do cladódio e frutos observados nos testes de patogenicidade foram semelhantes aos causados por *F. proliferatum* (MASRATUL et al., 2013a). Hawa et al. (2017) obtiveram resultados diferentes em estudo conduzido com *H. polyrhizus* na Malásia, com isolados de *F. fujikuroi* causando sintomas de podridão menos grave.

O isolado CML 4000, baseando-se nas características morfológicas e filogenia molecular, foi identificado como *Bipolaris cactivora*. *Bipolaris cactivora* é um patógeno necrotrófico, agente causal da podridão basal em várias espécies de cactos no mundo, incluindo *Cephalocereus mezcalaensis*, *Cereus peruvianus*, *Cereus tetragonus*, *Chamaecereus silvestrii*, *Gymnocalycium mianovichii*, *Hylocereus undatus* e *H. trigonus* (CHASE, 1982; HYUN et al., 2001; TABA et al., 2007). Com o progresso da doença, pode ocorrer a morte da planta, pois os cladódios secam por inteiro. Este patógeno é considerado o mais importante na pós-colheita da pitáia, pois provoca deterioração do fruto de 4 a 7 dias após a infecção, inviabilizando seu consumo e desencadeando grandes perdas econômicas (OEURN; JITJAK; SANOAMUANG, 2016).

A podridão dos frutos em pitáia causada por *B. cactivora* já foi relatada em diferentes países como Flórida, Israel, Tailândia, Japão e Vietnã (TARNOWSKI; PALMATEER; CRANE, 2010; BEN-ZE'EV et al., 2011; OUERN; JITJAK; SANOAMUANG, 2016; TABA et al., 2007; HE et al. 2012). Também já foi relatada em Taiwan, China e Itália em *Cereus peruvianus monstruosus*, outra planta da família Cactaceae (WANG; LIN, 2005; LIU et al., 2011; GARIBALDI et al., 2014). Na Coréia, foi relatado como doença grave, ocorrendo principalmente no cacto H-G enxertado, correspondendo até 77% das infecções nas plantações de cactos (CHANG et al., 1998; HYUN et al., 2001).

A preocupação com essa doença tem crescido em decorrência do aumento na produção de pitáia e a utilização de cactáceas na ornamentação e as perdas na produção podem chegar até 44% (TABA et al., 2007), o que é agravado pela falta de produtos registrados para a cultura.

Sua patogenicidade para cladódios e frutos de pitáia foi confirmada, satisfazendo os postulados de Koch. Dentre os métodos utilizados para este patógeno, o que apresentou melhores resultados foi o de injeção da suspensão de conídios, se comparado ao do carborundum. Ben-Ze'ev et al. (2011) trabalhando com frutos maduros saudáveis da mesma espécie deste trabalho (cv 'Bilu'), encontraram resultados diferentes para o patógeno inoculado pelo método do carborundum que apodreceu mais rapidamente, se comparado ao método da suspensão de conídios. Frutos da cv. 'Desert King' também são susceptíveis ao ataque do patógeno. Os pomares de pitáia em Israel também são atacados pela doença da podridão seca do cladódio.

Os fungos patogênicos podem residir e permanecer em estado latente em diferentes partes da planta, como cladódios, flores, frutos e somente em condições ideais de germinação atingem os frutos. Há também as fontes secundárias do inóculo, como as plantas daninhas e espécies de gramíneas, onde o patógeno encontra-se na forma de conídios, permanecendo até que as condições ambientais sejam ideais para a germinação, desencadeando na patogenicidade em plantas hospedeiras.

Ouern et al. (2016) relataram em estudo a capacidade do *Bipolaris cactivora* causar apodrecimento em frutos de pitáia na pós colheita, segundo os autores os fungos patogênicos residem em diferentes partes das plantas antes do desenvolvimento dos frutos, como nos cladódios e flores. As flores da pitáia são a primeira fonte de inóculo dos patógenos fúngicos que causam doenças na pós-colheita dos frutos. *Bipolaris cactivora* é citado como um dos

fungos mais frequentes nas flores podres, com 100% de porcentagens de atuação, seguido por *Cladosporium sp.* 100%, *Alternaria sp.* 60%, *Fusarium sp.* 70% e *C. gloeosporioides*. 37%.

O período da floração da planta de pitaia na região Sul do estado de Minas Gerais ocorre de novembro a abril, período chuvoso na região. O excesso de chuva na floração pode contribuir para a ocorrência de abortos florais, devido a água da chuva carregar o pólen e afastar agentes polinizadores. Além disso, a condição de alta temperatura e umidade favorece a proliferação dos conídios, os quais residem nas flores e vestígios florais até os frutos serem desenvolvidos. Com isso acredita-se que os conídios são liberados e dispersos nas flores, sem causar infecção. Com a maturação completa das frutas, os conídios que estavam no interior das flores começam a germinar, surgindo os micélios, que são os sintomas da contaminação do fungo. Além disso, o solo do pomar que foi realizado a coleta dos frutos para o experimento tem plantas daninhas, com destaque para as gramíneas, consideradas fontes do inóculo. Assim, uma prática agrônômica recomendada para a cultura da pitaia seria a retirada de vestígios florais que normalmente ficam ligadas ao fruto até a maturação.

Deve-se levar em consideração fatores importantes para a progressão do ciclo de vida do patógeno, como temperatura e umidade ideais, variedades e a patogenicidade do fungo. O fungo é capaz de sobreviver em diversas espécies de cactos, plantas daninhas, como as gramíneas e no solo, na forma de escleródios. Como medidas de controle deve-se adotar as práticas do manejo da poda, indutores de resistência, bióticos e abióticos, retirada dos vestígios florais, já que as mesmas são porta de entradas e reservatórios dos fungos, controle de plantas daninhas e utilizar mudas saudáveis. Até o momento não há produto químico registrado para o controle na cultura da pitaia.

Já em plantações de cactos a doença foi controlada principalmente com a utilização de fungicidas sintéticos, com efeito imediato. No entanto, deve-se atentar ao período de utilização destes produtos químicos, já que o patógeno pode tornar-se resistente, como consequência do uso indiscriminado. Outra preocupação é com seus impactos ao meio ambiente, a saúde humana e animal, sendo necessária a busca por medidas alternativas de controle (HEIVIEUX et al., 2002).

Baseado nas características morfológicas e filogenia molecular, o isolado CML 4062 foi identificado como *Alternaria alternata*. A patogenicidade foi comprovada para cladódios e frutos de pitaia.

Alternaria alternata, agente causal da mancha negra, afeta várias plantas da família Cactaceae. Já foi encontrada associada a plantas e frutos de pitaia e no cactus ornamental

Gymnocalycium mihanovichii (CHOI et al., 2010; CASTRO et al., 2017). A espécie *A. alternata* engloba várias morfoespécies, dentre elas *A. herbiphorbicola*, *A. lini*, *A. dumosa*, *A. destruens*, *A. rhadina*. Estas espécies foram sinonimizadas por Woudenberg et al. (2015) por não poderem ser distinguidas de forma confiável com base em filogenia multigênica e em outros critérios utilizados para o reconhecimento de espécies.

A maioria dessas morfoespécies sinonimizadas sob o nome *A. alternata* foram descritas por Simmons (2007), baseadas apenas em um único isolado que foi coletado muito antes do ano de descrição (*A. brassicinae*, *A. citricancri*, *A. herbiphorbicola*, *A. pulvinifungicola*, *A. postmessia*). Até onde se sabe, nenhum novo isolado destas espécies foi relatado na literatura após a sua descrição. Estudos sobre a presença de toxinas específicas do hospedeiro desses isolados poderiam ajudar a esclarecer se esses isolados, de fato, compreendem novas espécies ou se a elas seria mais conveniente a atribuição do conceito de forma especiais, já bem estabelecido e utilizado como forma de diferenciação dentro da espécie de *A. alternata* (WOUDENBERG et al., 2015).

Alternaria alternata é um patógeno que causa manchas foliares em diferentes culturas e também está relacionado a deterioração de frutos. Em frutas contaminadas de *H. undatus* ocorre deterioração na epiderme e polpa, podendo ter sintomas visíveis ou não. A ausência do sintoma visível faz com que os consumidores descartem a epiderme, consumindo a polpa, gerando grande preocupação para a saúde humana, pois o patógeno pode produzir micotoxinas (FAO, 2017).

A espécie está relacionada com produção de micotoxinas em alimentos, incluindo alternariol (AOH), éter monometílico de alternariol (AME), altenuene (ALT), tentoxina (TEN), ácido tenuazônico (TeA) e altertoxinas (ATX) (TRONCOSO-ROJAS; TIZNADO-HERNÁNDEZ, 2014; LÓPEZ et al., 2016).

A podridão negra causada por *Alternaria alternata* é responsável pelas maiores perdas em pitaia amarela (*Selenicereus megalanthus*) durante o período da pós-colheita. Estratégias utilizadas no controle de frutos atacados por fungos, como por *Alternaria alternata*, é a utilização de fungicidas sintéticos, porém, seu uso contínuo desencadeia grandes problemas para o meio ambiente e para a saúde humana. Diante desta situação deve-se utilizar métodos alternativos, como o tratamento térmico e óleos essenciais para reduzir infecções fúngicas. (VILAPLANA; PÁEZ; VALENCIA-CHAMORRO, 2017).

Todos os isolados quando inoculados em frutos com 15 dias após a antese, independente do método de inoculação, não apresentaram sintomas de contaminação e doença. Isso pode ter ocorrido porque frutos verdes não contém quantidade de açúcar suficiente, que seja atrativa para a presença do fungo.

Sabe-se que *H. undatus* é susceptível ao ataque de vários patógenos economicamente importantes (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRIL-SALAZAR, 2012; CASTRO et al., 2017), porém não há informações concretas sobre a diversidade de espécies de fungos associadas ao cultivo da pitiaia no Brasil. Este é o primeiro relato científico de relevância, com informações preliminares sobre sintomatologia, patogenicidade, identificação morfológica e molecular dos principais patógenos que causam danos nos cladódios e frutos de pitiaia no Brasil.

Diante dos problemas ocasionados no cultivo da pitiaia, e consequentes perdas na produção e valor econômico do fruto, é necessário aplicar as medidas de controle de forma eficiente, para garantir elevadas produções com qualidade e para isso é fundamental intensificar as pesquisas nessa área do conhecimento.

Os resultados gerados contribuem para a correta identificação dos patógenos e subsidiam um manejo eficaz das doenças, visando garantir a sustentabilidade da cultura e sua viabilidade econômica.

6 CONCLUSÕES

As espécies *Bipolaris cactivora*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticillioides* e *Alternaria alternata* são patogênicas a cladódios e frutos de pitaia.

Foi descrita pela primeira vez no Brasil, a ocorrência de *Bipolaris cactivora* em cladódios e frutos de pitaia maduros.

Foi constatada a associação dos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Nigrospora*, *Curvularia*, *Botryosphaeria*, *Bipolaris* e *Fusarium* em associação com a pitaia.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, [s.l.], v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ARUL, V.; EDILSON, T.N.J.I.; LEE, Y.R. Sethuraman, M.G. Biological and catalytic applications of green synthesized fluorescent N-doped carbon dots using *Hylocereus undatus*. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, [s.l.], v. 168, p. 142-148, 2017.
- BEN-ZE'EV, I. S. et al. First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. **Phytoparasitica**, [s.l.], v. 39, p. 195-197, 2011.
- BURLAKOTI, R.R.; ALI, S.; SECOR, G.A.; NEATE, S.M.; MCMULLEN, M.P.; ADHIKARI, T.B. Genetic relationships among populations of *Gibberella zeae* from barley, wheat, potato, and sugar beet in the upper Midwest of the United States. **Phytopathology**, [s.l.], v. 98, p. 969-976, 2008.
- CARTER, L.L.A.; LESLIE, J.F.; WEBSTER, R.K. Population structure of *Fusarium fujikuroi* from California rice and water grass. **Phytopathology**, [s.l.], v. 98, p. 992-998, 2008.
- CASTRO, J. C. et al. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 97, p. 101-109, 2017.
- CHANG, M.; HYUN, I. H.; LEE, Y. H. Bipolaris stem rot of cactus caused by *Bipolaris cactivora* (Petrak) Alcorn. **Korean Journal Plant Pathology**, [s.l.], v. 14, p. 661-663, 1998.
- CHASE, A. R. Stem rot and shattering of Easter cactus caused by *Drechslera cactivora*. **Plant Disease**, [s.l.], v. 66, p. 602-603, 1982.
- CHOI, M. O. et al. First Report of Black Spot Caused by *Alternaria alternata* on Grafted Cactus. **Plant Pathology Journal**, [s.l.], v. 26, p. 80-82, 2010.
- DESJARDINS, A.E.; MANANDHAR, H.K.; PLATTNER, R.D.; MANANDHAR, G.G.; POLING, S.M.; MARAGOS, C.M. *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 66, p. 1020-1025, 2000.
- FAN, P. et al. Effect of postharvest spray of apple polyphenols on the quality of fresh-cut red pitaya fruit during shelf life. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 243, p. 19-25, 2018.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food safety & quality 2017**. Disponível em: <www.fao.org/food/food-safety-quality>. Acesso em: 22 jun. 2017.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system (UFLA). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FLETCHER, J.T. *Fusarium* stem and fruit rot of sweet peppers in the glasshouse. **Plant Pathology**, [s.l.], v. 43, p. 225-227, 1994.

- GARIBALDI, A. et al. First Report of Stem Rot on *Cereus peruvianus monstruosus* Caused by *Bipolaris cactivora* (Petr.) Alcorn in Italy. **Plant Disease**, [s.l.], v. 98, p. 159. 2014.
- HAWA, M. et al. Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* causing stem rot of *Hylocereus polyrhizus* in Malaysia. In: APLPIED BIOLOGY, 2013 [s.n.] **Anais...**[s.l.], v. 163, setembro 2013.
- HAWA, M. et al. *Fusarium fujikuroi* associated with stem rot of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. In: APLPIED BIOLOGY, 2013 [s.n.] **Anais...**[s.l.], v. 170, maio 2017.
- 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**, [s. l.], v. 2, n. 1), p. 31-35, 2012.
- HEIVIEUX, V. et al. Effect of organic and inorganic salts on the development of *Helminthosporium solani*, the causal agent of potato silver scurf. **Plant Dis.**, [s.l.], v. 86, p. 1014-1018, 2002.
- HEPPERLE, D. **SeqAssem**[®]: A sequence analysis tool contig assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Win32-Version. 2004.
- HOOG, G.S.; CUARRO, G.J.; FIGUERAS, M.J. Atlas of Clinical Fungi, second ed. **American Society for microbiology**, [s.l.], p. 1126. 2000.
- HYUN, I. H.; LEE, S. D.; HWANG, B. C.; KO, K. I.; CHUNG, H. S.; KIM, B. K. Occurrence of stem rot caused by *Bipolaris cactivora* on different species of cactus and its pathogenicity. **Research in plant disease**, [s.l.], v. 7, p. 56-59, 2001.
- KATAN, J. Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens. **Crop Protection**, [s.l.], v. 19, p. 725-731, 2000.
- KUHLMAN, E. G. Varieties of *Gibberella fujikuroi* with anamorphs in *Fusarium* section *Liseola*. **Mycologia**, [s.l.], v. 74, p. 759-768, 1982.
- LAWRENCE, D. P. et al. The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. **Mycologia**, [s.l.], v. 105, p. 530-546, 2013.
- LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium laboratory manual**. Malden, USA: Blackwell Publishers, 2006. p. 978.
- LESLIE, J. L.; SUMMERELL, B.; DOE, F. J. Description of *Gibberella sacchari* and neotypification of its anamorph *Fusarium sacchari*. **Mycologia**, [s.l.], v. 97, p. 718-724, 2005.
- LESLIE, J.F.; ZELLER, K.A.; WOHLER M.; SUMMERELL, B.A. Interfertility of two mating populations in the *Gibberella fujikuroi* species complex. **European Journal of Plant Pathology**, [s.l.], v. 110, p. 611-618, 2004.

- LIU, Y. L.; ZHOU, J.; ZHAO, Z. H.; XI, P. G.; JIANG, X. D. Identification of pathogen causing fruit rot of *Hylocereus undatus* in Guangdong Province. **Journal of Huazhong Agricultural University (Chinese)**, [s.l.], v. 30, p. 585-588, 2011.
- MARASAS, W.F.O.; RHEEDER, J. P; LAMPRECHT, S. C.; ZELLER, K. A *Fusarium andiyazi* sp. nov. a new species from sorghum. **Mycologia**, [s.l.], v. 93, p. 1203-1210, 2001.
- MASRATUL, H. M. et al. *Fusarium fujikuroi* associated with stem rot of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Annals of Applied Biology**, [s.l.], v. 170, n. 3, p. 434-446, 2017.
- MASRATUL, H.M.; SALLEH, B.; LATIFFAH, Z. Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* causing stem rot of *Hylocereus polyrhizus* in Malaysia. **Annals of Applied Biology**, [s.l.], v. 163, p. 269-280, 2013a.
- MASRATUL, H.M.; SALLEH, B.; LATIFFAH, Z. Identification and molecular characterization of *Neoscytalidium dimidiatum* causing stem canker of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Journal of Phytopathology**, [s.l.], v. 161, p. 841-849, 2013b.
- MACDONALD, J.D.; LEACH, L.D. Evidence for an expanded host range of *Fusarium oxysporum* f. sp. *betae*. **Phytopathology**, [s.l.], v. 66, p. 822-827, 1976.
- MURRAY, M.G.; THOMPSON, W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 8, p. 4321-5, 1980.
- OEURN, S.; JITJAK, W.; SANOAMUANG, N. Molecular Identification of *Bipolaris cactivora* on Dragon Fruit in Thailand. **Khon Kaen Agriculture Journal**, [s.l.], v. 44, p. 351-362, 2016.
- ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus spp.*): a short review. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 3, p. 220-237, 2012.
- PEDROZO, R.; FENOGLIO, J.J.; LITTLE, C.R. First report of seedborne *Fusarium fujikuroi* and its potential to cause pre- and post-emergent damping-off on soybean (*Glycine max*) in the United States. **Plant Disease Note**, [s.l.], v. 99, 1865, 2015.
- PINARIA, A.G.; LIEW, E.C.Y.; BURGESS, L.W. *Fusarium* species associated with vanilla stem rot in Indonesia. **Australasian Plant Pathology**, [s.l.], v. 39, p. 176-183, 2010.
- RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**, [s.l.], v. 61, p. 539-542, 2012.
- SIMMONS, E. G. *Alternaria*. An identification manual. In: **CBS biodiversity series 6**. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht: The Netherlands, 2007.

STEENKAMP, E.T.; COUTINHO, T.A.; DESJARDINS, A.E.; WINGFIELD, B.D.; MARASAS, W.F.O.; WINGFIELD, M.J. *Gibberella fujikuroi* mating population E is associated with maize and teosinte. **Molecular Plant Pathology**, [s.l.], v. 2, p. 215–221, 2001.

STENLID, J.; OLIVIA, J.; BOBERG, J.B.; HOPKINS, A.J.M. Emerging diseases in European forest ecosystems and responses in society. **Forests**, [s.l.], v. 2, p. 486-504, 2011.

SUGA, H.; KITAJIMA, M.; NAGUMO, R.; TSUKIBOSHI, T.; UEGAKI, R.; NAKAJIMA, T.; KUSHIRO, M.; NAKAGAWA, H.; SHIMIZU, M.; KAGEYAMA, K.; HYAKUMACHI, M. A single nucleotide polymorphism in the translation elongation factor 1 α gene correlates with the ability to produce fumonisin in Japanese. *Fusarium fujikuroi*. **Fungal Biology**, [s.l.], v. 118, p. 402-412, 2014.

TABA, S. et al. Fruit rot of strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. **Journal of General Plant Pathology**, [s.l.], v. 73, p. 374-376, 2007.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, [s.l.], v. 28, p. 2731-2739, 2011.

TARNOWSKI, T.L.B.; PALMATEER, A. J.; CRANE, J. H. First report of fruit rot on *Hylocereus undatus* caused by *Bipolaris cactivora* in south Florida. **Plant Disease**, [s.l.], v. 94, p. 1506-1506, 2010.

TRONCOSO-ROJAS, R.; TIZNADO-HERNÁNDEZ, M.E. **Alternaria alternata (Block rot, black spot)**. In: BAUTISTA-BANOS, S. (Ed.). *Postharvest Decay*: Academic Press, 2014. p. 147-187.

VILAPLANA, R.; PÁEZ, D.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Control of black rot caused by *Alternaria alternata* in yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) through hot water dips. **LWT – Food Science and Technology**, [s.l.], v. 82, p. 162-169, 2017.

WANG, C. L.; LIN, C. C. Fruit rot of pitaya and stem rot of cacti in Taiwan. **Plant Pathology Bulletin (Chinese)**, [s.l.], v. 14, p. 269-274, 2005.

WOUDENBERG, J.H.C. et al. *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes. **Studies in Mycology**, [s.l.], v. 82, n. 1, p. 21, 2015.

YUAN, C.L.; ZHANG, W.F.; YUAN, H. X. Preliminary report on investigation and control practices for pitaya diseases in Shuyuexi Prefecture. **South China Fruits (Chinese)**, [s.l.], v. 33, p.49–50, 2004.

CAPÍTULO 3 - ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS EM POLPA DE PITAIA VERMELHA (*HYLOCEREUS UNDATUS*) COM SINTOMA DE ‘MANCHA GELATINOSA’

RESUMO

A pitáia vermelha é uma cactácea frutífera, de clima tropical, que apresenta aceitação crescente nos mercados consumidores. Um dos problemas enfrentados é a ocorrência da ‘mancha gelatinosa’ na polpa dos frutos comprometendo sua comercialização. Objetivou-se com este trabalho estudar possíveis causas do aparecimento desta lesão em polpa de frutos de pitáia vermelha. Foram coletados frutos de pitáia vermelha de polpa branca (*Hylocereus undatus*), plantadas no Setor de Fruticultura do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), com sintomas de lesão no interior da polpa de aparência leitosa no centro e translúcida na borda. Cinco frutos com sintomas internos característicos de mancha gelatinosa e cinco frutos sadios foram encaminhados aos Laboratórios de Análise Química Mineral do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras para determinação da composição mineral presente na polpa dos frutos e Laboratório de Microbiologia das Fermentações, no setor de Microbiologia, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras para identificação de possíveis patógenos causadores das manchas. Pela análise química mineral verificou-se que frutos com sintomas de mancha gelatinosa apresentaram composição mineral maior para os micronutrientes boro, cobre e manganês que frutos não sintomáticos. Foram identificadas as bactérias *Sphingobacterium multivorum*, *Microbacterium testaceum*, *Pseudomonas rhodesiae*, *Microbacterium arborescens*, *Enterobacter asburiae*, *Microbacterium imperiale* e *Kocuria kristinae* em polpas de pitáia com a mancha gelatinosa.

Palavras-chave: Composição mineral. Doenças em pitáia. Fruticultura tropical.

ABSTRACT

Red pitaya is a tropical cactaceous fruit, which has a growing acceptance in the consumer markets. One of the problems faced is the occurrence of the 'gelatinous spot' on the pulp fruits compromising its commercialization. The objective in this work was to study possible causes of that lesion appearance in red pitaya fruit pulp. Red pitaya fruit of white pulp (*Hylocereus undatus*) were collected and planted at the Fruit Growing Sector of Agriculture Department (DAG) - Federal University of Lavras (UFLA), with symptoms of lesion inside the pulp of milky appearance in the center and translucent on the border. Five fruits with internal symptoms characteristic of gelatinous spot and five healthy fruits were sent to the Mineral Chemistry Laboratories of the Chemistry Department - Federal University of Lavras to determine the mineral composition present in the pulp fruits, and Fermentation Microbiology Laboratory in the Microbiology sector, Biology Department - Federal University of Lavras to identify possible pathogens that cause spots. By mineral chemical analysis it was observed that fruits with symptoms of gelatinous spot had a higher mineral composition for micronutrients boron, copper and manganese than non-symptomatic fruits. *Sphingobacterium multivorum*, *Microbacterium testaceum*, *Pseudomonas rhodesiae*, *Microbacterium arborescens*, *Enterobacter asburiae*, *Microbacterium imperiale* and *Kocuria kristinae* bacteria were identified in pitaya pulps with gelatinous spot.

Keywords: Mineral composition. Diseases in pitaya. Tropical fruit growing.

1 INTRODUÇÃO

Hylocereus é um cacto nativo da América Tropical de hábito trepador e está amplamente distribuído no mundo, devido à sua importância agrônômica, industrial e econômica. A fruta é conhecida por vários nomes comerciais como ‘Pitahaya’ ou ‘Pitaya’ e ‘Dragon fruit’. O interesse pela fruta tem aumentado mundialmente devido à sua aparência única e alto conteúdo de nutrientes.

O mercado mundial de frutas tem-se tornado mais competitivo e aberto às novidades, com frutas nativas e exóticas, principalmente devido ao aumento da divulgação pela mídia, sobre os benefícios do consumo de frutas, destacando-as como alimento saudável, balanceado, funcional e diversificado, o que fez aumentar o interesse por elas (SILVA et al., 2011). Embora tenha ocorrido grande expansão agrícola da pitaya no Brasil e em outros países a cultura ainda necessita de estudos preliminares e informações que subsidiem o manejo fitossanitário da cultura (ALMEIDA et al., 2016).

Pesquisas com *Hylocereus* aumentaram significativamente nos campos da taxonomia, anatomia, fisiologia, genética, bioquímica, medicina e indústria, porém, verifica-se escassez de trabalhos relacionados a identificação de patógenos e manejo de doenças na cultura da pitaya (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILLO-SALAZAR, 2012; ONG et al., 2014).

Há poucos relatos na literatura sobre bactérias associadas às plantas de pitaya. Já foi observado *Enterobacter cloacae* (STEAD, 2008), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* (anteriormente *Erwinia carotovora*) (MASYAHIT et al., 2009) causando podridão leve em cladódios. Doenças de pós-colheita foram associadas à *Xanthomonas campestris* (BARBEAU, 1990). Masyahit et al. (2009) encontraram três bactérias antagonicas: *Burkholderia cepacia*, *B. multivorans* e *Pseudomonas aeruginosa* contra o fungo *Bipolaris sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botryosphaeria sp.* e *Monilinia sp.*

A maior parte dos frutos de pitaya é consumida ao natural, assim, as características físicas, químicas e de sanidade dos frutos são de grande importância para seu valor comercial (LIMA et al., 2014). Lesões na polpa comprometem a qualidade física e química, prejudicando a comercialização e consumo.

Na pitaya, apesar de considerada uma planta rústica, problemas com pragas e doenças têm sido recorrentes. Um dos problemas que mais têm sido relatados é a ocorrência de uma lesão interna na polpa dos frutos, que está sendo denominada de ‘mancha gelatinosa’. Essa lesão tem aparência leitosa no centro e translúcida na borda, há uma maior concentração de

sementes nessa mancha do que em outras partes do fruto, a textura é firme, o sabor é ácido e não tem odor.

O objetivo do presente trabalho foi identificar possíveis causas do aparecimento de mancha gelatinosa na polpa de frutos de pitaiá vermelha de polpa branca, com base em análises de composição mineral de frutos, isolamento e identificação de bactérias presentes na lesão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de coleta e amostragem dos frutos

Os frutos foram coletados entre 20 e 25 de maio de 2016, em plantas de pitiaia vermelha de polpa branca [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose], com três anos pós-plantio, pertencentes à área experimental localizada no Setor de Fruticultura do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG. O município de Lavras está situado a 21°14'06" de latitude sul e 45°00'00" de longitude oeste, a altitude média de 918 m. O clima da região é do tipo Cwa, temperado chuvoso (mesotérmico), caracterizado por apresentar inverno seco e verão chuvoso (ALVARES et al., 2013).

As plantas foram conduzidas no sistema do tipo espaldeira, com mourões de eucalipto a 1,8 m de altura do solo, no espaçamento de 2,5 x 2,5 m, e foram adubadas de acordo com a necessidade, com base em resultados da análise química do solo.

A irrigação e o controle de plantas daninhas foram realizados conforme recomendações para a cultura.

Cinco frutos com sintomas internos característicos de mancha gelatinosa e cinco frutos sadios foram encaminhados aos Laboratórios de Análise Química Mineral do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras para determinação dos teores de macro e micronutrientes presentes na polpa dos frutos e Laboratório de Microbiologia das Fermentações, no Setor de Microbiologia, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras UFLA para identificação de possíveis patógenos causadores das lesões.

2.2 Análises químicas

Frutos com sintomas e assintomáticos foram lavados com água destilada, a polpa foi retirada do fruto manualmente e acondicionada em potes de vidro com capacidade de 100 ml em que 50% do volume foi ocupado, e congeladas em ultrafreezer com sistema de ar estático (Cold Lab, model CL120- 86V, São Paulo, Brazil) à -75 °C. Após o congelamento, as amostras foram liofilizadas (Edwards, model L4KR, São Paulo, Brazil), com condensador operando à -40 °C e pressão à vácuo de 0.998 mbar por 72 horas. Os produtos secos foram retirados do liofilizador e armazenados em dessecadores a vácuo contendo sílica gel até o momento das análises.

As análises de composição mineral foram realizadas conforme a metodologia de Malavolta et al. (1997).

2.3 Análises microbiológicas

2.3.1 Isolamento dos microrganismos

Alíquotas de 10 g de pitaia com e sem sintomas, foram diluídas em 90 mL de água peptona estéril e homogeneizadas em Stomacher® (Mayo Homogenius HG 400, São Paulo, Brasil) durante 2 minutos. A contagem dos microrganismos foi realizada em ágar YEPG (20 g/L glicose, 10 g/L peptona, 10 g/L extrato de levedura, 15 g/L ágar). As placas foram incubadas em BOD, a 30 °C, por até 48 horas.

Foram caracterizados o morfotipo, tamanho, tipo, estrutura da borda, cor, textura, aparência, elevação, brilho, forma da colônia e coloração de Gram. Todos os isolados foram purificados em 20% de glicerol e armazenados a -80° C.

2.3.2 Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis (MALDI-TOF MS)

A identificação foi realizada por meio do perfil proteico dos isolados bacterianos submetidos à análise no equipamento Biotyper MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics; Bremen, Germany). A extração proteica foi realizada utilizando solução orgânica (etanol, acetonitrila e água ultrapura 1:1:1) acrescida de 10 % de ácido trifluoroacético (TFA). Alíquota de 0,7 µL da extração proteica foi adicionada à placa de aço inoxidável de MALDI-TOF MS (FlexiMass Shimadzu Biotech, Buckinghamshire, UK), em triplicata. Após secagem, a amostra foi coberta com 1 µL de solução matriz ácido alfa-ciano-4-hidroxicinamico (CHCA, Fluka; Buchs, Switzerland) para uma concentração final de 10 mg CHCA/mL de solução orgânica.

Os espectros de massa foram processados utilizando o software BioTyper (versão 3.0; Bruker Daltonics) executado com a versão de banco de dados BioTyper DB5989. As correspondências entre os perfis experimentais MALDI-TOF MS são expressas por BioTyper de acordo com um Score.

A calibração do equipamento foi realizada com *Escherichia coli* K12 cultivada em meio LB (Luria-Bertoni) a 37 °C por 18 horas. Um dendrograma foi construído com as cepas identificadas utilizando o BioTyper MSP 39 Dendrogram Creation Standard Method (versão 1.4).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição mineral dos frutos sintomáticos e sem sintomas indicou que frutos com sintomas apresentaram teores de nutrientes mais altos que os frutos sadios (TABELA 1), especialmente quando se observa os micronutrientes boro, cobre e manganês, respectivamente.

Tabela 1 - Composição mineral da polpa de frutos de pitáia vermelha sadios e com sintomas de mancha gelatinosa.

Frutos	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Mn	Zn	Fe
	-----%-----					-----ppm-----					
Sintomáticos	1,38	0,19	1,41	0,42	0,16	0	3,6	9,2	3,1	10,7	26,9
Sem sintomas	1,18	0,13	1,23	0,4	0,11	0	0	0	0	3,1	16,1

Fonte: Da autora (2019).

Em contraste, Duarte (2013) avaliando diferentes fontes de adubação orgânica em pitáia vermelha verificaram teores médios de cálcio, magnésio, cobre, manganês, zinco e ferro na polpa de frutos de 0,3; 25,2; 21,9; 11,9; 29,0 e 84,6 ppm, respectivamente. Ao comparar essas médias com os teores de nutriente dos frutos sintomáticos do presente trabalho é possível observar que apenas o magnésio apresenta valores mais baixos.

Esse resultado indica que possíveis distúrbios, sejam eles de ordem biótica ou abiótica devem estar ocorrendo nos frutos sintomáticos, alterando a composição mineral dos mesmos e a falta de trabalhos relacionados ao tema na cultura da pitáia dificulta esse entendimento.

Por outro lado, com base nas análises microbiológicas, foram isoladas 14 bactérias em polpa de frutos de pitáia com sintomas, apresentando oito morfotipos de acordo com as características macroscópicas.

Tabela 2 - Bactérias identificadas na com sintomas pela técnica de Maldi-tof MS e caracterização do morfotipo das colônias bacterianas. (continua...)

Código	Espécie	Score	Gram	Tamanho	Forma	Elevação	Superfície	Cor
P01	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	1.958	-	Médio	Circular	Umbiculada	Lisa	Amarela/Brilhante
P02	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	1.762	-	Médio	Circular	Umbiculada	Lisa	Amarela/Brilhante
P03	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	2.071	-	Médio	Circular	Umbiculada	Lisa	Amarela/Brilhante
P04	<i>Microbacterium testaceum</i>	2.152	+	Medio	Circular	Convexa	Lisa	Branca
P05	-	-	+	Pequena	Circular	Convexa	Lisa	Branca/Brilhante
P06	<i>Pseudomonas rhodesiae</i>	1.903	-	Pequena	Circular	Achatada	Lisa	Creme/Brilhante
P07	<i>Microbacterium testaceum</i>	2.179	+	Pequena	Circular	Convexa	Lisa	Branca
P08	<i>Microbacterium arborescens</i>	2.050	+	Pequena	Circular	Convexa	Lisa	Creme
P09	<i>Microbacterium arborescens</i>	1.784	+	Pequena	Circular	Convexa	Lisa	Creme
P10	<i>Enterobacter asburiae</i>	2.362	-	Média	Circular	Convexa	Lisa	Creme/Brilhante
P11	<i>Kocuria kristinae</i>	1.914	+	Pequena	Circular	Convexa	Lisa	Translucida

Tabela 2 - Bactérias identificadas na com sintomas pela técnica de Maldi-tof MS e caracterização do morfotipo das colônias bacterianas. (conclusão).

Código	Espécie	Score	Gram	Tamanho	Forma	Elevação	Superfície	Cor
P12	-	-	-	Medio	Circular	Convexa	Lisa	Creme/Brilhante
P13	<i>Microbacterium imperiale</i>	1.768	+	Pequena	Circular	Convexa	Lisa	Branca
P14	<i>Bacillus altitudinis</i>	2.062	+	Médio	Circular	Achatada	Lisa	Branca

Fonte: Da autora (2019).

A maioria dos trabalhos com análises em polpas de pitáia objetivaram estudar propriedades físico-químicas e conteúdo nutricional da fruta (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006; WU et al., 2006; ARIFFIN et al., 2009), sendo que os microrganismos presentes naturalmente na fruta quase não foram estudados. Há apenas relatos de *Enterococos faecalis* e *E. durans* isoladas de suco fermentado de pitáia vermelha (ONG et al., 2012) e *E. casseliflavus* e *E. gallinarum* isolados a partir de pitáia vermelha fresca e confirmados por abordagens moleculares (ONG et al., 2014).

O presente trabalho é o primeiro relato de isolamento e identificação de bactérias em polpa de pitáia fresca com lesões de mancha gelatinosa. Um total de 14 isolados foram obtidos, no entanto desses, apenas 12 foram identificados pela técnica de Maldi-tof MS. Há preocupação em relação aos microrganismos identificados nas amostras, pois alguns deles podem ser patógenos. Um exemplo é o *Sphingobacterium multivorum* que é um bacilo gram negativo, pertencente à família Flavobacteriaceae, saprofítico, naturalmente encontrado no solo, nas plantas e na água, descrito em 1981. Foi considerado não patogênico por muito tempo, mas há alguns anos vem sendo descrito como etiologia de processos infecciosos em seres humanos, portanto, considerado clinicamente importante (PAGE et al., 2019). No entanto, ainda não foi relatado nenhum caso desta bactéria como patógeno de origem alimentar.

Outro microrganismo patogênico para humanos é *Kocuria kristinae*, que é gram-positivo, que pode também causar infecção em hospedeiros imunocomprometidos (CHEN et al., 2015). Não foi encontrado relato desse microrganismo colonizando plantas.

Três espécies de microorganismos do gênero *Microbacterium* foram identificadas nas amostras: *M. arborescens*, *M. testaceum* e *M. imperiale*. Esses microrganismos são bacilos gram-positivos aeróbicos pertencem à classe das Actinobactérias. *Microbacterium testaceum* é uma bactéria endofítica que reside em hospedeiros de plantas sem causar sintomas (MOROHOSHI, et al., 2011). Já *Microbacterium arborescens* é relatado como patogênico para humanos podendo causar peritonite em pacientes imunocomprometidos (GIRISGEN et al., 2018). Não há relato desta espécie causando doenças em plantas, no entanto a espécie pode ser utilizada em fitorremediação *in situ* de solo contaminado com Cromo (AHSAN et al., 2018).

Por outro lado, algumas bactérias benéficas para a planta, sendo considerados microrganismos promotores de crescimento e de biocontrole foram identificadas na polpa da pitáia. Esses microrganismos têm atividade simultânea de desempenhar um papel vital no

aumento do crescimento das plantas e, ao mesmo tempo, suprimem os agentes patogênicos das mesmas (KLOEPPER, 1993).

Os mecanismos pelos quais esses microrganismos podem influenciar o crescimento das plantas podem diferir de acordo com a espécie para espécie e podem ser diretos, isto é, produção de hormônios de crescimento, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio ou indiretos, como supressão de microrganismos deletérios pela produção de sideróforos ou secreção de metabólitos antifúngicos (KLOEPPER, 1993). Outros mecanismos utilizados podem ser antibiose, competição por nutrientes ou exclusão de nicho (BENT, 2006). Além desses antagonismos diretos, as bactérias promotoras de crescimento podem induzir uma resistência sistêmica que torna a planta mais resistente a um futuro ataque de patógenos, chamada de a resistência sistêmica induzida (VAN PEER; NIEMAN; SCHIPPERS, 1991).

No presente trabalho, os microrganismos *Microbacterium imperiale*, *Pseudomonas rhodesiae*, *Enterobacter asburiae* e *Bacillus altitudinis* que foram encontrados na polpa de pitaia com a lesão, são considerados microrganismos de biocontrole e/ou promotores de crescimento em várias culturas (JETIYANON; PLIANBANGCHANG, 2013; SUNAR et al., 2015; SALOMON et al., 2016; ROMERO; MARINA; PIECKENSTAIN, 2016; FREITAS et al., 2019).

Microbacterium imperiale é uma bactéria endofítica (colonizam o interior das plantas sem causar alterações morfológicas e fisiológicas) que pode colonizar o hospedeiro de maneira sistêmica ou localizada. Essas bactérias são consideradas benéficas, devido ao fato de terem capacidade de acessar patógenos nos vasos condutores e por isso servem como agentes de biocontrole. Podem habitar os vasos condutores do apoplasto e, ocasionalmente, os espaços intracelulares (QUANDT-HALLMANN; HALLMANN; KLOEPPER, 1997). Freitas et al. (2019) verificaram que essa bactéria controlou *Fusarium solani* em mandioca. Já Salomon et al. (2016) verificaram o potencial de *M. imperiale* como microorganismo promotor de crescimento em plantas, induzindo a biossíntese de metabólitos secundários, como os terpenos, que reduzem a incidência de estresse e doenças em *Vitis vinifera* cultivada *in vitro*.

Enterobacter asburiae é uma bactéria gram negativa utilizada para promover o crescimento das plantas. A bactéria induz resistência sistêmica contra várias doenças, incluindo antracnose, murcha bacteriana em ensaios em estufa e em campo (JETIYANON; WITTAYA-AREEKUL, 2009). O microrganismo induziu imunidade contra doença de podridão mole em alface (JETIYANON; PLIANBANGCHANG, 2013).

Pseudomonas rhodesiae também tem potencial antagonista para patógenos no controle biológico de doenças do tomate e efeitos de promotores de crescimento (ROMERO et al., 2016)

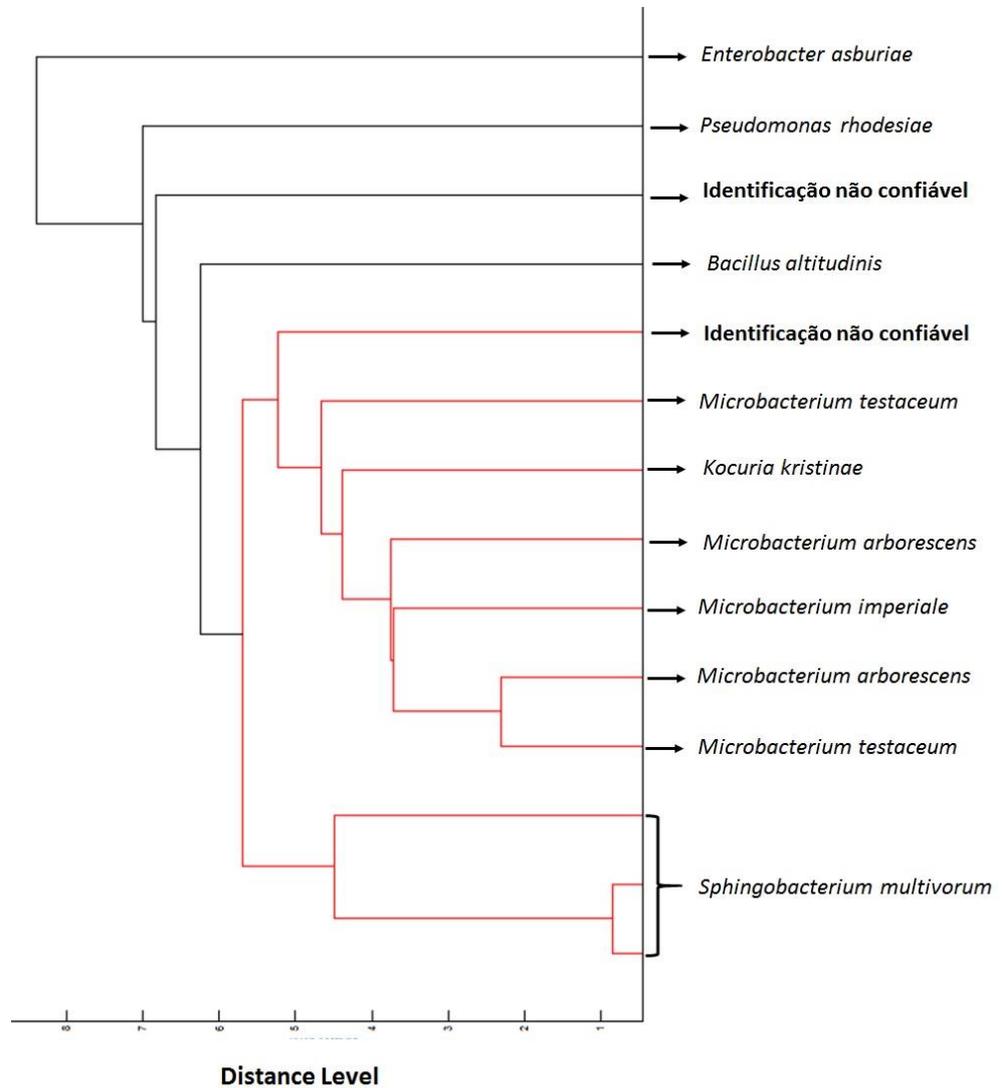
Bacillus altitudinis é considerada uma rizobactéria promotora de crescimento de plantas que são um grupo de bactérias que pode ser encontrado na rizosfera, em superfícies radiculares e em associação com raízes, que podem melhorar a extensão ou a qualidade do crescimento de plantas direta e/ou indiretamente (SUNAR et al., 2015). Esses mesmos autores descobriram que esse microrganismo além de possuir importantes características de promoção do crescimento de plantas também tem capacidade de suprimir a doença da podridão radicular.

O reconhecimento dessas bactérias promotoras de crescimento de plantas como potencialmente úteis para estimular o crescimento das mesmas e aumentar o rendimento das culturas tem evoluído ao longo dos últimos anos para serem utilizadas em campo. A utilização destes microrganismos pode minimizar os efeitos nocivos dos fertilizantes químicos e mudar para métodos ecologicamente corretos sem comprometer a produção e o rendimento dos produtos agrícolas. A tecnologia microbiana de baixo custo para promoção do crescimento de plantas e supressão de doenças tem se tornado área prioritária para pesquisa em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil. Assim, estudos mais detalhados devem ser realizados para a cultura da pitaia.

No presente trabalho poucas bactérias foram isoladas, no entanto, este trabalho prossegue e já existem aproximadamente 100 isolados dos mesmos frutos que ainda precisam ser identificados, sendo estes apenas resultados preliminares.

Com os dados obtidos do perfil proteico das 14 bactérias isoladas da pitaia foi construído o dendrograma do agrupamento hierárquico e identificação pela técnica MALDI-TOF MS (FIGURA 1). Os isolados foram agrupados em 2 grupos, de acordo com a similaridade proteica, fornecendo as relações de similaridade entre cada um dos grupos detectados.

Figura 1 – Dendrograma do agrupamento hierárquico de bactérias obtidas da polpa de frutos de pitaia identificadas pela técnica MALDI-TOF MS.



Devido à escassez de trabalhos na literatura sobre o assunto, recomenda-se a ampliação das pesquisas para se determinar possíveis patógenos ou agentes causais de outra natureza, como os distúrbios fisiológicos, promotores da ‘mancha gelatinosa’ em frutos de pitaia vermelha.

4 CONCLUSÕES

Pela análise química mineral verificou-se que frutos com sintomas de mancha gelatinosa apresentaram composição mineral maior para os micronutrientes boro, cobre e manganês que frutos não sintomáticos.

Foram identificadas as bactérias *Sphingobacterium multivorum*, *Microbacterium testaceum*, *Pseudomonas rhodesiae*, *Microbacterium arborescens*, *Enterobacter asburiae*, *Microbacterium imperiale* e *Kocuria kristinae* em polpas de pitaia com sintomas da mancha gelatinosa.

REFERÊNCIAS

- AHSAN, M. T.; SAEED, A.; MUSTAFA, T.; AFZAL, M. Augmentation with potential endophytes enhances phytostabilization of Cr in contaminated soil. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 25. n. 7, p. 7021-7032, 2018.
- ALMEIDA, E. I. B.; DEUS, J.; CORRÊA, M. C. M.; CRISOSTOMO, L. A.; NEVES, J. C. L. Linha de fronteira e chance matemática na determinação do estado nutricional de pitaiá. **Revista Ciência Agronômica**, [s.l.], v. 47, p. 744-754, 2016.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, [s.l.], v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J.; TAN, C. P.; RAHMAN, R. A.; KARIM, R.; LOI, C. C. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chem**, [s.l.], p. 114-561, 2009.
- BARBEAU, G. La pitahaya rouge, un nouveau fruit exotique. **Fruits**, [s.l.], v. 45, p. 141-147, 1990.
- BENT, E. Induced systemic resistance mediated by plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: TUZUN, S.; BENT, E. (Eds.). **Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants**. New York: Springer, 2006. p. 225-258.
- CHEN, H. M.; CHI, H.; CHIU, N. C.; HUANG, F. Y. *Kocuria kristinae*: a true pathogen in pediatric patients. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, [s.l.], v. 48, n. 1, p. 80-84, 2015.
- CORDEIRO, M.H.M.; SILVA, J.M.; MIZOBUTSI, G.P.; MIZOBUTSI, E.H.; MOTA, W.F. Caracterização física, química e nutricional da pitaiá-rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 37, p. 020-026, 2015.
- DUARTE, M. H. **Armazenamento e qualidade de pitaiá [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] submetida a adubação orgânica**. 2013. 113 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013.
- FREITAS, M. A.; MEDEIROS, F. H.; MELO, I. S.; PEREIRA, P. F.; PEÑAFLORES, M. F. G.; BENTO, J. M.; PARÉ, P. W. Stem inoculation with bacterial strains *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) mitigates *Fusarium* root rot in cassava. **Phytoparasitica**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 135-142, 2019.
- GIRISGEN, I.; YUKSEL, S.; GIRISGEN, İ.; KALELI, İ. A rare cause of peritoneal dialysis-related peritonitis in a child: *Microbacterium arborescens*. **Therapeutic apheresis and dialysis**: official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy, 2018.
- JETIYANON, K.; WITTAYA-AREEKUL, S. **Application of rhizobacteria for induced disease resistance against anthracnose, bacterial wilt, and southern blight diseases in pepper** Research report. Thailand: Research Fund., 2009. p. 88.

JETIYANON, K.; PLIANBANGCHANG, P. Lipopolysaccharide of *Enterobacter asburiae* strain RS83: A bacterial determinant for induction of early defensive enzymes in *Lactuca sativa* against soft rot disease. **Biological Control**, [s.l.], v. 67, p. 3, p. 301-307, 2013.

KLOEPPER, J.W. Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. In: METTING, F. Jr. (Ed.). **Micro-bial Ecology-Applications in Agricultural and Environmental Management**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 255–274.

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, [s.l.], v. 61, p. 23-50, 2006.

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G. Avaliação de características físico-químicas de frutos de duas espécies de pitaya. **Revista Ceres**, [s.l.], v. 61, p. 377-383, 2014.

MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de (Coords.). 2. ed. rev. e atual. Piracicaba: Potafos, 1997.

MARQUES, V. B.; MOREIRA, R.A.; RAMOS, J.D.; ARAÚJO, N.A.; SILVA, F.O.R. Fenologia reprodutiva de pitaya-vermelha no município de lavras-MG. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 41, p. 984-987, 2011.

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**, [s.l.], v. 11, p. 659-666, 2009.

MIZRAHI, Y.; NERD, A. Climbing and columnar cacti: new arid lands fruit crops. In: JANICK, J. (Ed.). **Perspective in new crops and new crops uses**. Alexandria: ASHS, 1999. p. 358-366.

MOROHOSHI, T.; WANG, W. Z.; SOMEYA, N.; IKEDA, T. **Genome sequence of *Microbacterium testaceum* StLB037, an N-acylhomoserine lactone-degrading bacterium isolated from potato leaves**, 2011.

NERD, A.; GUTMAN, F.; MIZRAHI, Y. Ripening and Post Harvest behaviour of fruits of two *Hylocereus* species (Cactaceae). **Postharvest Bio. Tech.**, v.17, n. 1, p. 39-45, 1999.

ONG, Y. Y.; TAN, W. S.; ROSFARIZAN, M.; CHAN, E. S.; TEY, B. T. Isolation and identification of lactic acid bacteria from fermented red dragon fruit juices. **Food Science and Technology**, [s.l.], v. 77, p. 560-5644, 2012.

ONG, Y. Y.; TAN, W. S.; MOHAMAD, R.; SIEO, C. C.; TEY, B. T. Biochemical and molecular identification of *Enterococcus* spp. from red pitaya. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 49, n. 4, p. 563-568, 2014.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 3, p. 220-237, 2012.

PAGE, S. et al. Compounds and methods of treating infections. U.S. **Patent Application**, [s.l.], n. 16, p.146,894, 21. mar. 2019.

QUANDT-HALLMANN, A.; HALLMANN, J.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in cotton: Location and interaction with other plant-associated bacteria. **Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 43, p. 254–259, 1997.

ROMERO, F. M.; MARINA, M.; PIECKENSTAIN, F. L. Novel components of leaf bacterial communities of field-grown tomato plants and their potential for plant growth promotion and biocontrol of tomato diseases. **Romero**, [s.l.], v. 167, n. 3, p. 222-233, 2016.

SALOMON, M. V.; PURPORA, R.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. Rhizosphere associated bacteria trigger accumulation of terpenes in leaves of *Vitis vinifera* L. cv. Malbec that protect cells against reactive oxygen species. **Plant physiology and biochemistry**, [s.l.], v. 106, p. 295-304, 2016.

SILVA, J. A.A.; GRIZOTTO, R. K.; MIGUEL, F. B.; BÁRBARO, I. M. Caracterização físico-química de frutos de clones de doviális (*Dovyalis abyssinica* Warb). **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 33, p. 466-472, 2011.

STEAD, D. **Classification and Nomenclature of Plant Pathogenic Bacteria A Review**. N. York: UK. 2008. p. 34.

SUNAR, K.; DEY, P.; CHAKRABORTY, U.; CHAKRABORTY, B. Biocontrol efficacy and plant growth promoting activity of *Bacillus altitudinis* isolated from Darjeeling hills, India. **Journal of Basic Microbiology**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 91-104, 2015.

VAN PEER, R.; NIEMAN, G. J.; SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. **Phytopathology**, [s.l.], v. 81, p. 728-734, 1991.

WU, L. C.; HSU, H. W.; CHEN, Y. C.; CHIU, C. C.; LIN, Y. I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chem**, [s.l.], v. 95, p. 319-27, 2006.

CAPÍTULO 4 - PONTO DE COLHEITA NA QUALIDADE DE FRUTOS DE PITAIA DE POLPA BRANCA E VERMELHA

RESUMO

A pitáia apresenta vida útil pós-colheita de 6 a 10 dias, e no Brasil, há relatos de que produtores estão colhendo os frutos antecipadamente, mesmo quando o exocarpo não se apresenta completamente pigmentado, com o intuito de aumentar a vida útil e evitar o ataque de pássaros aos frutos. Pretendeu-se neste trabalho, estudar a qualidade de frutos de pitáia vermelha de polpa branca (*Hylocereus undatus*) e de polpa vermelha (*Hylocereus poliryzhus*) colhidos em três fases de maturação, de acordo com a proporção de pigmentação do exocarpo, visando avaliar a viabilidade da colheita realizada em estádios anteriores à maturação. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3x2 (níveis de maturação: 1- frutos com até 25% de coloração rosa, 2- frutos com 25% até 75% de coloração rosa e 3- frutos acima de 75% de coloração rosa x espécies de pitáia: *Hylocereus undatus* e *Hylocereus poliryzhus*), totalizando 6 tratamentos, foi composto por oito frutos. Os níveis de maturação foram selecionados visualmente, de acordo com a proporção de coloração do exocarpo. Para isso, frutos de pitáia de polpa branca e vermelha foram colhidos no campo experimental do Setor de Fruticultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, MG, Para a interação nível de maturação x espécies houve efeito significativo para massa do fruto, firmeza da polpa, pH, sólidos solúveis e acidez, o que evidenciou, para essas variáveis, comportamento diferenciado dos efeitos dos níveis de maturação nas espécies analisadas. Para o nível de maturação foram verificados efeitos significativos para todas as variáveis, excetuando-se massa do fruto. Com relação às espécies foi verificado efeito significativo para espessura do exocarpo, diâmetro transversal e formato do fruto. Diferenças importantes nas características massa do fruto, firmeza da polpa, pH, sólidos solúveis e acidez são encontradas ao se comparar os frutos das espécies de polpa vermelha e branca. É indicado que os frutos sejam colhidos no nível 3 de coloração do exocarpo, com 75% de coloração rosa do exocarpo.

Palavras-chave: Fruta-do-dragão. *Hylocereus* sp. Maturação.

ABSTRACT

Pitaya has a post-harvest shelf life from 6 to 10 days, and in Brazil, there are reports that producers are harvesting the fruits beforehand, even when the exocarp is not completely pigmented, in order to increase shelf life and avoid attack of birds on fruits. The objective in this work was to study the quality of red pitaya fruit with white pulp (*Hylocereus undatus*) and red pulp (*Hylocereus polyrhizus*) collected at three maturation phases, according to the exocarp pigmentation ratio, in order to evaluate the viability of the harvest realized at stages prior to maturation. The experimental design was completely randomized, in the factorial scheme 3x2 (exocarp coloration levels: 1- fruits with up to 25% of pink color, 2- fruits with 25% to 75% of pink color, and 3- fruits over 75% of pink color x pitaya species: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*, totaling 6 treatments, with 8 replicates and one fruit per plot. The maturation levels were selected visually, according to the exocarp staining ratio. For the interaction of exocarp staining level x species there was a significant effect for fruit mass, pulp firmness, pH, soluble solids and acidity, which showed, for these variables, different behavior of the maturation levels effects on the species analyzed. For the exocarp staining levels, significant effects were observed for all variables, except for fruit mass. Regarding the species, a significant effect was verified for the variables: exocarp thickness, transverse diameter and fruit shape. Important differences in fruit mass, pulp firmness, pH, soluble solids and acidity are found when comparing the fruits of the red and white pulp species. It is indicated that the fruits are harvested at level 3 of exocarp staining, with 75% exocarp pink staining.

Keywords: Dragon fruit. *Hylocereus* sp. Maturation.

1 INTRODUÇÃO

A pitaia ou ‘fruta do dragão’ é uma frutífera promissora e lucrativa. Sua coloração interna e externa muito atraente, presença de sementes pretas comestíveis embutidas na polpa, alto valor nutracêutico, funcional, excelente potencial de exportação e altamente rentável são algumas das características pelas quais é considerada uma ‘super fruta’ (TAMANNA; MANDAL; HASAN, 2018). Essa rentabilidade se deve, principalmente, à precocidade de produção (14 a 16 meses após o plantio), alta produtividade (15 a 30 t ha⁻¹) e longevidade (até 20 anos de produção), além do ciclo de produção de aproximadamente 6 meses no ano.

A pitaia, embora ainda haja divergências entre alguns autores, é considerada uma fruta não climatérica (WILBERTH et al., 2013), ou seja, a colheita deve ser realizada após o fruto completar sua maturação fisiológica. Na prática, a maioria dos produtores realiza a colheita quando os frutos apresentam coloração do exocarpo completamente rósea. No entanto, as cores do exocarpo (casca) da fruta, mudam de verde para vermelho ou rosa, quando o estágio de maturação está avançado (NERD; GUTMAN; MIZRAHI, 1999). Quatro ou cinco dias após o início da mudança de cor os frutos alcançam coloração máxima (ANONYMOUS, 2017).

Quanto mais tardiamente o fruto for colhido, menor será seu tempo de vida útil após a colheita, acarretando perdas econômicas (ANONYMOUS, 2017). Além disso, a coloração atrativa da fruta, quando madura, também é alvo do ataque de insetos e pássaros, causando lesões e tornando-o impróprio para comercialização.

A pitaia apresenta tempo de vida útil pós-colheita de aproximadamente dez dias (HOA et al., 2006), em temperatura ambiente. A colheita antecipada, quando completada a maturação fisiológica do fruto (cerca de 30 dias após a antese), pode gerar benefícios, como aumento do tempo de prateleira, além de ser uma forma de escape contra insetos, pássaros e algumas doenças.

Há relatos de produtores no Brasil, que estão colhendo os frutos em estágios iniciais de pigmentação da casca ou até mesmo antes da mudança de cor. Essa prática, portanto, deve ser cautelosa, pois em frutos não climatéricos pode haver alteração significativa na qualidade final do produto, impedindo a evolução das características organolépticas, essenciais para garantir a qualidade e sabor dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A caracterização, tanto física quanto físico-química dos frutos, é importante para a determinação da qualidade. Assim, parâmetros como pH, acidez, sólidos solúveis e firmeza

são essenciais para avaliar se um produto se encontra com qualidade suficiente para consumo e garantir a aceitabilidade do produto pelo consumidor.

Nesse contexto, o trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade de frutos de pituaia vermelha de polpa vermelha (*Hylocereus polyrizhus*) e de polpa branca (*Hylocereus undatus*) colhidos em três níveis de maturação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução do experimento frutos de pitiaia de polpa branca (*Hylocereus undatus*) e polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) foram colhidos no pomar do campo experimental do Setor de Fruticultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG. Foram coletados frutos em três níveis de maturação, selecionados visualmente, de acordo com a proporção de coloração do exocarpo e divididos em três grupos: grupo 1- frutos com até 25% de coloração rosa, grupo 2- frutos com 25% até 75% de coloração rosa e grupo 3- frutos acima de 75% de coloração rosa. Os tratamentos estão representados a seguir (FIGURA 1).

Figura 1 - Níveis de maturação de frutos das espécies *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus* colhidos na Universidade Federal de Lavras, UFLA.

Níveis de coloração do exocarpo	<i>Hylocereus undatus</i>		<i>Hylocereus polyrhizus</i>	
1. Frutos com até 25% de coloração rosa				
2. Frutos com 25% a 75% de coloração rosa				
3. Frutos acima de 75% de coloração rosa				

Fonte: Da autora (2019).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, correspondente a três níveis de maturação e duas espécies de pitiaia, totalizando 6 tratamentos. Cada tratamento foi composto por oito frutos.

Após coleta e separação, os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade

Federal de Lavras, para realização de lavagem e desinfestação com hipoclorito de sódio (NaOCl) 300 mg.L⁻¹, em seguida foram secos em papel toalha estéreis. Procedeu-se as seguintes análises: massa fresca do fruto (MF), massa do exocarpo (ME), massa da polpa (MP), rendimento de polpa (RE), firmeza da polpa (FP), espessura da casca (EC), diâmetros longitudinal (DL) e transversal dos frutos DT), pH, sólidos solúveis (SS), acidez total (AT), ratio (relação SS/AT), coloração da polpa, casca e brácteas dos frutos.

As massas (fruto, exocarpo e polpa) foram determinadas pesando separadamente as partes dos frutos em balança de precisão, sendo os valores expressos em gramas (g). O rendimento da polpa foi determinado pela fórmula: $MP \times 100 / MF$. A firmeza da polpa foi obtida com auxílio de um penetômetro semi-manual marca TR modelo FT 327, com ponteira de 8 mm, na região equatorial dos frutos, com os resultados expressos em Newton (N). Os diâmetros dos frutos e espessura da casca foram medidos utilizando-se um paquímetro digital expressando os valores em mm. O formato dos frutos foi obtido pela razão entre diâmetro longitudinal e diâmetro transversal. As leituras de pH foram obtidas em um Peagâmetro digital, em que cada amostra foi triturada e homogeneizada na proporção de 1:4 (10 g de polpa e 40 ml de água destilada) em politron e o filtrado utilizado para a análise. Os sólidos solúveis foram obtidos com uso de refratômetro digital, sendo os resultados expressos em graus Brix. A determinação da acidez titulável (AT) foi realizada por titulação com NaOH 0,1 N, utilizando-se como indicador a fenolftaleína 1%. Foram utilizados 10 mL do homogenato filtrado para a titulação, após a trituração da polpa do fruto em politron na proporção de 1:5 (10 g de polpa e 50 ml de água destilada). Os valores foram expressos em porcentagem de ácido málico. O ratio (SS/AT) foi obtido pela relação entre sólidos solúveis e acidez titulável. As metodologias foram seguidas de acordo com as orientações do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985). As análises de coloração foram realizadas na polpa, casca e brácteas dos frutos. A coloração da polpa, exocarpo e bráctea dos frutos foi determinada por colorímetro Minolta, modelo CR-400, com iluminante D65 e no sistema CIELAB.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa Sisvar® (FERREIRA, 2011) e realizado o teste de médias, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises físico-químicas

Para a interação níveis de coloração do exocarpo x espécies houve efeito significativo para massa do fruto, firmeza da polpa, pH e sólidos solúveis, evidenciando para essas variáveis, comportamento diferenciado dos efeitos dos níveis de coloração do exocarpo nas espécies analisadas (TABELA 1).

Para níveis de coloração do exocarpo, foram verificados efeitos significativos para todas as variáveis, excetuando a massa do fruto e diâmetro longitudinal, indicando uma semelhança no efeito dos tratamentos analisados no ganho em massa do fruto (TABELA 2). Para as espécies, foi verificado efeito significativo para as variáveis espessura do exocarpo, diâmetro transversal e formato do fruto (TABELA 3). Apenas a variável diâmetro longitudinal não apresentou diferenças significativas em nenhum dos fatores analisados, apresentando média de 105,75 mm.

Tabela 1 - pH (pH), sólidos solúveis (SS), massa do fruto (MF) e firmeza da polpa (FP) de frutos de pitaias *H. undatus* e *H. polyrhizus* colhidos em três níveis de coloração do exocarpo.

Níveis de coloração do exocarpo	pH		SS (°Brix)		MF(g)		FP(N)	
	<i>H.polyrhizus</i>	<i>H.undatus</i>	<i>H.polyrhizus</i>	<i>H.undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H.polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>
1	3,31 bB	3,72 bA	13,94 aA	14,43 aA	463,62 aA	459,01 bA	4,64 aA	3,30 bB
2	3,47 bB	3,87 abA	14,39 aA	13,12 bB	455,35 aA	507,27 abA	3,83 bB	4,84 aA
3	4,05 aA	4,04 aA	14,69 aA	14,65 aA	463,62 aB	535,45 aA	3,15 cB	3,93 cA
CV (%)	6,05		6,30		11,40		29,97	

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

Fonte: Da autora (2019).

Considerando o fator nível de coloração do exocarpo em função das espécies de pitiaia, observou-se uma tendência de aumento da variável massa do fruto para a espécie *H. undatus*, se comparada a *H. polyrhizus*, que não apresentou efeito significativo. Já para o fator espécie, observou-se que houve efeito significativo apenas para o nível 3 de coloração do exocarpo para a espécie *H. polyrhizus*, porém a espécie *H. undatus* apresentou valores superiores em ganho de massa do fruto. Deduz-se que tão logo o exocarpo se torne completamente pigmentado, os frutos maduros da espécie *H. undatus* apresentam maior ganho em massa do que os da espécie *H. polyrhizus* (TABELA 1).

Para o fator firmeza da polpa, observa-se um decréscimo significativo à medida que aumenta o nível de coloração do exocarpo para os frutos de *H. polyrhizus*. Já para *H. undatus* houve aumento significativo no nível 2, seguido de decréscimo no nível 3 (TABELA 1).

Estudo realizado por Enciso et al. (2011), com *H. undatus* colhidas em 3 níveis coloração do exocarpo, armazenadas em caixas plásticas simulando o mercado, os resultados de firmeza foram semelhantes a *Hylocereus polyrhizus*, indicando queda na firmeza a medida que aumenta o grau de maturação do fruto. Comportamento semelhante foi descrito por To et al. (2002) em frutos de *H. undatus* armazenados a 20 °C durante 14 dias. Kader et al. (2002) afirmaram que a diminuição da firmeza de frutos carnosos durante seu amadurecimento deve-se a dissolução da lâmina média de seus tecidos.

Em relação ao pH, observou-se para *H. polyrhizus*, maior teor em frutos completamente maduros em relação aos demais. Resultado similar foi obtido para *H. undatus*. Costa et al. (2014), estudando diferentes fontes de adubação orgânica na colheita de frutos maduros de pitiaia vermelha, encontrou resultados próximos aos verificados neste trabalho para frutos colhidos no nível 3 de coloração do exocarpo, com valores de pH entre 4,36 e 4,64. Mizrahi (2014) trabalhando com clones de *Hylocereus* e *Selenicereus megalanthus* em Israel, encontrou resultados condizentes, com aumento do pH em decorrência do amadurecimento dos frutos, com valores variando de 4,4 a 4,8. Assim, pode-se inferir que o pH aumenta com o amadurecimento, apresentando menor acidez.

Quanto aos sólidos solúveis, não foram encontradas diferenças significativas para *H. polyrhizus*, enquanto que para *H. undatus*, apenas o nível 2 de coloração do exocarpo apresentou-se com valores inferiores. Esse resultado pode estar relacionado com a influência das condições climáticas no momento do seu desenvolvimento, uma vez que a pitiaia apresenta picos de floração e os frutos permaneceram por tempos diferentes na planta (TABELA 1). O maior teor de SS encontrado para a pitiaia branca no nível 3 de coloração do

exocarpo pode ser explicado como resultado do metabolismo de polissacarídeos das paredes celulares (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A maioria das variáveis apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os níveis de maturação, e ainda, algumas apresentaram comportamentos diferentes de acordo com a espécie. Todas as variáveis, com exceção da massa do fruto, apresentaram diferenças entre os níveis de maturação, indicando que a colheita antecipada afeta significativamente as características físicas e físico-químicas dos frutos.

Embora os frutos apresentem valores de sólidos solúveis aceitáveis para consumo nos três níveis de maturação analisados, observa-se valores elevados de acidez nos dois primeiros, o que pode interferir no balanço do teor sólidos solúveis/acidez e, conseqüentemente, no sabor das frutas.

O armazenamento dos frutos após a colheita pode contribuir para a melhoria das qualidades organolépticas destes frutos colhidos verdes ou semi-maduros, portanto, novos estudos são indicados para determinar sua qualidade após o armazenamento, além da aceitabilidade dos frutos pelo consumidor.

Considerando o fator níveis de coloração do exocarpo para a variável massa do exocarpo observou-se diferenças significativas entre os tratamentos, sendo observada menor ganho de massa (148,89 g) no nível 1 de coloração do exocarpo (TABELA 2). Neste estágio o fruto apresentava-se com a maior proporção de casca ainda verde quando comparado aos demais, indicando que a partir deste ponto ocorreu a estabilidade no ganho em massa e que o gasto metabólico que seria direcionado ao crescimento foi para a melhoria das características organolépticas dos frutos. Segundo Chitarra e Chitarra (2005) o crescimento do fruto estabiliza após a maturação e os frutos utilizam-se dos substratos acumulados nessa fase.

Tabela 2 - Massa do exocarpo (ME), massa da polpa (MP), rendimento de polpa (RE), espessura do exocarpo (EE), formato do fruto (FF), diâmetro transversal (DT) de frutos de pitaias *H. undatus* e *H. polyrhizus* colhidos em três níveis de coloração do exocarpo.

Níveis de coloração do exocarpo	ME(g)	MP(g)	RE(%)	EE(mm)	FF	DT(mm)
1	148,89b	263,04b	57,27 c	6,18 a	1,24 a	85,01 b
2	182,04a	299,27 b	61,95 b	5,79 a	1,19 b	86,98 ab
3	198,28a	339,98 a	69,16 a	4,17 b	1,21 ab	89,78 a
CV (%)	18,72	15,36	7,49	21,13	4,11	5,51

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

Fonte: Da autora (2019).

Em trabalho realizado por Cordeiro et al. (2015), com frutos maduros de pitaia de polpa vermelha, foi encontrado resultado inferior, com valor médio de 111,23 g para massa do exocarpo.

Para massa da polpa, o nível 3 de coloração do exocarpo foi significativamente superior aos demais (TABELA 3), ou seja, frutos completamente maduros apresentam maior proporção de polpa quando comparados aos frutos imaturos. Isso ocorre devido ao ganho em massa pelo aumento de sólidos e conteúdo de água, além do crescimento dos frutos. Resultados semelhantes foram encontrados por Cordeiro et al. (2015), comparando-se a média para os 3 níveis de coloração do exocarpo com o valor médio de 309,44 g obtidos pelos autores para massa da polpa. Considerando o valor médio para frutos de nível de coloração do exocarpo 1, é possível observar resultado semelhante ao obtido por Cordeiro et al. (2015), com valor mínimo de 268,89 g para frutos colhidos maduros. Dessa forma, se for considerada apenas a massa de polpa, é possível a colheita do fruto em nível de coloração do exocarpo 1.

Quanto ao rendimento em polpa, foi observado que quanto maior o nível de coloração do exocarpo maior o rendimento em polpa dos frutos, apresentando diferenças significativas em todos os níveis de coloração analisados (TABELA 3). Em trabalho realizado por Cordeiro et al. (2015) foram encontrados resultados semelhantes com valor médio de 75,25% e no presente trabalho obteve-se média de 69,16% para frutos com nível 3 de coloração do exocarpo. O rendimento é um fator importante para a indústria e comercialização, pois, além de aumentar a rentabilidade com a produção, uma vez que o fruto é vendido no quilo, reduz as perdas nas partes que são descartadas, como as cascas.

Quanto a espessura do exocarpo apenas o nível de coloração do exocarpo 3 apresentou diferença significativa, apresentando casca mais fina (TABELA 2). Ao mesmo tempo, observou-se que houve diferença significativa também entre as espécies, sendo que a vermelha (5,75 mm) se mostrou com exocarpo mais espesso que a branca (5,01 mm), o que pode ser característica genética da própria espécie (TABELA 3). Exocarpos mais espessos podem favorecer o prolongamento da vida útil do fruto após a colheita, pois são mais resistentes a danos mecânicos e microbiológicos, além de reduzir a perda de água durante o armazenamento. Em trabalho realizado por Magalhães et al. (2019), estudando a evolução na maturação de frutos de pitaia vermelha de polpa branca, os autores observaram que exocarpo dos frutos tendem a afinar com o avançar da maturação, encontrando valores menores para frutos avermelhados em comparação com frutos de coloração mais verdes. Estes mesmos autores sugerem que esse resultado pode ser devido à perda de água à medida que o fruto amadurece e tende a senescer.

Tabela 3 - Espessura do exocarpo (EE), diâmetro transversal (DT) e formato do fruto (FF) de frutos das espécies de pitaias *H. undatus* e *H. polyrhizus*.

Espécies	EE (mm)	DT (mm)	FF
<i>Hylocereus undatus</i>	5,01 b	89,33 a	1,18 b
<i>Hylocereus polyrhizus</i>	5,75 a	85,18 b	1,25 a
CV (%)	21,13	5,51	4,11

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.
Fonte: Da autora (2019).

Quanto ao formato do fruto, determinado pela relação DL/DT, em que, quanto mais próximo de um mais o fruto tende ser arredondado, os resultados mostraram que entre as duas espécies estudadas, a branca (1,18) mostra-se com frutos mais globosos que a vermelha (1,25), sendo que, por sua vez, esta apresenta um formato um pouco mais alongado (TABELA 3). Já entre os níveis de coloração do exocarpo não houve uma tendência precisa de redução ou aumento, embora tenham apresentado diferenças significativas (TABELA 2). O formato do fruto tem maior importância quanto a atratividade do produto pelo consumidor, determinando as preferências individuais. Além disso, o formato dos frutos também é importante para seleção de embalagens, uma vez que influencia no acondicionamento dos frutos nestas, sendo mais interessante que estes apresentem maior homogeneidade em tamanho e formato.

Embora não tenham sido encontradas diferenças significativas nos diâmetros longitudinais entre as espécies e níveis de maturação, os diâmetros transversais apresentaram diferenças significativas para ambos os fatores estudados, em que a espécie vermelha apresentou maior diâmetro transversal o que certamente contribuiu para a diferença encontrada no formato dos frutos (TABELA 3). Assim, a pitáia vermelha possui característica superior para essa variável. Já entre o nível de coloração do exocarpo houve aumento dos diâmetros transversais com a evolução do amadurecimento (TABELA 2).

3.2 Análises de coloração

Quanto à coloração da polpa do fruto, à exceção do Croma, todas as demais coordenadas apresentaram diferenças estatísticas na interação níveis de coloração do exocarpo x espécies (TABELA 4), sendo que o Croma diferiu estatisticamente apenas entre as espécies, com médias de 1,70 para *H. undatus* e 44,28 para *H. polyrhizus* (CV= 13,66), confirmando a coloração mais intensa da espécie *H. polyrhizus*.

Tabela 4 - Coloração da polpa de frutos de *H. undatus* e *H. polyrhizus* colhidos em diferentes níveis de coloração do exocarpo.

Níveis de coloração do exocarpo	Coordenadas de coloração da polpa do fruto							
	L polpa		A polpa		B polpa		H polpa	
	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>
1	49,51aA	27,19aB	0,77aB	38,94bA	1,73aA	-1,76bB	81,71aB	356,50aA
2	43,62bA	25,32aA	0,54aB	42,14abA	1,10bB	0,01aA	61,53bB	357,89aA
3	44,30bA	25,54aA	0,60aB	45,57a A	1,37abAB	1,67cC	63,73bB	359,11aA
CV (%)	35,91		15,78		67,05		1,70	

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

Fonte: Da autora (2019).

Para a coordenada luminosidade da polpa (L), apenas a espécie *H. undatus* apresentou diferenças nos níveis de coloração do exocarpo. Isso provavelmente se deu pelo fato de que, quando colhidas em estágios mais verdes, apresentam menor conteúdo de polpa, pois as células desta ainda estão se desenvolvendo em tamanho, e assim, a coloração das sementes se destaca mais.

À medida que se desenvolvem, ocorre o acúmulo de água nos frutos, e as sementes ficam mais dispersas, o que aconteceu nos níveis 2 e 3 de coloração do exocarpo, tornando a polpa mais clara. Já no caso da *H. polyrhizus* não houve diferença, uma vez que em todos os estágios, os frutos já atingiram uma coloração vermelha uniforme. Já ao se comparar as espécies, observou-se que dentro de todos os tempos, a espécie 1 apresentou-se com maior luminosidade que a espécie 2, provavelmente pela diferença de cores entre elas. Assim, é de se esperar que, para essa variável, os resultados sejam contrastantes.

Quanto a coordenada a^* , que mede a evolução das cores de verde a vermelho, nos níveis de maturação houve diferença estatística apenas para a espécie vermelha, com uma tendência a aumento do seu valor com a maturação. Isso é justificado pelo fato de que o pigmento vermelho estava sendo sintetizado durante a maturação. Quanto mais vermelha a coloração da polpa maior o conteúdo dos pigmentos.

A coordenada b^* mede a cor do azul ao amarelo. Assim, resultados positivos indicam predominância da coloração amarela em relação a azul, enquanto resultados negativos indicam o oposto. Pelos resultados, é possível observar que para a espécie vermelha houve aumento da cor amarelada com a maturação. Na espécie branca, também houve uma pequena tendência a aumento nesses valores. É importante ressaltar que a coloração amarelada pode ser mascarada pela coloração avermelhada, por ser uma coloração mais forte.

Já em relação ao ângulo hue, os resultados confirmaram que a coloração da polpa de pitaia de polpa branca encontra-se mais próxima a uma cor amarelada enquanto a polpa da pitaia de polpa vermelha encontra-se no ângulo correspondente a coloração vermelha pura.

Quanto à coloração do exocarpo dos frutos, todos os tratamentos, com exceção da coordenada L, apresentaram interação significativa entre os fatores nível de coloração do exocarpo x espécies (TABELA 5). A coordenada luminosidade apresentou diferença estatística significativa apenas para o fator nível de coloração do exocarpo, com médias de 46,83, 44,91 e 44,63, nos níveis 1, 2 e 3, respectivamente (CV=5,18), indicando uma tendência de redução na luminosidade com o retardamento da colheita, o que pode ter sido influenciado pela mudança de coloração de verde para vermelho.

Tabela 5 - Coloração do exocarpo de frutos de *H. undatus* e *H. polyrhizus* colhidos em diferentes níveis de coloração.

Níveis de coloração do exocarpo	Coordenadas de coloração do exocarpo do fruto							
	A exocarpo		B exocarpo		C exocarpo		H exocarpo	
	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>
1	-3,86bB	14,33cA	21,66aA	17,52aB	25,24bA	24,32bA	99,23aA	62,85aB
2	33,40aA	21,59bB	11,15bB	14,76aA	35,58aA	28,34aB	28,94bB	44,31bA
3	33,24aA	28,47aB	10,85bA	10,93bA	35,50aA	30,78aB	23,76bA	23,07cA
CV (%)	17,93		16,35		8,21		12,18	

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

Fonte: Da autora (2019).

Quanto a coordenada a^* do exocarpo, a espécie *H. undatus* no nível 1 de coloração do exocarpo, diferiu dos demais, apresentando exocarpo mais verde que a espécie *H. polyrhizus*, indicado pelos valores negativos, e mais vermelha esverdeada nos níveis 2 e 3, observado pelos valores positivos. Assim, confirma-se que, visualmente, os frutos apresentaram coloração mais verdes no primeiro estágio.

Por se tratar de um fruto não climatérico não se recomenda realizar a colheita neste estágio, visto que suas propriedades organolépticas podem não estar agradáveis no momento do consumo.

Já para a espécie *H. polyrhizus*, observa-se que houve diferença estatística em todos os níveis de coloração do exocarpo, com um aumento de cerca de 7 unidades de um nível para o outro, demonstrando uma nítida modificação na coloração do exocarpo entre os frutos em cada estágio. Ressalta-se que quanto mais maduros os frutos, mais espera-se valores elevados de a^* , embora é importante salientar que a ponteira do aparelho mede um espaço relativamente pequeno, e que os frutos da pitaiá não apresentam mudança de coloração na casca homogênea, apresentando manchas de coloração vermelha quando começam a amadurecer, o que pode interferir nos resultados.

Quanto às espécies, nos níveis de coloração do exocarpo 2 e 3, a *H. undatus* apresentou resultados diferentes estatisticamente, indicando coloração mais avermelhada no exocarpo em relação a *H. polyrhizus*, resultado contraditório foi encontrado no nível 1 de coloração. Essas diferenças permitem inferir que frutos de *H. polyrhizus* apresentam alterações na coloração do exocarpo de forma mais homogênea e lenta, enquanto a *H. undatus* apresenta uma mudança de coloração verde a vermelha, ao mesmo tempo em que também alcança a estabilidade de coloração mais rapidamente.

Quanto a coordenada b^* , *H. undatus* apresentou valores estatisticamente superiores apenas no nível 1 de coloração do exocarpo, demonstrando que o exocarpo mascarou a coloração amarela com a síntese de pigmentos avermelhados já no nível 2, já na *H. polyrhizus*, isso só ocorreu no nível 3.

Em relação ao ângulo hue, nota-se que a casca da espécie de polpa branca no nível de maturação 1 encontrava-se mais verde amarelada, passando para avermelhada nos níveis 2 e 3, enquanto a espécie de polpa vermelha apresentou perda da coloração amarelada com o aumento da coloração avermelhada, passando de uma cor vermelha amarelada, para vermelha alaranjada até alcançar a coloração vermelha mais pura. A cor alaranjada corresponde a uma mistura entre as cores amarela e vermelha, sendo dessa forma, a cor intermediária entre elas, comportamentos condizentes com os resultados encontrados.

Quanto a coloração das brácteas dos frutos, todas as coordenadas, à exceção da b, apresentaram interação níveis de maturação x espécies (TABELA 6), sendo que a coordenada b* apresentou diferenças estatísticas tanto para níveis de coloração do exocarpo quanto para espécies, com variações de 21,82 e 18,00 entre as espécies e 23,36, 20,09 e 16,28 nos níveis de coloração do exocarpo (CV=15,89).

Tabela 6 - Coloração das brácteas de frutos de *H. undatus* e *H. polyrhizus* colhidos em diferentes níveis de coloração do exocarpo.

Níveis de coloração do exocarpo	Coordenadas de coloração das brácteas do fruto							
	L brácteas		A brácteas		C brácteas		H brácteas	
	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>	<i>H. undatus</i>	<i>H. polyrhizus</i>
1	49,73aB	52.96aA	-9.09cB	46.49aA	29.14aA	23.81aB	107.14aA	113.38aA
2	45,80bB	50.59abA	1.26bB	36.38bA	24.15bA	22.75abA	92.67bA	84.56bA
3	47,10bA	48.07bA	12.64aB	24.93cA	25.60bA	21.10bB	84.81bA	55.19cB
CV (%)	4,25		12,78		6,83		9,40	

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey, $P \leq 0,05$.

Fonte: Da autora (2019).

Quanto à luminosidade, na espécie *H. undatus* apenas o nível de coloração do exocarpo mais verde apresentou diferença, sendo que os valores de luminosidade foram maiores, ou seja, mais claros, isso ocorreu provavelmente pela alteração da coloração já no nível 2, predominando a coloração vermelha de tonalidade mais escuro. Já a *H. polyrhizus*, houve uma tendência de mudança de coloração de forma mais gradual. Quanto ao nível de coloração do exocarpo, nos níveis 1 e 2 houve diferença entre as espécies, sendo que a *H. polyrhizus* apresentou coloração vermelha mais forte, o que foi estabilizado no nível 3, onde não houve mais diferença estatística significativa entre elas.

Quanto à coordenada a^* , *H. undatus* apresentou intensificação da coloração vermelha com a progressão no nível de coloração do exocarpo, enquanto a *H. polyrhizus* apresentou resultado contrário. Isso pode ser explicado pelo fato de que estas espécies apresentam característica morfológica diferente em suas brácteas, em que a *H. undatus* apresenta coloração completamente verde com pequena aquisição de cor avermelhada da base para as pontas com a maturação, enquanto a *H. polyrhizus* apresenta além da coloração verde nas brácteas, uma faixa de coloração vermelha arroxeadada no centro e laterais destas, que vão da ponta para a base, em sua extensão.

É possível que, com o nível de coloração do exocarpo, ocorra um clareamento dessa coloração vermelha arroxeadada, visto que as brácteas são as primeiras partes dos frutos a evidenciar despigmentação com o desenvolvimento dos frutos. Considerando todos os níveis, *H. polyrhizus* foi superior a *H. undatus*, demonstrando que as brácteas dessa espécie são predominantemente mais vermelhas durante todo o processo de maturação.

Quanto ao Cromo, os resultados para *H. undatus* e *H. polyrhizus* foram semelhantes à coordenada a^* , onde os valores aumentaram com o avanço no nível de coloração do exocarpo, ou seja, adquiriram coloração mais avermelhada, enquanto para os níveis de coloração do exocarpo houve uma tendência a superioridade na intensidade da cor para a espécie de polpa vermelha, justificado por essa apresentar coloração mais saturada, mais forte em relação a espécie de polpa branca.

Quanto ao ângulo hue, o comportamento das espécies foi similar aos resultados encontrados para o exocarpo dos frutos, enquanto que para os níveis de coloração do exocarpo, apenas o nível 3 apresentou diferença estatística entre as espécies, onde a *H. undatus* apresentou resultado superior, indicando que nesse nível de coloração mais avançado, a espécie apresenta brácteas um pouco mais amareladas em relação a *H. polyrhizus*.

4 CONCLUSÕES

Diferenças importantes nas características massa do fruto, firmeza da polpa, pH, sólidos solúveis e acidez dos frutos de pitaia são encontradas ao se comparar as espécies *H. undatus* e *H. polyrhizus*.

Frutos com níveis de coloração do exocarpo mais baixos apresentam algumas características inadequadas para o consumo imediato, como alta acidez e baixo teor de sólidos solúveis.

É indicado que os frutos sejam colhidos no nível 3 de coloração do exocarpo, com 75% de coloração rosa do exocarpo.

REFERÊNCIAS

- ANONYMOUS, P. T. **Thesis entitled “Studies on the effect of nutrient application in vegetative and reproductive phenology of dragon fruit”** submitted to the Bidhan Chandra Krishi Viswavidyalaya, Mohanpur west Bengal, India. 2017 p. 29-44.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.
- CORDEIRO, M. H. M. et al. Caracterização física, química e nutricional da pitaiá-rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 20-26, 2015.
- COSTA, A. C et al. Floração e frutificação em diferentes tipos de cladódios de pitaiá-vermelha em Lavras-MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 279-284, 2014.
- ENCISO, O. T.; ZAZUETA, M. E. I.; RANGEL, M. D. M.; TORRES, J. B. V.; ROMERO, M. V.; VERDUGO, S. H. Calidad postcosecha de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus* Haw.) cosechados en tres estados de madurez. **Revista fitotecnia mexicana**, México, v. 34, n. 1, p. 63-72, 2011.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system (UFLA). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- HOA, T. T. et al. Postharvest quality of Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) following disinfecting hot air treatments. **Postharvest Biology and Technology**, Nova Zelândia, v. 41, n. 1, p. 62-69, 2006.
- IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 1985. v. 1.
- SOMMER, N. F.; ARPAIA, M. L. Postharvest Handling Systems, Tropical Fruits. In: **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. KADER, A. A. (Ed.). University of California: Division of Agricultural and Natural Resources, USA, 2002. p. 385- 398,
- MAGALHÃES, D. S. et al. Physical and physicochemical modifications of White-fleshed pitaya throughout its development. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 243, p. 537-543, 2019.
- MIZRAHI, Y. Vine-cacti pitayas – The new crops of the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 124-138, 2014.
- NERD, A.; GUTMAN, F.; MIZRAHI, Y. Ripening and Post Harvest behaviour of fruits of two *Hylocereus* species (Cactaceae). **Postharvest Biology and Technology**, [s.l.], v.17, n. 1, p. 39-45, 1999.
- TAMANNA, P.; MANDAL, K. K.; HASAN, M. A. Dragon fruit: An exotic super future fruit of India. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, New Delhi, v. 7, n. 2, p. 1022-1026, 2018.

TO, L.V.; NGU, N.; DUC, N. D.; HUONG, H.T.T. Dragon fruit quality and storage life: Effect of harvesting time, use of plant growth regulators and modified atmosphere packaging. **Acta Horticulturae**, [s.l.], v. 575, n. 2, p. 611-621, 2002.

WILBERTH, M. B.; ENRIQUE, S. D.; JOEL, G; VELOZ, S. Crescenciano variaciones bioquímicas-fisiológicas y físicas de las frutas de pitahaya (*Hylocereus undatus*) almacenadas en ambiente natural. México. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, México v. 14, n. 1, p. 21-30, 2013.