



**NEVENKA DE MATOS MOURA**

**DOENÇAS FÚNGICAS DA CULTURA DA PITAIA**

**LAVRAS - MG  
2020**

**NEVENKA DE MATOS MOURA**

**DOENÇAS FÚNGICAS DA CULTURA DA PITAIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração Fitopatologia, para obtenção do título de Mestre.

Dr. Ludwig H. Pfenning  
Orientador

Dra. Leila Aparecida Salles Pio  
Coorientadora

**LAVRAS – MG  
2020**

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

Moura, Nevenka de Matos.

Doenças fúngicas da cultura da pitaia / Nevenka de Matos  
Moura. - 2020.

61 p. : il.

Orientador(a): Ludwig H. Pfenning.

Coorientador(a): Leila Aparecida Salles Pio.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. *Hylocereus undatus*. 2. Podridão de frutos. 3. Podridão de  
cladódios. I. Pfenning, Ludwig H.. II. Pio, Leila Aparecida Salles.  
III. Título.

**NEVENKA DE MATOS MOURA**

**DOENÇAS FÚNGICAS DA CULTURA DA PITAIA**

*FUNGAL DISEASES OF PITAYA*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 22 de setembro de 2020.

Dr. Ludwig H. Pfenning  
Dr. Jorge Teodoro de Souza  
Dr. Rafael Pio

DFP - UFLA  
DFP - UFLA  
DAG – UFLA

Dr. Ludwig H. Pfenning  
Orientador

Dra. Leila Aparecida Salles Pio  
Coorientadora

**LAVRAS – MG  
2020**

*Aos meus pais, irmão, padrinho Wilian, madrinha Helena  
Tio Elias, Avó Cecília (in memoriam),  
Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças para continuar nos momentos mais difíceis dessa trajetória.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao programa de Pós-Graduação em Fitopatologia pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Ludwig H. Pfenning, pelos conhecimentos transmitidos e orientação durante todos esses anos.

À professora Dra. Leila Aparecida Salles Pio, pela amizade, confiança e ensinamentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, especialmente a Dra. Acleide, Dra. Glaucia e Thamires Sousa pela colaboração na condução do trabalho e amizade.

A Ariane Alvarenga, secretária do PPG Agronomia/Fitopatologia por toda paciência, amizade e carinho.

Aos amigos da UFLA, e NEFIT pelos bons momentos e aprendizado.

Aos meus pais, irmão, familiares, por sempre me motivarem a continuar em busca dos meus sonhos.

Aos meus primos, Myrella, Lucas e Raísa, pelo apoio, amizade e amor durante toda minha vida.

Às minhas companheiras de lar, Carol, Thamires, Cláudia, Bárbara, Letícia e Thalita por todo apoio, irmandade e cumplicidade.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão do trabalho, meus sinceros agradecimentos.

*Todos temos de fazer escolhas.*

*O difícil é conviver com elas.*

**Autor desconhecido**

## RESUMO GERAL

O cultivo da pitiaia pode ser uma fonte de diversificação da atividade agrícola. Os frutos são promissores, pois agregam rusticidade de cultivo e beleza, aliado a uma composição rica em compostos funcionais, trazendo benefícios a quem as consome. Fungos podem afetar os frutos e a parte vegetativa de pitiaia comprometendo a produção e reduzindo o valor comercial. Visando contribuir com informações sobre doenças fúngicas que acometem a cultura, este trabalho objetivou: i. identificar os fungos associados a sintomas tanto em frutos quanto em cladódios por meio de avaliação dos marcadores morfológicos e análise de filogenia molecular; ii. avaliar a patogenicidade dos fungos em frutos e cladódios; iii. documentar a sintomatologia que os diversos fungos causam, para dar suporte na diagnose em campo e na clínica fitopatológica. Um total de 24 isolados foi obtido do sul de Minas Gerais, Santa Catarina e Distrito Federal, os quais foram identificados por marcadores morfológicos como pertencentes aos gêneros *Bipolaris* (n=4), *Alternaria* (n=6), *Colletotrichum* (n=4) e *Fusarium* (n=10). Isolados representativos de cada gênero foram identificados por filogenia molecular em nível de espécie e submetidos aos testes de patogenicidade em frutos e cladódios pelo método de injeção de suspensão de conídios. Todos os isolados testados foram patogênicos, com diferenças nos sintomas entre as espécies inoculadas. Frutos e cladódios apresentaram podridão negra quando inoculados com *Bipolaris cactivora*, manchas enegrecidas longitudinais em frutos e podridão seca em cladódios (*Alternaria alternata*), podridão aquosa com esporulação alaranjada em frutos e colonização interna do tecido em cladódios (*Colletotrichum siamense*), podridão aquosa de coloração marrom em cladódios e em frutos, causado por *Fusarium proliferatum* e *F. sterilihyphosum*. *Fusarium oxysporum* não causou lesão quando inoculado em cladódios, mas em frutos causou lesão seca arredondada. Para completar os postulados de Koch, os patógenos foram reisolados. 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.

Palavras chave: *Hylocereus undatus*, Podridão de frutos e cladódios, *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp.



## GENERAL ABSTRACT

The cultivation of pitaya can be an interesting source of income and diversification of the agricultural activity. It is considered a promising activity, as it is relatively simple to grow, produces beautiful fruits, which are rich in functional compounds, bringing benefits to those who consume it. Fungi can affect the fruits and the vegetative part of pitaya, compromising production and reducing the commercial value. Aiming to contribute with information about fungal diseases that affect the crop, the objectives of this study were (i.) to identify the fungi associated with the disease symptoms in both fruits and cladodes, through the evaluation of morphological markers and analysis of molecular phylogeny; (ii.) to evaluate the pathogenicity of fungi in fruits and cladodes; (iii.) to describe and illustrate the symptoms which the various fungi cause, and to support the diagnosis in the field and in the phytopathological clinic. A total of 24 isolates were obtained from southern Minas Gerais, Santa Catarina and the Federal District, which were identified by morphological markers as belonging to the genera *Bipolaris* (n = 4), *Alternaria* (n = 6), *Colletotrichum* (n = 4) and *Fusarium* (n = 10). Representative isolates of each genus were identified by molecular phylogeny at the species level and used in pathogenicity tests on fruits and cladodes by injection of a conidial suspension. All isolates tested induced disease symptoms, with differences according to the inoculated species. Fruits and cladodes showed black rot when inoculated with *Bipolaris cactivora*, longitudinal black spots on fruits and dry rot on cladodes (*Alternaria alternata*), aqueous rot with orange sporulation on fruits and internal tissue colonization in cladodes (*Colletotrichum siamense*), and watery brown rot in cladodes and fruits (*Fusarium proliferatum* and *F. sterilihyphosum*). *Fusarium oxysporum* did not cause disease when inoculated in cladodes, but in fruits it induced symptoms of dry rot. To complete Koch's postulates, pathogens were re-isolated. The results generated contribute to the correct identification of pathogens and support an effective management of diseases, aiming to guarantee the sustainability of the culture and its economic viability.

Keywords: *Hylocereus undatus*, Podridão de frutos e cladódios, *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 1. Arvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Bipolaris*, utilizando 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  $\geq 0.90$  e os valores de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em percentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.792, RI = 0.883 na análise de máxima parcimônia... 35
- Figura 2. Arvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Alternaria*, usando sequências de Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase GAPDH. *Cicatricea salina* foi utilizada como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores probabilidade posterior  $\geq 0.90$ , e de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em percentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.744, RI = 0.833 na análise de máxima parcimônia..... 35
- Figura 3. Arvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Colletotrichum*, utilizando sequências de GAPDH. *Colletotrichum lindemuthianum*, foi utilizada como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior  $\geq 0.90$  e os valores de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em percentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.782, RI = 0.858 na análise de máxima parcimônia..... 36
- Figura 4. Arvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Fusarium*, utilizando sequências de TEF. Isolados de *Fusarium commune*, foram utilizados como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior  $\geq 0.90$  e os valores de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em percentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.771, RI = 0.898 na análise de máxima parcimônia. .... 37
- Figura 5. Sintomas em frutos de pitaia observados no teste de patogenicidade. A-C Frutos inoculados com o isolado CML 4000 de *B. cativora*; A- 4 dias após a inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 10 dias após a inoculação. D-F Frutos inoculados com NM59 de *B. cactivora*; D- 4 dias após a inoculação, E- 6 dias após a inoculação, F-10 dias após a inoculação. G-I Frutos inoculados com o isolado CML 4062 de *A. alternata*. G- 4 dias após a inoculação, H- 6 dias após a inoculação, I- 10 dias após a inoculação. J-L Frutos inoculados com o isolado NM34 de *A. alternata*; J- 4 dias após a inoculação, K- 6 dias após a inoculação, L-10 dias após a inoculação. M-O Testemunha; M- 4 dias de inoculação, N- 6 dias após a inoculação, O-10 dias após a inoculação..... 40
- Figura 6. Sintomas em frutos de pitaia observados no teste de patogenicidade. A-C Frutos inoculados com o isolado RV7 de *C. siamense*; A- 4 dias após a inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 10 dias após a inoculação. D-F R Frutos inoculados com o isolado CML 4058 de *F. proliferatum*; D- 4 dias após a inoculação, E- 6 dias após a inoculação, F-10 dias após a inoculação. G-I Frutos inoculados com o isolado NM38 de *F. oxysporum*. G- 4 dias após a inoculação, H- 6 dias após a inoculação, I- 10 dias após a inoculação. J-L Frutos inoculados com o isolado NM47 de *F. sterilihyphosum*; J- 4 dias após a inoculação, K- 6 dias após a inoculação, L-10 dias após a inoculação. M-O Testemunha; M- 4 dias de inoculação, N- 6 dias após a inoculação, O-10 dias após a inoculação ..... 41

Figura 7. Sintomas em cladódios de pitaiia observados no teste de patogenicidade. A-C Cladódios inoculados com o isolado CML 4000 de *B. cativora*; A- Dia da inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 15 dias após a inoculação. D-F Cladódios inoculados com NM59 de *B. cactivora*; D- Dia a inoculação, E- 6 dias após a inoculação, F-15 dias após a inoculação. G-I Cladódios inoculados com o isolado CML 4062 de *A. alternata*. G- Dia da inoculação, H- 6 dias após a inoculação, I- 15 dias após a inoculação. J-L Cladódios inoculados com o isolado NM34 de *A. alternata*; J- Dia da inoculação, K- 6 dias após a inoculação, L-15 dias após a inoculação. M-O Testemunha; M- Dia da inoculação, N- 6 dias após a inoculação, O-10 dias após a inoculação.....43

Figura 8. Sintomas em cladódios de pitaiia observados no teste de patogenicidade. A-D Cladódios inoculados com o isolado RV7 de *C. siamense*; A- Dia da inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 15 dias após a inoculação, D- Corte transversal. E-G Cladódios inoculados com NM47 de *F. sterilihyphosum*; E- Dia da inoculação, F- 6 dias após a inoculação, G-15 dias após a inoculação. H-J Cladódios inoculados com o isolado CML 4058 de *F. proliferatum*. H- Dia da inoculação, I- 6 dias após a inoculação, J- 15 dias após a inoculação. K-M Testemunha; K- Dia da inoculação, L- 6 dias após a inoculação, M-15 dias após a inoculação.....44

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Tabela 1. Isolados obtidos de pitaia ( <i>Hylocereus undatus</i> ). .....	277
Tabela 2. Sumário com as informações dos loci, <i>primers</i> e dados das análises filogenéticas utilizados para os gêneros em estudo.....	300
Tabela 3. Fungos associados obtidos de pitaia ( <i>Hylocereus undatus</i> ) .....	322
Tabela 1S. Isolados de <i>Bipolaris</i> de referência e os utilizados no estudo .....	533
Tabela 2S. Isolados de <i>Alternaria</i> de referência e os utilizados no estudo.....	555
Tabela 3S. Isolados de <i>Colletotrichum</i> de referência e os utilizados no estudo. ....	57
Tabela 4S. Isolados de <i>Fusarium</i> de referência e os utilizados no estudo. ....	58

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL .....	14
2 ESTADO DA ARTE.....	16
2.1 Aspectos botânicos da pitaia.....	16
2.2 Importância econômica .....	16
2.3 Cultivo da pitaia.....	17
2.4 Doenças fúngicas associadas a pitaia.....	17
REFERÊNCIAS .....	19
CAPÍTULO 2 - Doenças fúngicas da pitaia no Brasil .....	22
1 INTRODUÇÃO.....	25
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1 Coleta e isolamento.....	26
2.2 Extração de DNA, PCR e análises filogenéticas.....	28
2.3 Caracterização morfológica.....	30
2.4 Teste de patogenicidade em frutos .....	31
2.5 Teste de patogenicidade em cladódios .....	31
3 RESULTADOS .....	32
3.1 Isolados obtidos .....	32
3.2 Análise filogenética .....	34
3.3 Caracterização morfológica.....	37
3.4 Teste de patogenicidade em frutos .....	38
3.5 Teste de patogenicidade em cladódios .....	42
4 DISCUSSÃO.....	45
5 CONCLUSÃO .....	48
AGRADECIMENTOS.....	48
REFERÊNCIAS .....	49
MATERIAL SUPLEMENTAR .....	53

## **CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL**

### **1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA**

A pitaia é cultivada em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo,. Entretanto, desde que seu cultivo comercial começou a se expandir, a ocorrência de pragas e patógenos em cladódios e frutos vem sendo observada causando graves problemas nos cultivos comerciais. Estimativas indicavam que as perdas econômicas em decorrência do ataque de fitopatógenos poderiam chegar a até 44% (VALENCIA-BOTÍN et al., 2004). Atualmente pouco se sabe na literatura sobre as reais perdas.

No ano de 2015, no mercado brasileiro, o fruto da pitaia de polpa branca custava em média R\$50,00 por kg, enquanto o fruto de pitaia de polpa roxa custava até R\$ 100 o kg. No entanto, esse preço foi caindo gradualmente a cada ano e em 2020 o preço médio na época da safra passou a R\$15,00 no varejo, tanto da pitaia branca quanto vermelha. Esse fato se deve ao aumento dos cultivos brasileiros.

O preço abaixou muito devido a popularização do cultivo, mas ainda é vantajoso ao produtor. No entanto devido a essa competitividade e ao fato do consumidor ser bastante exigente em relação a sua apresentação, é cada vez mais exigido do produtor, um fruto de excelente qualidade, impecável, sem manchas ou qualquer outro sintoma de ataque de patógenos ou pragas.

Além dos frutos, patógenos e pragas também têm acometido as plantas. Produtores rurais das mais diversas regiões do Brasil, com destaque para o estado de Minas Gerais, região Sul de Minas, têm relatado a ocorrência de podridão aquosa nos cladódios, com lesões progredindo para a deteriorização total da planta. Lesões nos frutos também têm comprometido a produção. Estas são irregulares, com coloração inicialmente amarela e halo marrom, expandindo e, 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.

Em um estudo realizado pelo Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras, houve a demanda por parte dos produtores para uma investigação de quais patógenos vem ocorrendo em frutos e cladódios de pitaia, uma vez que os fitopatógenos vêm prejudicando a produtividade. Com base nessa demanda, professores e estudantes dos Departamentos de Agricultura e de

Fitopatologia da UFLA se uniram em uma parceria na identificação dos possíveis fitopatógenos. Dessa forma, esse trabalho se propôs a estudar a etiologia das principais doenças fúngicas que ocorrem na parte vegetativa e nos frutos de pitaia para assim contribuir com os produtores deste segmento e minimizar prejuízos na produção e comercialização.

## 2 ESTADO DA ARTE

### 2.1 Aspectos botânicos da pitiaia

A pitiaia, também conhecida como fruta do dragão, é uma planta rústica, pertencente à família Cactaceae, agrupada em quatro gêneros: *Stenocereus*, *Cereus*, *Selenicereus* e *Hylocereus* (LE BELLEC et al., 2006). Tem como centro de origem a América Central e do Sul. O gênero *Selenicereus* (pitiaia amarela) tem sua origem provavelmente na Colômbia ou Equador, e o gênero *Hylocereus* (pitiaia vermelha) é oriundo da Costa Rica e El Salvador, México e Guatemala.

São encontradas diferentes espécies de pitiaia, sendo algumas comerciais e outras nativas. De acordo com a espécie, seus frutos podem apresentar características físicas e químicas diversificadas quanto ao formato, presença de espinhos, cor da casca e da polpa, teor de sólidos solúveis e pH na polpa, reflexo da alta diversidade genética desta frutífera (LIMA et al., 2013). Apresenta alto potencial de produtividade, conquista de mercado e econômico devido a sua rusticidade (ORTIZ-HERNANDEZ et al., 1999).

As espécies mais cultivadas no Brasil são: *Hylocereus undatus*, apresenta fruto com superfície rosa e polpa branca; *Hylocereus polyrhizus*, fruto com superfície rosa e polpa vermelha e *Selenicereus megalanthus*, superfície amarela e polpa branca (FERNANDES et al., 2010).

### 2.2 Importância econômica

Os frutos de pitiaia apresentam funções nutracêuticas e grande variedade de usos. Podem ser consumidos in natura, industrializados, como sorvete, geleia, sucos. As empresas de cosméticos vêm investindo em produtos a base do fruto. A planta também possui propriedades medicinais, ricas em antioxidantes, e há relatos que seu consumo reduz o colesterol, a pressão sanguínea, diabetes e são ricas em fósforo e cálcio (GUNASENA et al., 2007).

A pitiaia possui uma fonte riquíssima de compostos bioativos, sendo considerada uma “superfruta” devido aos inúmeros benefícios que o seu consumo traz para a saúde (PIO et al., 2020).

É também uma fonte de prebióticos (WICHIENTHOT et al., 2010) e antioxidantes (TENORE et al., 2012), dos quais o último fez o dragão frutas conhecidas por seus benefícios medicinais (LE BELLEC et al., 2006).



A facilidade de adaptação das espécies às diversas condições climáticas e sua rusticidade, servem de alternativa para regiões em que o solo não é propício a outras culturas, como solos arenosos e pedregosos (ANDRADE et al., 2008), sendo alternativa para gerar renda para os produtores dessas áreas (MARQUES, 2010).

### **2.3 Cultivo da pitaia**

A maioria das mudas de pitaia, hoje utilizadas, são produzidas por meio de propagação vegetativa e obtidas pela técnica de estaquia (PIO et al., 2020).

A semeadura de sementes e a multiplicação in vitro também são possíveis (LE BELLEC et al., 2006). Contudo, na agricultura, a multiplicação por estacas permite uma reprodução confiável da variedade.

O sucesso do pomar de pitaia depende de algumas técnicas de manejo que influenciam decisivamente em uma produção satisfatória com frutos de bom calibre e qualidade organoléptica desejada, como a poda, a irrigação, o controle de plantas espontâneas e a polinização (PIO et al., 2020)

### **2.4 Doenças fúngicas associadas à pitaia**

A pitaia 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.

Na literatura relata-se que os problemas mais importantes em pitaia são doenças fúngicas como antracnose causada por *Colletotrichum gloesporioides* (PALMATEER, PLOETZ 2007; MASYAHIT et al., 2009); murcha (*Fusarium oxysporum*) (SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2016); mancha preta (*Alternaria* sp.); cancro da haste (*Neoscytalidium dimidiatum*) (CHUANG et al., 2012). São mencionados ainda, os patógenos *Botryosphaeria dothidea* e *Fusicoccum* sp. (VALENCIA-BOTÍN et al., 2003; VALENCIA-BOTÍN et al., 2004); *Bipolaris cactivora* (MASYAHIT et al., 2009; TARNOWSKI et al., 2010) e *Curvularia lunata* (MASRATUL HAWA et al., 2009).

Em pitaia de polpa branca, Castro et al. (2018) verificaram que o fungos do gênero *Alternaria* spp. causa deterioração da epiderme e na polpa podem ou não ocorrer sintomas visíveis. O mesmo patógeno causa lesões arredondadas avermelhadas a alaranjadas com centros vermelho escuro e sem halo, coalesceram

e formaram grandes áreas doentes em 60% dos cladódios de pitaia, com uma estimativa de perdas de 10 a 20% na Flórida (PATEL et al., 2017).

Na Malásia foi identificado em pitaia vermelha o agente causal *Bipolaris cactivora* causando podridão na base do fruto (VALENCIA-BOTÍN et al., 2013). Esse mesmo patógeno foi constatado no Vietnã como patógeno responsável por causar doença em pitaia 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 *Bipolaris cactivora* também foram identificados em frutos e cladódios de pitaia de polpa branca em Israel. Os frutos apresentaram manchas amarelas irregulares com centros castanhos, expandindo e, eventualmente, coalescendo, principalmente na parte superior (BEN-ZE'EV et al., 2011).

A espécie *Fusarium proliferatum* foi identificada como sendo o agente causal da doença denominada podridão do caule em pitaia vermelha na Malásia. O sintoma inicia-se como uma lesão marrom molhada com formação de esporos laranja e micélio branco sobre a superfície da mesma (MASRATUL HAWA et al., 2013). Esse sintoma também é causado por *Fusarium fujikuroi* (MASRATUL HAWA et al., 2017).

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R.A.; MARTINS, A.B.G.; SILVA, M.T.H. Development of seedlings of red pitaya (*Hylocereus undatus* Haw) in different substrate volumes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, p. 697-700, 2008.
- BEN-ZE'EV, I.S.; ASSOULINE, I; LEVY, E; ELKIND, G. First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. **Phytoparasitica**, v. 39, n. 2, p. 195-197, 2011.
- 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**, v. 141, p. 71-76, 2018.
- CHUANG, M.F.; NI, H.F.; YANG, H.R.; SHU, S.L.; LAI, S.Y.; JIANG, Y.L. First report of stem canker disease of pitaya (*Hylocereus undatus* and *H. polyrhizus*) caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. **Plant disease**, v. 96, n. 6, p. 906-906, 2012.
- FERNANDES, L.M.S.; VIEITES, R.L.; CERQUEIRA, R.C.; BRAGA, C.L.; SIRTOLI, L.F.; AMARAL, J.L. Características pós-colheita em frutos de pitaya orgânica submetida a diferentes doses de irradiação. **Biodiversidade**, v. 9, n. 1, 2010.
- GUNASENA, H.P.M.; PUSHPAKUMARA, D.K.N.G.; KARIYAWASAM, M. Dragon Fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. In: PUSHPAKUMARA, D.K.N.; GUNASENA, H.P.M.; SINGH, V.P. (Eds.) **Underutilized fruit trees in Sri Lanka**. World Agroforestry Centre, South Asia Office, India, v. 1, p. 110-141, 2007.
- HE, P.F.; HO, H.; WU, X.X.; HOW, M.S.; HE, Y.K. *Bipolaris cactivora* causing fruit rot of dragon fruit imported from Vietnam. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 2, n. 1, p. 31-35, 2012.
- MARQUES, V.B. **Germinação, fenologia e estimativa do custo de produção da pitaia [*Hylocereus undatus* (Haw) Britton & Rose]**. 2010. 141 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras
- 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.
- LIMA, C.A.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Diversidade genética intra e interespecífica de pitaia com base nas características físico-químicas de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1066-1072, 2013.
- LIU, Y.J.; TANG, Q.; FANG, L. First report of *Nigrospora sphaerica* causing leaf blight on *Camellia sinensis* in China. **Plant Disease**, v. 100, n. 1, p. 221, 2016.
- MARQUES, V.B. **Germinação, fenologia e estimativa do custo de produção da pitaia [*Hylocereus undatus* (Haw) Britton & Rose]**. 2010. 141 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras

MASRATUL HAWA, M.; HEW, P.Y.; MAZIAH, Z.; SALLEH, B. A ethiology and symptomatology of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. In: **The Sixth Regional IMT-GT Uninet Conference**. 2008. p. 28-30.

MASRATUL HAWA, M.; SALLEH, B.; LATIFFAH, Z. First report of *Curvularia lunata* on red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Plant disease**, v. 93, n. 9, p. 971-971, 2009.

MASRATUL HAWA, M.; SALLEH, B.; LATIFFAH, Z. Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* causing stem rot of *Hylocereus polyrhizus* in Malaysia. **Annals of applied Biology**, v. 163, n. 2, p. 269-280, 2013.

MASRATUL HAWA, M.; NURUL FAZIHA, I.; NIK MOHAMAD IZHAM, M.N.; LATIFFAH, Z. *Fusarium fujikuroi* associated with stem rot of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Annals of Applied Biology**, v. 170, n. 3, p. 434-446, 2017.

MASYAHIT, M. The first report of the occurrence of anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. on dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in Peninsular Malaysia. **American Journal of Applied Sciences**, v. 6, p. 902-912, 2009.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y.D.; LIVERA MUÑOZ, M.; COLINAS LEÓN, M.T.; CARRILLO SALAZAR, J.A. Estrés hídrico y intercambio de CO<sub>2</sub> de La pitahaya (*Hylocereus undatus*). **Agrociencia**, v. 33, n. 4, p. 397-405, 1999.

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

PIO, L.A.S.; RODRIGUES, M.A.; SILVA, F.O. **O Agronegócio da Pitaia**, v1, p. 321, 2020.

RITA, W.S.; SUPRAPTA, D.N.; SUDANA, I.M.; SWANTARA, I.M.D. Antifungal Activity of Rain Tree (*Samanea saman* Jacq.) Leaf Extract Against *Fusarium solani*, The Cause of Stem Rot Disease on Dragon Fruit (*Hylocereus* sp.). **CoSCI Proceeding**, 2016.

SALAZAR-GONZÁLEZ, C.; SERNA-COCK, L.; GÓMEZ-LÓPEZ, E. Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). **Agromía mesoamericana**, v. 27, n. 2, p. 277-285, 2016.

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**, v. 94, n. 12, p. 1506-1506, 2010.

TENORE, G.C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of functional foods**, v. 4, n. 1, p. 129-136, 2012.

VALENCIA-BOTÍN, A.J.; SANDOVAL-ISLAS, J.S.; CÁRDENAS-SORIANO, E.; MICHAILIDES, T.J.; RENDÓN-SÁNCHEZ, G. *Botryosphaeria dothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. **Plant Pathology**, v. 52, n. 6, p. 803-803, 2003.

VALENCIA-BOTÍN, A.J.; SANDOVAL-ISLAS, J.S.; CÁRDENAS-SORIANO, E. A New Spot Disease of Pitahaya [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose] caused by *Fusicoccum*-like anamorph of *Botryosphaeria dothidea* (Mough.:Fr.) Ces. And De Not. In Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 22, n. 1, p. 140-142, 2004.

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**, v. 23, n. 2, p. 157-161, 2005.

VALENCIA-BOTÍN, A. J.; KOKUBU, H.; ORTÍZ-HERNÁNDEZ, Y. D. A brief overview on pitahaya (*Hylocereus* spp.) diseases. **Australasian Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 437-440, 2013.

WICHIENTHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTAL, R.A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food chemistry**, v. 120, n. 3, p. 850-857, 2010.

## **CAPÍTULO 2 - Doenças fúngicas da pitaya no Brasil**

### **Fungal diseases of Pitaya**

Nevenka de Matos Moura<sup>1</sup>, Acleide Maria Santos Cardoso<sup>1</sup>, Gláucia Mara Moreira<sup>1</sup>, Elaine Cristina Galvão Pierangeli<sup>2</sup>, Marileide Moreira Costa<sup>1</sup>, Leila Aparecida Salles Pio<sup>2</sup>, Ludwig H. Pfenning<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Caixa postal 3037, 37200-000 Lavras, MG, Brazil.

<sup>2</sup>Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Caixa postal 3037, 37200-000 Lavras, MG, Brazil.

\*Autor para correspondência: Ludwig H Pfenning E-mail: ludwigufla@gmail.com

Manuscrito preparado para submissão à revista Tropical Plant Pathology

## RESUMO

O cultivo da pitáia pode ser uma fonte de diversificação da atividade agrícola. Os frutos são promissores, pois agregam rusticidade de cultivo e beleza, aliado a uma composição rica em compostos funcionais, trazendo benefícios a quem os consome. Fungos podem afetar os frutos e a parte vegetativa de pitáia comprometendo a produção e reduzindo o valor comercial. Visando contribuir com informações sobre doenças fúngicas que acometem a cultura, este trabalho objetivou: i. identificar os fungos associados a sintomas tanto em frutos quanto em cladódios por meio de avaliação dos marcadores morfológicos e análise de filogenia molecular; ii. avaliar a patogenicidade dos fungos em frutos e cladódios; iii. documentar a sintomatologia que os diversos fungos causam, para dar suporte na diagnose em campo e na clínica fitopatológica. Um total de 24 isolados foi obtido do sul de Minas Gerais, Santa Catarina e Distrito Federal, os quais foram identificados por marcadores morfológicos como pertencentes aos gêneros *Bipolaris* (n=4), *Alternaria* (n=6), *Colletotrichum* (n=4) e *Fusarium* (n=10). Isolados representativos de cada gênero foram identificados por filogenia molecular em nível de espécie e submetidos aos testes de patogenicidade em frutos e cladódios pelo método de injeção de suspensão de conídios. Todos os isolados testados foram patogênicos, com diferenças nos sintomas entre as espécies inoculadas. Frutos e cladódios apresentaram podridão negra quando inoculados com *Bipolaris cactivora*, manchas enegrecidas longitudinais em frutos e podridão seca em cladódios (*Alternaria alternata*), podridão aquosa com esporulação alaranjada em frutos e colonização interna do tecido em cladódios (*Colletotrichum siamense*), podridão aquosa de coloração marrom em cladódios e em frutos, causado por *Fusarium proliferatum* e *F. sterilihyphosum*. *Fusarium oxysporum* não causou lesão quando inoculado em cladódios, mas em frutos causou lesão seca arredondada. Para completar os postulados de Koch, os patógenos foram reisolados. 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.

Palavras chave: *Hylocereus undatus*, Podridão de frutos e cladódios, *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp.

## ABSTRACT

The cultivation of pitaya can be an interesting source of income and diversification of the agricultural activity. It is considered a promising activity, as it is relatively simple to grow, produces beautiful fruits, which are rich in functional compounds, bringing benefits to those who consume it. Fungi can affect the fruits and the vegetative part of pitaya, compromising production and reducing the commercial value. Aiming to contribute with information about fungal diseases that affect the crop, the objectives of this study were (i.) to identify the fungi associated with the disease symptoms in both fruits and cladodes, through the evaluation of morphological markers and analysis of molecular phylogeny; (ii.) to evaluate the pathogenicity of fungi in fruits and cladodes; (iii.) to describe and illustrate the symptoms which the various fungi cause, and to support the diagnosis in the field and in the phytopathological clinic. A total of 24 isolates were obtained from southern Minas Gerais, Santa Catarina and the Federal District, which were identified by morphological markers as belonging to the genera *Bipolaris* (n = 4), *Alternaria* (n = 6), *Colletotrichum* (n = 4) and *Fusarium* (n = 10). Representative isolates of each genus were identified by molecular phylogeny at the species level and used in pathogenicity tests on fruits and cladodes by injection of a conidial suspension. All isolates tested induced disease symptoms, with differences according to the inoculated species. Fruits and cladodes showed black rot when inoculated with *Bipolaris cactivora*, longitudinal black spots on fruits and dry rot on cladodes (*Alternaria alternata*), aqueous rot with orange sporulation on fruits and internal tissue colonization in cladodes (*Colletotrichum siamense*), and watery brown rot in cladodes and fruits (*Fusarium proliferatum* and *F. sterilihyphosum*). *Fusarium oxysporum* did not cause disease when inoculated in cladodes, but in fruits it induced symptoms of dry rot. To complete Koch's postulates, pathogens were re-isolated. The results generated contribute to the correct identification of pathogens and support an effective management of diseases, aiming to guarantee the sustainability of the culture and its economic viability.

Keywords: *Hylocereus undatus*, Podridão de frutos e cladódios, *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp.



## 1 INTRODUÇÃO

*Hylocereus undatus* (Haw.), é uma cactácea frutífera, nativa da América do Sul e Central, também conhecida como pitaia ou fruta dragão, (Arul et al. 2017). O cultivo é consolidado nos países asiáticos, já no Brasil seu cultivo é recente, no entanto, em franca expansão. Seus frutos são exóticos, com cor e aparência atraentes, sabor agradável, nutracêuticos, com inúmeros benefícios para a saúde, além do alto valor econômico (Fan et al. 2016). Esses fatores têm contribuído para despertar o aumento do interesse dos produtores e consumidores. Com o aumento nas áreas plantadas, a incidência de doenças também aumentou, sendo seu cultivo suscetível ao ataque de vários patógenos (Ortiz-Hernández e Carrillo-Salazar 2012; Castro et al. 2017). Dentre as principais doenças que acometem o cladódio destacam-se o cancro, a podridão e a antracnose (Masratul Hawa et al. 2013a). As frutas também podem ser colonizadas durante os estágios de produção e pós-colheita, resultando em podridões, manchas negras, necrose e consequente deterioração, inviabilizando seu consumo e resultando no descarte (Ortiz-Hernández e Carrillo-Salazar 2012).

Produtores rurais das mais diversas regiões do Brasil, com destaque para a região subtropical do Sul de Minas Gerais, relataram a 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, 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.

A fim de esclarecer sobre as doenças fúngicas associadas à cultura da pitaia no Brasil, objetivou-se com esse estudo: i. identificar os fungos associados ao sintoma de podridão tanto nos frutos quanto em cladódios por meio de avaliação dos marcadores morfológicos e análise de filogenia molecular; ii. avaliar a patogenicidade dos fungos em frutos e cladódios; iii. gerar informações sobre a sintomatologia para diagnose visual em campo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta e isolamento

Frutos e cladódios sintomáticos e assintomáticos de *Hylocereus undatus* (pitaia vermelha de polpa branca) foram coletados em regiões produtoras do Brasil, como Minas Gerais, Santa Catarina e Distrito Federal. O material vegetal coletado foi armazenado em saco de papel e os fungos foram obtidos por meio de isolamento direto e indireto. Os isolados foram submetidos ao cultivo monospórico e depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML), Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil (<http://www.dfp.ufla.br/cml/>), pelo método de ultra-congelamento a -80 °C e de Castellani a 10 °C (Tabela 1).

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

<b>Código</b>	<b>CML<sup>3</sup></b>	<b>Espécie</b>	<b>Origem Geográfica</b>	<b>Substrato</b>	<b>Barcode<sup>5</sup></b>
NFA4 <sup>1</sup>	4000	<i>Bipolaris cactivora</i>	Lavras, MG	Fruto	ITS
NFA19		<i>Bipolaris cactivora</i>	Três Pontas, MG	Fruto	
NM59 <sup>2</sup>		<i>Bipolaris cactivora</i>	Ribeirão Vermelho, MG	Fruto	ITS
NFA42		<i>Bipolaris cactivora</i>	Ribeirão Vermelho, MG	Cladódio	
NFA8		<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Lavras, MG	Fruto	
NM61		<i>Colletotrichum siamense</i>	Ribeirão Vermelho, MG	Fruto	GAPDH
NM33		<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Boa Esperança, MG	Cladódio	
NM67		<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	Ingai, MG	Cladódio	
NM49		<i>Alternaria gossypina</i>	Ingai, MG	Fruto	GAPDH
NFA26	4062	<i>Alternaria alternata</i>	Lavras, MG	Fruto	GAPDH
NFA38	4001	<i>Alternaria alternata</i>	São Tomé das Letras, MG	Cladódio	GAPDH
NM34		<i>Alternaria alternata</i>	Boa Esperança, MG	Cladódio	GAPDH
NM66		<i>Alternaria alternata</i>	Forquilha, SC	Cladódio	
NM68		<i>Alternaria alternata</i>	Ingai, MG	Cladódio	
NFA3	4058	<i>Fusarium proliferatum</i>	Lavras, MG	Fruto	TEF

**Tabela 1.** Isolados obtidos de pitaita (*Hylocereus undatus*), continuação

Código	CML	Espécie	Origem Geográfica	Substrato	<sup>5</sup> Barcode
NFA41		<i>Fusarium proliferatum</i>	Ribeirão Vermelho, MG	Cladódio	
NM39		<i>Fusarium proliferatum</i>	Boa Esperança, MG	Cladódio	
NFA5B	4059	<i>Fusarium verticillioides</i>	Lavras, MG	Fruto	
NFA13	4060	<i>Fusarium verticillioides</i>	Lavras, MG	Fruto	
NFA20	4061	<i>Fusarium verticillioides</i>	Três Pontas, MG	Fruto	
NFA28	4063	<i>Fusarium verticillioides</i>	Lavras, MG	Fruto	
NM47		<i>Fusarium sterilihyphosum</i>	Boa Esperança, MG	Cladódio	TEF
NM45		FOSC <sup>4</sup>	Brasília, DF	Cladódio	
NM38		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i>	Boa Esperança, MG	Cladódio	TEF

<sup>1</sup>NFA: Código pessoal coleção Neilton Fiuza Araújo. <sup>2</sup>NM: Código pessoal coleção Nevenka Moura. <sup>3</sup>CML: Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. <sup>4</sup>FOSC: complexo de espécies *Fusarium oxysporum*. <sup>5</sup>Barcode = ITS: internal transcribed spacer. GAPDH: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. TEF: translation elongation factor 1-alpha.

## 2.2 Extração de DNA, PCR e análises filogenéticas

Os fungos 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. 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 verificadas visualmente em gel de agarose 1,2%, pela intensidade da banda.

As reações de PCR foram realizadas utilizando o kit GoTaq<sup>®</sup> Colorless Master Mix (Promega, Madison, WI, EUA). Os genes *barcode* e os *primers* utilizados para

sua amplificação para cada gênero estão descritos na Tabela 2. 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, Porto Alegre, RS, Brasil). 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/>).

Alinhamentos múltiplos das sequências de nucleotídeos, incluindo sequências de isolados de referência (Tabelas 1S; 2S; 3S; 4S), foram gerados utilizando a ferramenta CLUSTALW implementada no programa MEGA 6 (Tamura et al. 2013) e estes foram corrigidos manualmente. Análises filogenéticas foram realizadas pelo método de Máxima Parcimônia (MP) no programa MEGA 6 (Tamura et al. 2013) e o suporte dos clados foi inferido a partir de 1.000 repetições. O método de inferência Bayesiana foi realizado no programa MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012) utilizando os modelos de substituição nucleotídica estimados no programa MEGA 6 (Tabela 2). Os algoritmos Markov Chain Monte Carlo de quatro cadeias foram executados  $1 \times 10^6$  gerações e foram amostradas a cada 1000 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. Sequência de *Alternaria alternata* (CBS 916.96) foi utilizada como outgroup para a análise filogenética de *Bipolaris*, *Cicatricea salina* (CBS 302.84) para a análise filogenética de *Bipolaris*, *Colletotrichum lindemuthianum* (CBS 144.31) para filogenia de *Colletotrichum* e *Fusarium commune* (NRRL 53153) para a análise filogenética de *Fusarium*.

**Tabela 2.** Sumário com as informações dos loci, *primers* e dados das análises filogenéticas utilizados para os gêneros em estudo.

Gênero	Barcode <sup>1</sup>	Primer	Referência	Tamanho (pb)	Modelo de substituição de nucleotídeos	Caracteres informativos para parcimônia
<i>Bipolaris</i>	ITS	ITS4 ITS5	White et al. 1990	569	GTR+I+G	64
<i>Alternaria</i>	GAPDH	GPD1 GPD2	Berbee et al. 1999	575	GTR+G	126
<i>Colletotrichum</i>	GAPDH	GPD1 GPD2	Berbee et al. 1999	276	GTR+G	186
<i>Fusarium</i>	TEF	EF-1 EF-2	O'Donnell et al. 1998	476	SYM+G	103

<sup>1</sup>**Barcode = ITS:** internal transcribed spacer. **GAPDH:** glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. **TEF:** translation elongation factor 1-alpha.

### 2.3 Caracterização morfológica

A avaliação das características macro e micromorfológicas dos isolados para as espécies foi feita de acordo com literatura específica: Manamgod et al. (2014, *Bipolaris* spp.), Woudenberg et al. (2015, *Alternaria* spp.), Cai et al. (2009, *Colletotrichum* spp.) e Leslie e Summerell (2006, *Fusarium* spp.).

O crescimento micelial e as características micromorfológicas dos isolados de *Bipolaris* e *Colletotrichum* foram avaliados em colônias crescidas em meio de cultura BDA (batata dextrose agar) a 25 °C após sete dias de incubação no escuro. Isolados de *Alternaria* foram avaliados em SNA (synthetic nutrient-poor agar) com papel de filtro com sete dias de crescimento a 22 °C e fotoperíodo de 8h. O crescimento micelial e coloração das colônias dos isolados de *Fusarium* foram avaliados em BDA, respectivamente, após quatro dias a 25°C no escuro e 14 dias a 20 °C com fotoperíodo de 12h. A análise micromorfológica foi realizada em colônias crescidas em SNA com papel de filtro, incubadas por 14 dias a 20 °C com fotoperíodo de 12h sob luz branca fluorescente + luz negra e 12h no escuro.

## 2.4 Teste de patogenicidade em frutos

Oito isolados foram selecionados para a condução dos testes de patogenicidade, representando seis espécies supostamente patogênicas: *Bipolaris cactivora* (n=2), *Alternaria alternata* (n=2), *Colletotrichum siamense* (n=1), *Fusarium proliferatum* (n=1), *Fusarium sterilihyphosum* (n=1) e *Fusarium oxysporum* (n=1). Para a produção de inóculo, os isolados foram transferidos para meio malte 2% e incubados a 25 °C por sete dias. Foram preparadas suspensões de esporos calibradas para a concentração de  $1 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>. A inoculação foi realizada pelo método de injeção da suspensão de conídios em frutos de pitáia maduros com 30 a 45 dias após a antese (He et al. 2012). A suspensão de 0,2 mL foi injetada utilizando uma seringa e agulha em dois pontos equidistantes no fruto. Utilizaram-se duas testemunhas, testemunha pura (cladódio + água destilada autoclavada) e testemunha absoluta (somente o fruto).

Os frutos foram mantidos sobre a bancada do laboratório em temperatura ambiente ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ). As avaliações foram realizadas diariamente por um período de 10 a 14 dias para observação e avaliação dos sintomas. Após 10 dias foi mensurado o tamanho das lesões, medindo-se comprimento e largura. Ao final do experimento fragmentos das lesões presentes nos frutos foram plaqueados para reisolamento do patógeno completando o postulado de Koch. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e foi realizado em março de 2019 e 2020.

## 2.5 Teste de patogenicidade em cladódios

Os isolados selecionados e as condições de preparo foram os mesmos utilizados no teste de patogenicidade em frutos. Mudas de pitáia foram produzidas por meio de estacas (cladódios) enraizadas de aproximadamente 25 centímetros.

Todas as mudas foram mantidas em casa de vegetação com temperaturas diurnas de aproximadamente 28-30 °C e noturnas de 10-20 °C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições. As avaliações dos sintomas nos cladódios foram realizadas diariamente por três semanas, fazendo-se observação da evolução dos sintomas. Após este período foi realizado o reisolamento dos patógenos para completar os postulados de Koch. O experimento foi realizado em setembro de 2019 e abril de 2020.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Isolados obtidos

Obeve-se uma coleção de 24 isolados de frutos e cladódios sintomáticos e assintomáticos de pitaia em regiões produtoras do Brasil. De acordo com a avaliação de marcadores morfológicos, pertencem aos gêneros *Bipolaris* (n=4), *Alternaria* (n=6), *Colletotrichum* (n=4) e aos complexos de espécies *Fusarium fujikuroi* (n=8) e *Fusarium oxysporum* (n=2) (Tabela 1). Foram obtidos 25 isolados pertencentes a outros grupos de fungos, mas estes não apareceram de forma solitária, e sim, sempre associados aos fitopatógenos relatados nesse trabalho (Tabela 3).

**Tabela 3.** Fungos associados obtidos de pitaia (*Hylocereus undatus*)

Código	CML <sup>3</sup>	Espécie	Origem Geográfica	Substrato
NAF6 <sup>1</sup>		<i>Cladosporium</i> sp.	Lavras, MG	Fruto
NFA32		<i>Cladosporium</i> sp.	Lavras, MG	Fruto
NFA1		<i>Clonostachys rosea</i>	Lavras, MG	Fruto
NFA2		<i>Clonostachys rosea</i>	Lavras, MG	Fruto
NFA33		<i>Chaetomium</i> sp.	Lavras, MG	Fruto
NFA29		<i>Nigrospora</i> sp.	Lavras, MG	Fruto
NFA31		<i>Nigrospora</i> sp.	Lavras, MG	Fruto
NFA40		<i>Curvularia</i> sp.	Ribeirão Vermelho, MG	Cladódio
NM63 <sup>2</sup>		<i>Eurotium</i> sp.	Itutinga, MG	Cladódio
NM45		FCSC <sup>4</sup>	Boa Esperança, MG	Cladódio



**Tabela 3.** Fungos associados obtidos de pitaia (*Hylocereus undatus*), continuação.

<b>Código</b>	<b>CML<sup>3</sup></b>	<b>Espécie</b>	<b>Origem Geográfica</b>	<b>Substrato</b>
NFA18		FIESC <sup>5</sup>	Três Pontas, MG	Fruto
NFA21		FIESC	Três Pontas, MG	Fruto
NFA22		FIESC	Lavras, MG	Fruto
NM53		FIESC	Ijaci, MG	Fruto
NM51		FIESC	Ijaci, MG	Fruto
NM41		FIESC	Boa Esperança, MG	Cladódio
NM65		FIESC	Forquilha, SC	Cladódio
NM43		FIESC	Boa Esperança, MG	Cladódio
NM50		FLSC <sup>6</sup>	Ijaci, MG	Fruto
NM52		FLSC	Ijaci, Mg	Fruto
NM37		FLSC	Boa Esperança, MG	Cladódio
NM42		FLSC	Boa Esperança, MG	Cladódio
NM46		FLSC	Boa Esperança, MG	Cladódio
NFA39		FSSC <sup>7</sup>	São Thomé das Letras, MG	Cladódio
NM44		FSSC	Boa Esperança, MG	Cladódio

<sup>1</sup>NFA: Código pessoal coleção Neilton Fiuza Araújo. <sup>2</sup>NM: Código pessoal coleção Nevenka Moura. <sup>3</sup>CML: Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. <sup>4</sup>FCSC: complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum*. <sup>5</sup>FIESC: complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti*. <sup>6</sup>FLSC: complexo de espécies *Fusarium lateritium*. <sup>7</sup>FSSC: complexo de espécies *Fusarium solani*.

### 3.2 Análise filogenética

As análises filogenéticas permitiram a identificação de seis espécies dentre os isolados selecionados (Tabela 1). A filogenia com sequências de *ITS* de isolados de *Bipolaris* evidenciou que os fungos desse gênero obtidos de frutos de pitaiá com podridão pertencem à espécie *Bipolaris cactivora*, pois suas sequências agruparam com sequência do material de referência com 98% de bootstrap e 100% de probabilidade posterior (Figura 1).

Entre os isolados de *Alternaria* a filogenia baseada em sequências do gene *GAPDH* permitiu identificar como *Alternaria alternata* três isolados, obtidos de cladódio e fruto de pitaiá sintomáticos, e como *Alternaria gossypina* um isolado obtido de fruto de pitaiá sintomático (Figura 2). Os isolados de *Alternaria alternata* agruparam com o isolado tipo (CBS 911.96) com 95% de bootstrap e 98% probabilidade posterior, enquanto o isolado de *Alternaria gossypina* agrupou com o isolado de referência com 93% de bootstrap. Ambas as espécies pertencem à seção *Alternaria* do Clado A.

O isolado de *Colletotrichum*, obtido de fruto de pitaiá, foi identificado como *Colletotrichum siamense* com base na filogenia de sequências de DNA do gene *GAPDH*. A sequência desse isolado agrupou com o isolado holótipo (ICMP 18578) com 82% de bootstrap e 98% probabilidade posterior (Figura 3).

A análise filogenética de espécies de *Fusarium* baseada em sequências do gene *TEF* permitiu a identificação de três espécies. O isolado CML 4058, obtido de fruto de pitaiá com podridão, agrupou com o material de referência de *Fusarium proliferatum* com 98% de suporte e 99% de probabilidade posterior. O isolado NM47, obtido de cladódio de pitaiá, agrupou com o isolado de referência de *Fusarium sterilihyphosum* com 99% de bootstrap e 100% de probabilidade superior, enquanto o isolado NM38 agrupou com o isolado de referência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* com 93% de bootstrap e 98% de probabilidade posterior (Figura 4).

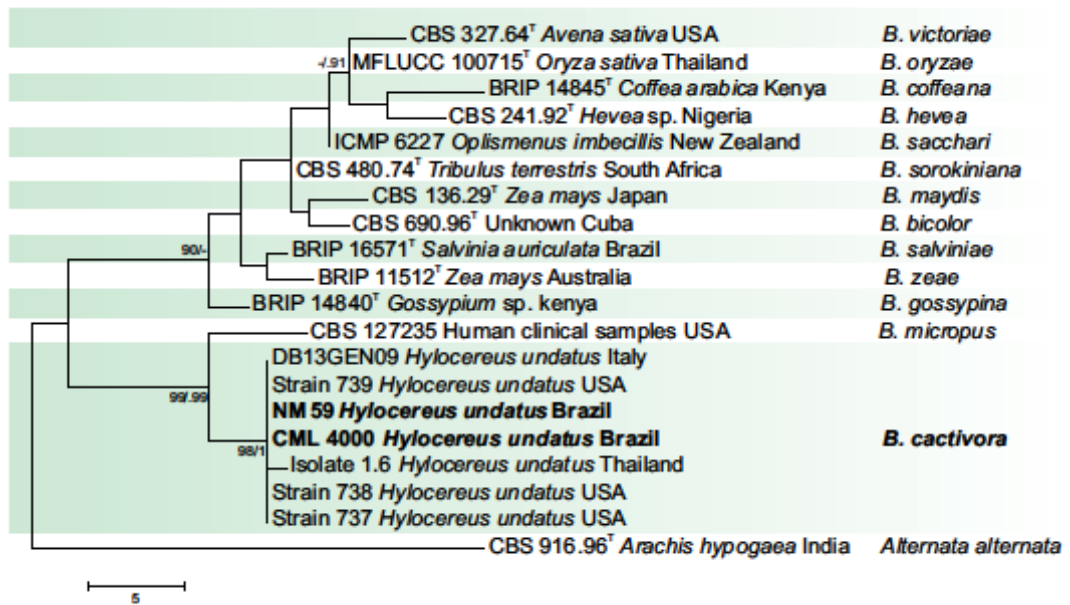


Figura 1. Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Bipolaris*, utilizando sequências de ITS. Sequência de *Alternaria alternata* foi utilizada como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior  $\geq 0.90$  e os valores de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em porcentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.792, RI = 0.883 na análise de máxima parcimônia. Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Holanda; BRIP - Queensland Plant Pathology Herbarium, Brisbane, Queensland, Austrália; ICMP - International Collection of Microorganisms from Plants, Auckland, Nov Zelândia; MFLUCC - Mae Fah Luang University Culture Collection, Chiang Rai, Tailândia; T - isolado tipo.

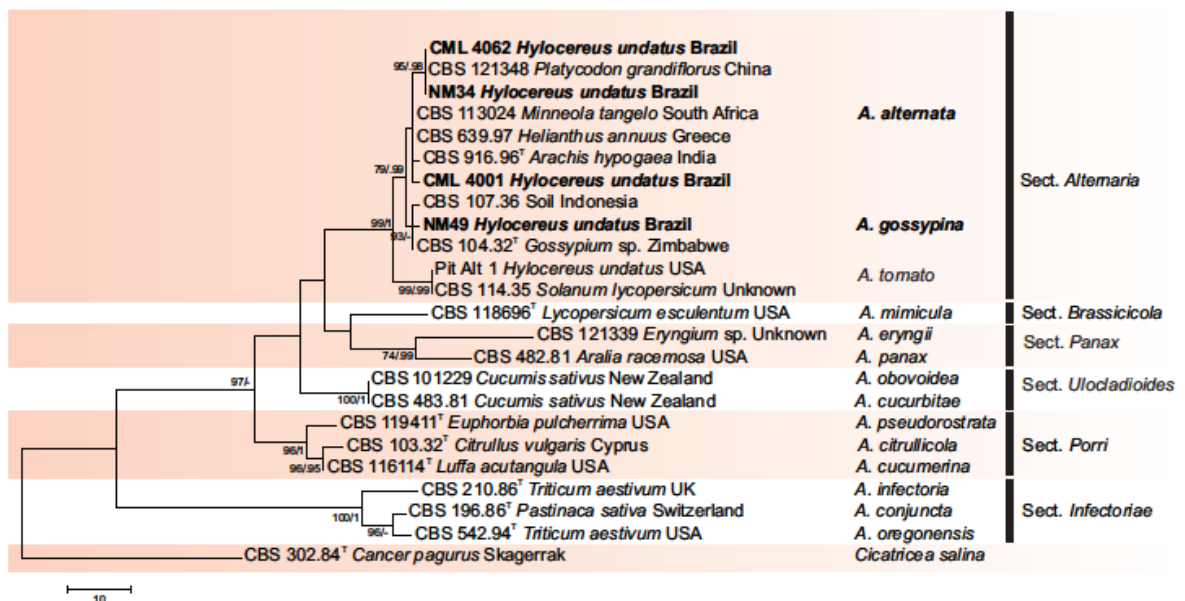


Figura 2. Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Alternaria*, usando sequências de gliceraldehide 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). Sequência de *Cicatricea salina* foi utilizada como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por

escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior  $\geq 0.90$  e de bootstrap  $\geq 70$  de 1000 repetições são indicados acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.744, RI = 0.833 na análise de máxima parcimônia. Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Holanda. T – isolado tipo.

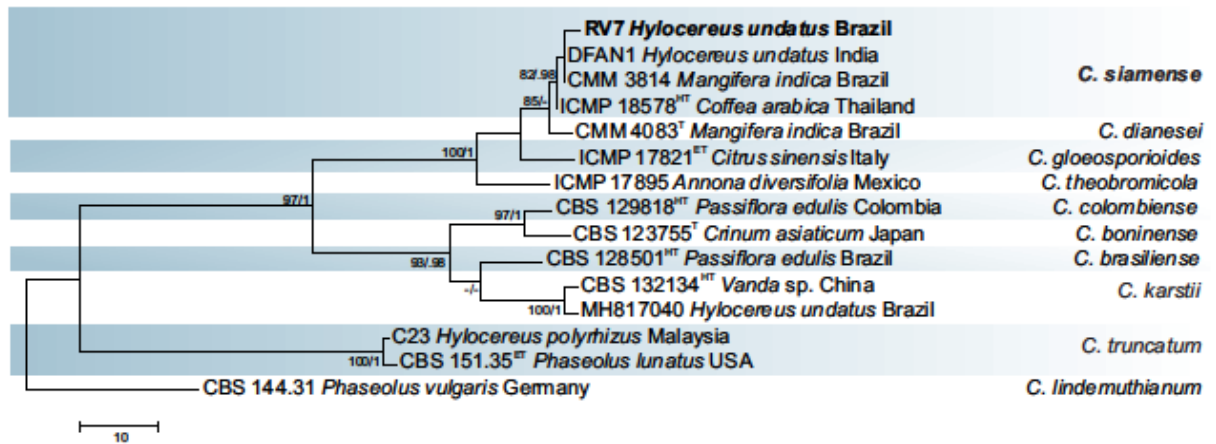


Figura 3. Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Colletotrichum*, utilizando sequências de GAPDH. Sequência de *Colletotrichum lindemuthianum* foi utilizada como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior  $\geq 0.90$  e os valores de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em percentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.782, RI = 0.858 na análise de máxima parcimônia. Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Holanda; ICMP - International Collection of Microorganisms from Plants, Auckland, Nova Zelândia; CMM - Culture Collection of Phythopathogenic Fung "Prof. Maria Menezes", Recife, Brasil; T – isolado tipo; HT – holótipo; ET- epítipo.

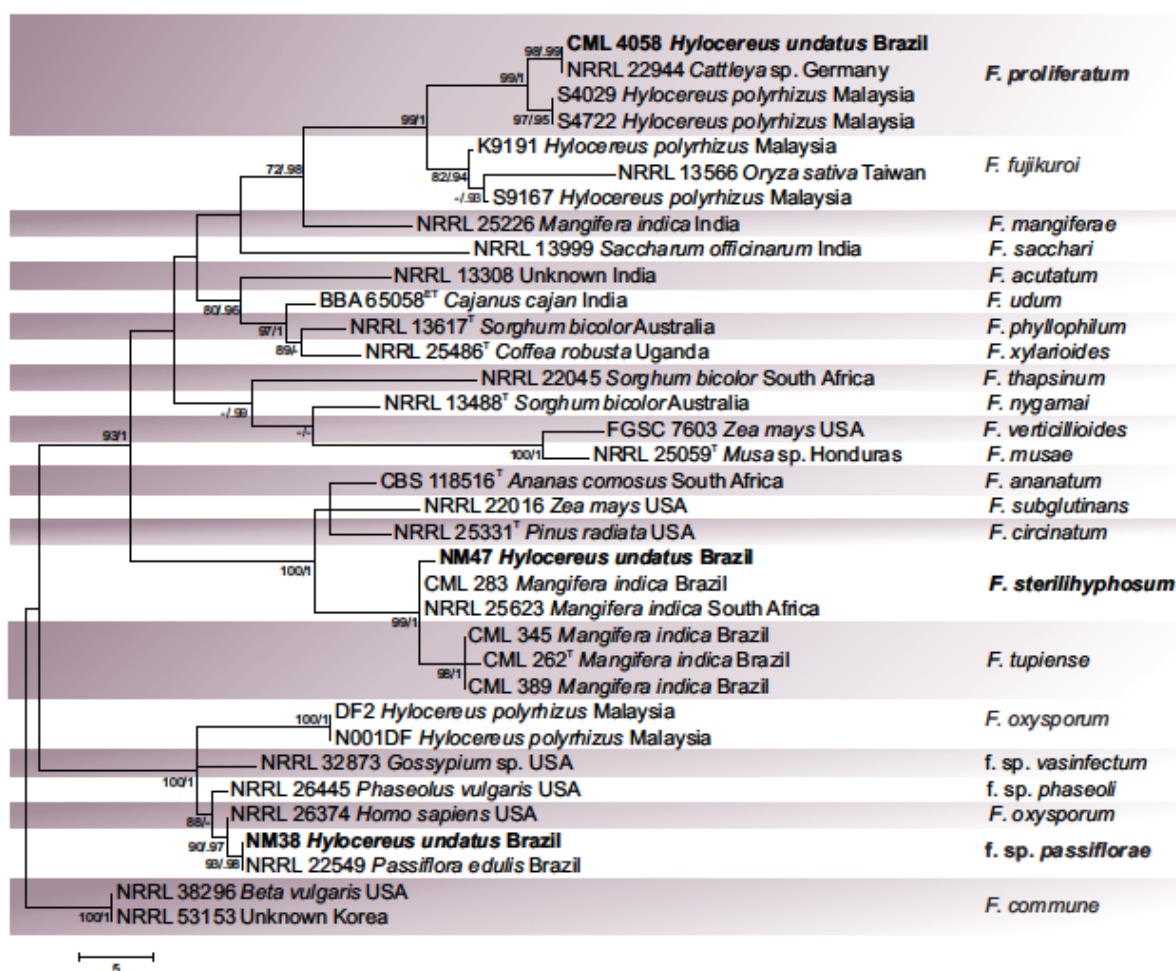


Figura 4. Árvore filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Fusarium*, utilizando sequências de TEF. Sequências de isolados de *Fusarium commune* foram utilizados como outgroup. O comprimento dos ramos é indicado por escala na base da árvore. Os valores de probabilidade posterior  $\geq 0.90$  e os valores de bootstrap  $\geq 0.70$  de 1000 repetições são indicados em percentagem acima ou abaixo dos internódios. CI = 0.771, RI = 0.898 na análise de máxima parcimônia. Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Holanda; NRRL, Northern Regional Research Laboratory, Peoria, IL, EUA; BBA: Julius Kühn Institute, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Berlin and Braunschweig, Alemanha; T – isolado tipo; ET- epítipo.

### 3.3 Caracterização morfológica

Os isolados de *Bipolaris cactivora* apresentam conidióforos castanho claro a castanho escuro. Conídios com hilo basal retos, elipsoidais, fusiformes ou obclavados, 2 a 4 pseudoseptos, medindo de 9,0 – 15 x 3,25 – 3,9  $\mu\text{m}$ . Em BDA, as colônias apresentaram coloração verde oliva, diâmetro médio de 6,0 mm.

*Alternaria alternata* apresentou formação de conídios em cadeia, com coloração marrom claro a escuro. Os conídios apresentaram comprimento de 11,0 –

20,0 × 1,3 – 1,95 µm, com 2 a 6 septos transversais e 0 a 1 septo longitudinal. As colônias apresentaram coloração cinza esverdeado, diâmetro médio de 5,5mm.

*Colletotrichum siamense* apresentou esporóquio alaranjado, conídios hialinos, cilíndricos e alongados, com comprimento e largura médios de 4,1 – 6,1 × 1,37 – 2,08 µm, respectivamente. As colônias mostraram micélios aéreos abundantes, cinza a marrom, apresentando diâmetro de 4,5 mm.

*Fusarium proliferatum* produziu microconídios clavados ou obvoídes em cadeias curtas, a partir de polifiálides; seus macroconídios foram falcados, quase retos, com 3 a 5 septos, medindo de 6,0 – 11,0 × 3,9 – 7,15 µm; o tamanho do diâmetro da colônia foi de 3,2 mm. *Fusarium sterilihyphosum* caracterizou-se pela produção de hifas espiraladas, presença de falsas cabeças no micélio aéreo, microconídios obvoídes com comprimento e largura médios de 6,2 – 8,2 × 4,03 – 5,33 µm, respectivamente, e macroconídios longos e delgados, com 3 a 5 septos, com tamanho médio de 12,46 – 15,0 × 1,0 – 1,5 µm de largura, o diâmetro da colônia foi de 2,5 mm. *Fusarium oxysporum* apresentou como principal marcador monofiálides curtas, esporóquio alaranjado, clamidósporos solitários e em pares, apresentou microconídios asseptado ou com 1 septo, de forma fusiforme a reniforme, com tamanho variando entre 3,0 – 6,0 × 1,0 – 2,0 µm, os macroconídios produzidos possuem formato falcado com presença de 3-5 septos, com tamanho variando 11,0 – 15,5 × 1,5 – 5 µm. O crescimento micelial das colônias foi de 3,1 mm.

#### **3.4 Teste de patogenicidade em frutos**

Todos os fungos inoculados foram patogênicos. Os sintomas foram iniciados quatro dias após a inoculação (dai), os quais evoluíram com a progressão dos dias, ficando mais intensos a partir de seis dias após a inoculação (Figura 5,6).

Nos frutos inoculados com *Bipolaris cactivora* inicialmente surgiram lesões enegrecidas irregulares, no ponto de inoculação, expandindo-se e eventualmente coalescendo, nos locais inoculados. Após seis a dez dias de inoculação, o fungo cresceu e cobriu as lesões, apresentando uma podridão negra. O patógeno apresentou como sinais micélio preto de conidióforos e conídios, sendo possível observar a esporulação a olho nu. As médias das lesões foram de 7,0 cm de largura e 8,6 cm de comprimento.

Os frutos inoculados com *Alternaria alternata* apresentaram como sintomas lesões amarronzadas, desuniformes, com manchas longitudinais enegrecidas,

Apresentando sinais de esporulação cinza erverdeada aos 10 dai. Suas medições de largura e comprimento das lesões variaram entre 2,3 e 2,2 cm, respectivamente.

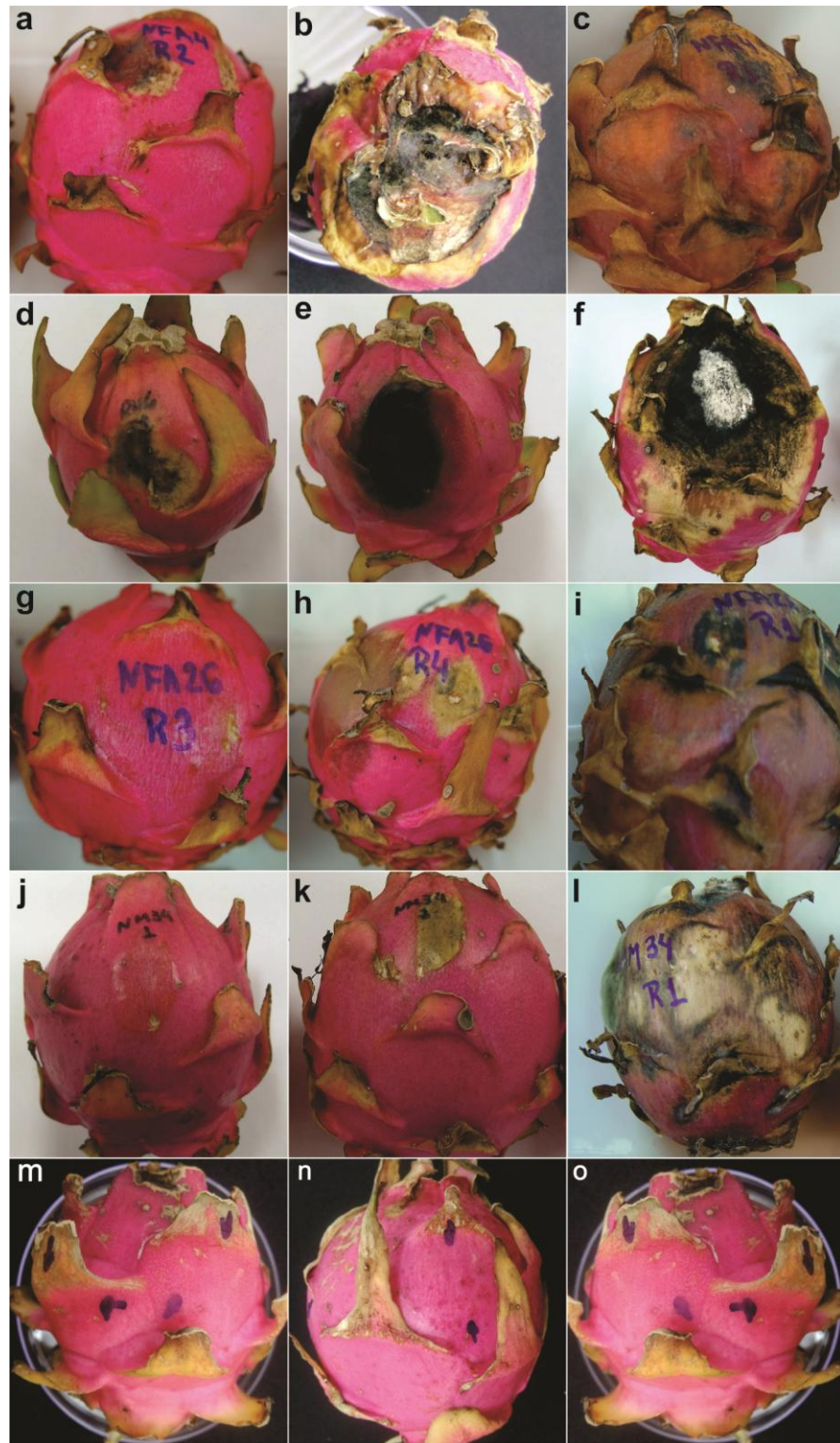
*Colletotrichum siamense* quando inoculado aos frutos, apresentou nos primeiros dias uma leve depressão aquosa. Com seis dias, foi possível observar uma lesão maior evoluindo para podridão mole. O patógeno apresentou como sinal esporulação do patógeno, sintoma típico de antracnose, podendo ser vista a olho nu. As médias das lesões foram de 2,03 cm de largura e 2,8 cm de comprimento.

*Fusarium proliferatum* apresentou sintomas iniciais quatro dias após a inoculação. As lesões foram de formato circular, com coloração amarela amarronzada, progredindo para marrom escuro e conseqüente podridão aquosa. Tendo como largura e comprimento médio de lesão variando de 2,05 × 2,55 cm respectivamente, com dez dai.

*Fusarium sterilihyphosum* foi sintomático a partir de quatro dias após a inoculação apresentando uma leve lesão seca. Aos seis dias essa lesão aumentou tornado-se uma podridão aquosa. Ao final dos 10 dias de avaliação, foi possível notar micélio espiralado presente no fruto. As médias das lesões foram 2,3 × 1,9 cm.

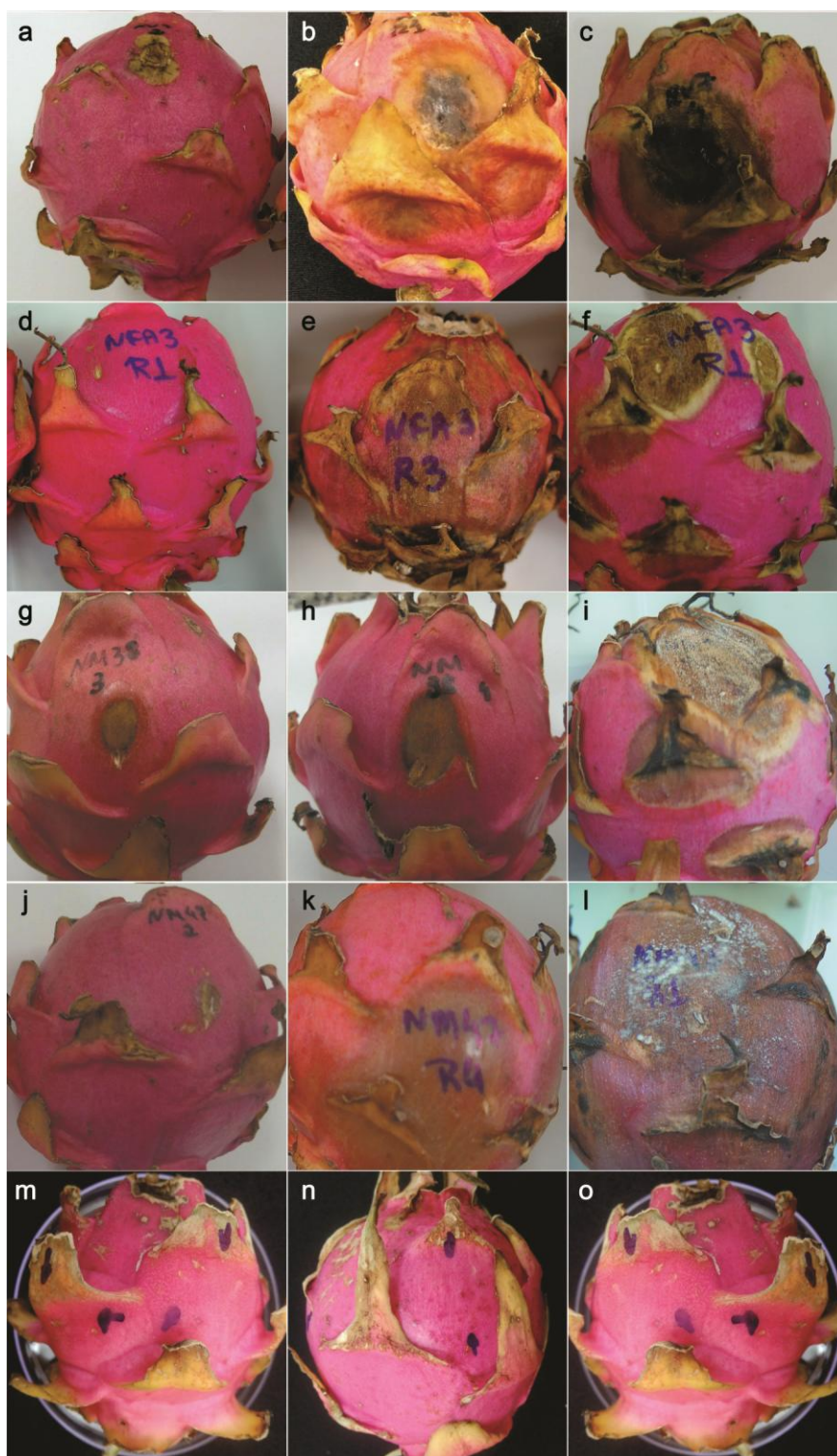
Frutos inoculados com o fungo *Fusarium oxysporum* apresentaram inicialmente uma leve depressão aquosa quatro dias após a inoculação. As lesões foram em formato circular, dura, com coloração amarela amarronzada. Aos 10 dias após a inoculação foi observada podridão seca e presença de esporodóquio na lesão. As médias de largura e comprimento das lesões foram de 2,05 × 3,05 cm, respectivamente.

As testemunhas não apresentaram sintomas. No reisolamento, além das espécies inoculadas, foi observada a presença de isolados do gênero *Colletotrichum* em todos os tratamentos.



**Figura 5.** Sintomas em frutos de pitaia observados no teste de patogenicidade. A-C Frutos inoculados com o isolado CML 4000 de *B. cativora*; A- 4 dias após a inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 10 dias após a inoculação. D-F Frutos inoculados com NM59 de *B. cativora*; D- 4 dias após a inoculação, E- 6 dias após a inoculação, F-10 dias após a inoculação. G-I Frutos inoculados com o isolado CML 4062 de *A. alternata*. G- 4 dias após a inoculação, H- 6 dias após a inoculação, I- 10 dias após a inoculação. J-L Frutos inoculados com o isolado NM34 de *A. alternata*; J- 4 dias após a inoculação, K- 6 dias após a inoculação, L-10 dias após a inoculação. M-O Testemunha; M- 4 dias de inoculação, N- 6 dias após a inoculação, O-10 dias após a inoculação.





**Figura 6.** Sintomas em frutos de pitaya observados no teste de patogenicidade. A-C Frutos inoculados com o isolado RV7 de *C. siamense*; A- 4 dias após a inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 10 dias após a inoculação. D-F R Frutos inoculados com o isolado CML 4058 de *F. proliferatum*; D- 4 dias após a inoculação, E- 6 dias após a inoculação, F-10 dias após a inoculação. G-I Frutos inoculados com o isolado NM38 de *F. oxysporum*. G- 4 dias após a inoculação, H- 6 dias após a inoculação, I- 10 dias após a inoculação. J-L Frutos inoculados com o isolado NM47 de *F. sterilihyphosum*; J- 4 dias após a inoculação, K- 6 dias após a inoculação, L-10 dias após a inoculação. M-O Testemunha; M- 4 dias de inoculação, N- 6 dias após a inoculação, O-10 dias após a inoculação.

### 3.5 Teste de patogenicidade em cladódios

Com exceção do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, todos os fungos inoculados foram patogênicos. Os sintomas foram iniciados 4 dias após a inoculação, os quais evoluíram com a progressão dos dias, ficando mais intensos a partir de seis dias após a inoculação (Figura 7, 8).

Os primeiros sintomas dos isolados de *Bipolaris cactivora* foram pequenas pontuações de coloração marrom e halo avermelhado, progredindo para lesões com pontuações negras, medindo 3,5 cm de comprimento e 2,0 cm de largura, com esporulação visível 15 dias após a inoculação.

Os isolados de *Alternaria alternata* apresentaram sintomas iniciais com lesões de coloração marrom, com região central mais escura e halo avermelhado, algumas já com exsudação. Com a progressão da doença as lesões tornaram-se negras, apresentando como sinais a esporulação e micélio aéreo do patógeno, medindo 2,5 cm de comprimento e 1,5 cm de largura.

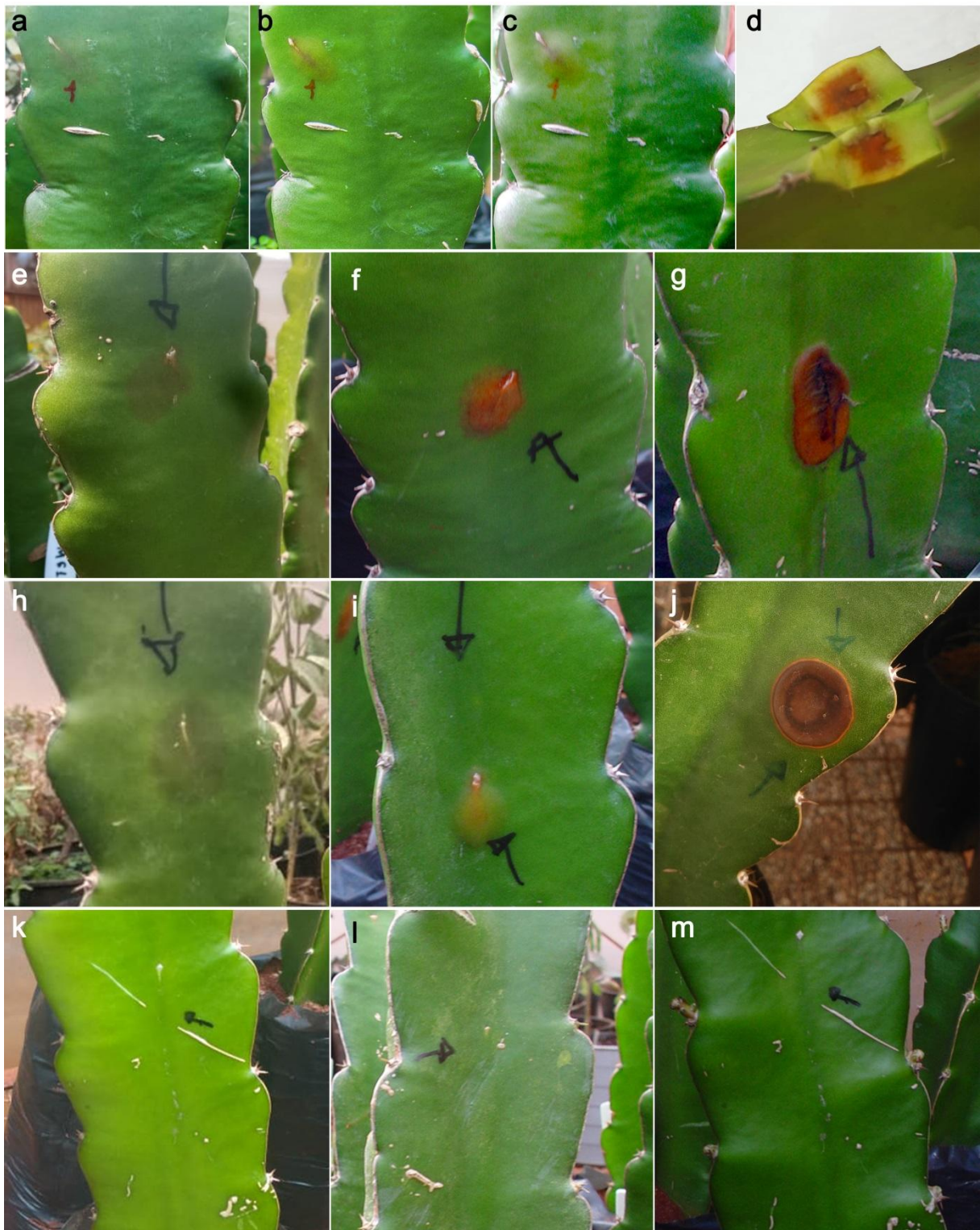
Cladódios inoculados com *Colletotrichum siamense* apresentaram uma elevação do tecido, com coloração amarelada. Aos 15 dias após a inoculação, foi feito o corte do cladódio e observou-se uma podridão interna, de coloração marrom-avermelhada.

Cladódios inoculados com *F. proliferatum* e *F. sterilihyphosum* apresentaram os mesmos sintomas, podridão mole com lesões circulares de coloração marrom. Apenas ao apresentar os sinais foi possível distinguir de qual espécie se tratava. *F. proliferatum* com presença de esporodóquios laranja e *F. sterilihyphosum* expressou micélio branco na superfície, com medições médias de 4,0 e 2,5 cm de comprimento e largura, respectivamente.

As testemunhas não apresentaram sintomas. O postulado de Koch foi cumprido para todos os isolados.



**Figura 7.** Sintomas em cladódios de pitiaia observados no teste de patogenicidade. A-C Cladódios inoculados com o isolado CML 4000 de *B. cativora*; A- Dia da inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 15 dias após a inoculação. D-F Cladódios inoculados com NM59 de *B. cativora*; D- Dia a inoculação, E- 6 dias após a inoculação, F-15 dias após a inoculação. G-I Cladódios inoculados com o isolado CML 4062 de *A. alternata*. G- Dia da inoculação, H- 6 dias após a inoculação, I- 15 dias após a inoculação. J-L Cladódios inoculados com o isolado NM34 de *A. alternata*; J- Dia da inoculação, K- 6 dias após a inoculação, L-15 dias após a inoculação. M-O Testemunha; M- Dia da inoculação, N- 6 dias após a inoculação, O-10 dias após a inoculação.



**Figura 8.** Sintomas em cladódios de pitaya observados no teste de patogenicidade. A-D Cladódios inoculados com o isolado RV7 de *C. siamense*; A- Dia da inoculação, B- 6 dias após a inoculação, C- 15 dias após a inoculação, D- Corte transversal. E-G Cladódios inoculados com NM47 de *F. sterilihyphosum*; E- Dia da inoculação, F- 6 dias após a inoculação, G-15 dias após a inoculação. H-J Cladódios inoculados com o isolado CML 4058 de *F. proliferatum*. H- Dia da inoculação, I- 6 dias após a inoculação, J- 15 dias após a inoculação. K-M Testemunha; K- Dia da inoculação, L- 6 dias após a inoculação, M-15 dias após a inoculação.

## 4 DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo completo com informações sobre sintomatologia, patogenicidade e identificação dos principais patógenos que causam doenças nos cladódios e frutos de pitáia no Brasil. Há pelo menos seis espécies em quatro gêneros associados à podridão de frutos e cladódios no país. As espécies relatadas aqui são comumente encontradas associadas com pitáia em diversos países.

Com o aumento da demanda por frutos de pitáia, devido aos seus benefícios para a saúde e a lucratividade ao produtor, tornou-se viável a busca por um conhecimento mais aprofundado a respeito dos fitopatógenos que causam doenças a cultura visto que, conhecendo o patógeno e o sintoma que ele causa facilita o entendimento pelo produtor e auxilia o fitopatologista a criar estratégias de manejo. Como frutas são exportadas e importadas, o monitoramento de doenças é vital para garantir a biossegurança da planta. A incidência de fitopatógenos, atualmente, tem aumentando em todo o mundo, e nos últimos cinco anos têm sido esse o principal motivo por tal acontecimento (Balendres et al. 2019).

A podridão dos frutos em pitáia causada por *Bipolaris cactivora* já foi relatada nos Estados Unidos, Israel, Tailândia, Japão e Vietnã (Tarnowski et al. 2010; Ben-Ze'ev et al. 2011; Oeurn et al. 2016; Taba et al. 2007; He et al. 2012). O patógeno *Alternaria alternata*, agente causal da mancha negra, afeta várias plantas da família Cactaceae. Antracnose causada por *Colletotrichum siamense* já foi reportada em países como Índia, Tailândia e China (Abirami et al. 2019; Meetum et al. 2015; Zhao et al. 2018). Na Malásia foi relatado *Fusarium proliferatum* (Marastul Hawa et al. 2013) em cladódio. *Fusarium oxysporum* foi identificado como agente causal da podridão basal dos frutos na Colômbia, Argentina, Coreia e Malásia (Salazar-González et al. 2016; Wright et al. 2007; Choi et al. 2007; Mohd Hafifi et al. 2019).

A primeira fonte de inóculo dos patógenos fúngicos que causam doenças na pós-colheita dos frutos em pitáia são as flores (Oeurn et al. 2015). *Bipolaris cactivora* é um sério patógeno na pós-colheita da pitáia, pois provoca degradação do fruto de 4 a 7 dai, dificultado seu consumo e provocando perdas econômicas significativas (Oeurn et al. 2016). Em estudo feito por Oeurn et al. (2016) relatou-se a capacidade de *B. cactivora* causar apodrecimento em frutos de pitáia na pós colheita, uma vez

que esse patógeno pode residir em diferentes partes das plantas antes do desenvolvimento dos frutos, como nos cladódios e flores.

Em frutas de pitaia contaminadas por *Alternaria alternata* ocorre deterioração na epiderme e polpa, podendo ter sintomas visíveis ou não (Patel et al. 2017). A ausência do sintoma visível faz com que os consumidores consumam a polpa infectada, gerando grande preocupação para a saúde humana, pois o patógeno pode produzir micotoxinas, como fumonisinas (FAO 2017).

Espécies de *Colletotrichum* são patógenos hemibiotróficos, colonizando o tecido de dentro para fora e quando encontram condições favoráveis, colonizam o exterior do tecido (Munch et al. 2015).

Duas espécies pertencentes ao complexo *Fusarium fujikuroi* foram relatadas nesse trabalho. O patógeno *F. proliferatum* foi identificado na Malásia como sendo o agente causal da doença denominada podridão do caule em pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) (Masratul Hawa et al. 2013), sendo nesse estudo o primeiro relato como patógeno de pitaia vermelha de polpa branca. Durante os dias de avaliação, os sintomas de podridão foram bem característicos e também apresentaram esporulação do patógeno sobre a epiderme dos frutos e cladódios. *Fusarium sterilihyphosum*, agente causal da má formação da mangueira no Brasil (Lima et al. 2009), nesse trabalho foi patogênico em frutos de pitaia, apresentando podridão. Este é o primeiro relato desse patógeno associado à pitaia no mundo.

A podridão basal do fruto em pitaia amarela (*Selenocereus megalanthus*) é causada por *Fusarium oxysporum*, observando-se podridão marrom macia ou seca na base do fruto (Salazar-González et al. 2016). Em nosso estudo, o patógeno foi caracterizado causando podridão do fruto de pitaia vermelha de polpa branca (*H. undatus*), com os mesmos sintomas, sendo também o primeiro relato no Brasil.

Todas as espécies estudadas foram patogênicas a frutos e ou cladódios de pitaia. Entre os frutos foi possível observar a diferença entre os sintomas, visto que cada patógeno reproduziu um sintoma distinto do outro nos frutos. A principal diferença entre os sintomas em frutos é que com o passar dos dias, pode-se notar a esporulação de cada patógeno e progresso da doença, com suas estruturas, nos frutos. Este é o primeiro relato de *F. sterilihyphosum* como patógeno em frutos de pitaia no mundo.

A diferenciação dos sintomas causados em cladódios pelas diferentes espécies é mais difícil, uma vez que no início os sintomas são parecidos, mas com a evolução as diferenças começam a aparecer, principalmente com a presença de sinais do patógeno.

Cladódios com sintoma de podridão por *B. cactivora* e *A. alternata* apresentam inicialmente uma lesão marrom com halo avermelhado, com o passar dos dias, essa lesão pode ficar aquosa e enegrecida, diferenciando-se pela presença de esporos de cada patógeno.

Cladódios inoculados com *C. siamense* apresentaram uma elevação na epiderme, com lesão clorótica (amarelada), ao fazer um corte no tecido, pode-se observar que o patógeno estava colonizando o tecido intra epiderme, com coloração laranja-avermelhada. No teste realizado por Abirami et al. 2019, os sintomas típicos da antracnose foram observados em plantas inoculadas 15 dai. Os patógenos *F. proliferatum* e *F. sterilihyphosum*, quando inoculados, causaram o mesmo sintoma, podendo ser diferenciado só por caracterização morfológica e confirmado através de análise de filogenia molecular. Os sintomas da podridão do cladódio e frutos observados nos testes de patogenicidade foram semelhantes aos encontrados por Masratul Hawa et al. 2013 para *F. proliferatum*.

Encontramos em nosso trabalho diversas espécies de fungos associadas aos principais fitopatógenos da pitáia no Brasil, que ocorreram com menor frequência e não foram isolados de forma solitária, e sim de forma associada. Existem diversas espécies relatadas com frequência no mundo em associação a podridão de frutos e cladódios de pitáia, como *Fusarium solani* na Indonésia (Rita et al. 2016), *Fusarium semitectum* na Malásia (Masratul Hawa et al. 2010), *Nigrospora sphaerica* na China (Liu et al. 2016), entre outros. No presente trabalho, essas espécies foram encontradas somente de forma associada.

Na literatura, há relatos de outros patógenos que causam doenças em pitáia, porém esses não foram encontrados nas condições brasileiras, como o fungo *Botryosphaeria dothidea*, agente causal da podridão de cladódio no México (Valencia-Botín et al. 2003), *Neoscytalidium dimidiatum*, causando cancro do caule na Malásia (Masratul Hawa et al. 2013) e *Colletotrichum truncatum* como patógeno da antracnose em frutos na China (Guo et al. 2014). No Brasil recentemente foi relatado, *Colletotrichum karstii* como patógeno de pitáia no estado do Rio Grande do

Sul baseado em apenas um isolado obtido de fruto/cladódio com sintoma de antracnose(Nascimento et al. 2019).

É importante relatar que a introdução e o cultivo comercial de *Hylocereus undatus* no Brasil é recente. Sabe-se que a espécie é susceptível ao ataque de vários patógenos economicamente importantes (Ortiz-Hernández e Carrillo-Salazar 2012; Castro et al. 2017), porém, até o momento, não havia informações concretas sobre a diversidade de espécies de fungos associadas ao cultivo dessa pitaia no Brasil.

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.

## 5 CONCLUSÃO

As espécies *Bipolaris cactivora*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum siamense*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium sterilihyphosum*, *Fusarium oxysporum* foram patogênicas a frutos e cladódios (com exceção, *Fusarium oxysporum*) de pitaia. Relatamos pela primeira vez *F. sterilihyphosum* como patógeno de frutos e cladódios de pitaia no mundo. Este é o primeiro relato de *F. oxysporum* f.sp. *passiflorae* e *F. proliferatum* como agente causal da podridão dos frutos de pitaya vermelha com polpa branca. Um estudo epidemiológico deve ser realizado para definir medidas preventivas e de controle eficazes para a interrupção da propagação do patógeno nos pomares. Protocolo de certificação de mudas pode ser criado afim de subsidiar a obtenção de plantas com potencial produtivo maior, além de contribuir para evitar a disseminação de patógenos por meio de material de propagação.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio do CNPq no desenvolvimento deste trabalho, e pela concessão de bolsa de pesquisa. A Edson Luis Rezende pela assistência técnica hábil. Agradecemos também a Thamires Y. O. Sousa pela ajuda na condução dos experimentos e a todos os produtores pelo envio de material para a execução do trabalho.



## REFERÊNCIAS

- Abirami K, Sakthivel K, Sheoran N, Baskaran V, Gautam RK, Jerard BA, Kumar A (2019) Occurrence of anthracnose disease caused by *Colletotrichum siamense* on dragon fruit (*Hylocereus undatus*) in Andaman Islands, India. *Plant Disease* 103: 768.
- Arul V, Edilson TNJI, Lee YR, Sethuraman MG (2017) Biological and catalytic applications of green synthesized fluorescent N-doped carbon dots using *Hylocereus undatus*. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 168: 142-148.
- Balendres MA, Bengoa, JC (2019). Diseases of dragon fruit (*Hylocereus* species): Etiology and current management options. *Crop Protection*, 126, 104920.
- Ben-Ze'ev IS, Assouline I, Levy E, Elkind G (2011) First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. *Phytoparasitica* 39: 195-197.
- Cai L, Hyde KD, Taylor PWJ, Weir B, Waller J, Abang M M. ... & Prihastuti, H. (2009). A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity*, 39(1), 183-204.
- Castro JC, Endo EH, Souza MR, Zanqueta EB, Polonio JC, Pamphile JA, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV, Dias Filho BP, Abreu Filho BA (2017) Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). *Industrial Crops and Products* 97: 101-109.
- Choi HW, Chung IM, Sin MH, Kim YS, Sim JB, Kim JW, Kim KD, Chun SC (2007) The effect of spent mushroom sawdust compost mixes, calcium cyanamide and solarization on basal stem rot of the cactus *Hylocereus trigonus* caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protect.* 26, 162–168.
- Choi M-O, Kim SG, Hyun I-K, Kim JH, Cho C-H, Park MS, Kim YH (2010) First Report of Black Spot Caused by *Alternaria alternata* on Grafted Cactus. *Plant Pathology Journal* 26: 80-82.
- Da Cunha KC, Sutton DA, Fothergill AW, Cano J, Gené J, Madrid H, De Hoog S, Crous PW, Guarro J (2012) Diversity of *Bipolaris* species in clinical samples in the United States and their antifungal susceptibility profiles. *J Clin Microbiol.* 50: 4061-4066.
- Damm U, Cannon PF, Woudenberg JHC, Crous PW (2012) The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* 73:37–113.
- Fan C, Cao X, Liu M, Wang W (2016) Determination of *Alternaria* mycotoxins in wine and juice using ionic liquid modified countercurrent chromatography as a pretreatment method followed by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1436: 13-140.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. Disponível em: <[www.fao.org/food/food-safety-quality](http://www.fao.org/food/food-safety-quality)>. Acesso em: 22 jun. 2018.

Garibaldi A, Bertetti D, Pensa P, Poli A, Gullino ML (2014) First Report of Stem Rot on *Cereus peruvianus monstrosus* Caused by *Bipolaris cactivora* (Petr.) Alcorn in Italy. *Plant Disease* 98:159.

Guo LW, Wu YX, Ho HH, Su YY, Mao ZC, He PF, He YQ (2014). First report of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) anthracnose caused by *Colletotrichum truncatum* in China. *Journal of Phytopathology*, 162(4), 272-275.

He PF, Ho H, Wu XX, Hou MS, He YQ (2012) *Bipolaris cactivora* causing fruit rot of dragon fruit imported from Vietnam. *Plant pathology & quarantine* 2: 31-35.

Hepperle D (2004) SeqAssem<sup>®</sup>: A sequence analysis tool containing assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Win32-Version. Distributed by the author via <http://www.sequentix.de> Leslie JF, Summerell BA (2006) The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing, Ames, USA.

Lima CS, Pfenning LH, Costa SS, Campos MA, Leslie JF (2009). A new *Fusarium* lineage within the *Gibberella fujikuroi* species complex is the main causal agent of mango malformation disease in Brazil. *Plant Pathology*, 58(1), 33-42.

Lima NB, Batista MVA, Morais Jr MA, Barbosa MAG, Michereff SJ, Hyde KD, Câmara MPS (2013) Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. *Fungal Diversity* 61:75-88.

Lin SH, Huang CH, Deng ZY, Yan MX, Huang WH, Wei JJ, Qin ZQ (2012) First report of leaf spot disease on sugarcane caused by *Bipolaris spicifera* in China. *Australasian Plant Dis. Notes* 7: 51–53.

Liu F, Cai L, Crous PW, Damm U (2013) Circumscription of the anthracnose pathogens *Colletotrichum lindemuthianum* and *C. nigrum*. *Mycologia* 105: 844-860.

Liu F, Wu JB, Zhan RL, Ou XC (2016) First report of Reddish-brown spot disease on *Pitaya* caused by *Nigrospora sphaerica* in China. *Plant Disease*, 100(8), 1792.

Manamgoda DS, Cai L, McKenzie EHC, et al. (2012) A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris* – *Cochliobolus* – *Curvularia* complex. *Fungal Diversity* 56: 131–144.

Manamgoda D., Rossman AY, Castlebury LA, Crous PW, Madrid H, Chukeatirote E, & Hyde K D (2014). The genus *bipolaris*. *Studies in mycology*, 79, 221-288.

Masratul Hawa M, Salleh B., Latiffah, Z. (2010). 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*, 9(3).

Masratul Hawa M, Salleh B, Latiffah Z (2013a) Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* causing stem rot of *Hylocereus polyrhizus* in Malaysia. *Annals of Applied Biology* 163: 269-280.

Meetum P, Leksomboon C, Kanjanamaneesathian M, (2015) First report of *Colletotrichum aenigma* and *C. siamense*, the causal agents of anthracnose disease of dragon fruit in Thailand. *J. Plant Pathol.* 97, 402-402.

Mohd Hafifi AB, Kee YJ, Mohd MH (2019) First report of *Fusarium oxysporum* as a causal agent of stem blight of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. *Plant Disease*, 103(5), 1040-1040.

Murray MG & Thompson W F (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids research*, 8(19), 4321-4326.

Nascimento MB, Bellé C, Azambuja RM, Maich SL P, Neves CG, Souza-Junior IT, ... Barros DR (2019). First Report of *Colletotrichum karstii* Causing Anthracnose Spot on Pitaya (*Hylocereus undatus*) in Brazil. *Plant Disease*, 103(8), 2137.

Oeurn S, Jitjak W, Sanoamuang N (2015). Fungi on dragon fruit in Loei Province, Thailand and the ability of *Bipolaris cactivora* to cause post-harvest fruit rot. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 20(4), 405-418.

Oeurn S, Jitjak W, Sanoamuang N (2016) Molecular Identification of *Bipolaris cactivora* on Dragon Fruit in Thailand. *Khon Kaen Agr. J.* 44: 351-362.

Ortiz-Hernández YD, Carrillo-Salazar JA (2012) Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. *Comunicata Scientiae* 3: 220-237.

Patel JS, Zhang S (2017) First report of *Alternaria* blight of pitahaya *Hylocereus undatus* caused by *Alternaria* sp. in South Florida of the United States. *Plant Disease* 101: 1046.

Rita WS, Suprpta DN, Sudana IM & Swantara IMD (2016). Antifungal Activity of Rain Tree (*Samanea saman* Jacq.) Leaf Extract Against *Fusarium solani*, The Cause of Stem Rot Disease on Dragon Fruit (*Hylocereus* sp.). *CoSCI Proceeding*

Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 61: 539–542.

Salazar-González C, Serna-Cock L, Gómez-López E (2016) Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en Pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). *Agronomía Mesoamericana* 27: 277-285.

Taba S, Miyahira N, Nasu K, Takushi T, Moromizato Z (2007) Fruit rot of strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. *J Gen PlantPathol.* 73: 374-376.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A & Kumar S (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30(12), 2725-2729.

Tan YP, Crous PW, Shivas RG (2016) Eight novel *Bipolaris* species identified from John L. Alcorn's collections at the Queensland Plant Pathology Herbarium (BRIP). *Mycol Progress* 15:1203–1214.

Tarnowski TLB, Palmateer AJ, Crane JH (2010) First report of fruit rot on *Hylocereus undatus* caused by *Bipolaris cactivora* in south Florida. *Plant Disease* 94: 1506-1506  
Valencia-Botín AJ.; Sandoval-Islas JS, Cárdenas-Soriano E., Michailides TJ, Rendón-Sánchez G (2003b) *Botryosphaeria dothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. *Plant Pathology* 52: 803.

Vijaya SI, Mohd Anuar IS, Zakaria L (2014) Characterization and Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum* Causing Stem Anthracnose of Red-Fleshed Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. *Journal of Phytopathology*, 163: 67–71.

Weir BS, Johnston PR, Damm U (2012) The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73:115-180.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc Guide Methods Appl.* 18: 315-22.

Wright ER, Rivera MC, Ghirlanda A, Lori GA (2007) Basal rot of *Hylocereus undatus* caused by *Fusarium oxysporum* in Buenos Aires, Argentina. *Plant Disease*, 91(3), 323-323.

Woudenberg JHC, Groenewald JZ, Binder M, Crous PW (2013) *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology* 75: 171–212.

Woudenberg JHC, Truter M, Groenewald JZ, Crous PW (2014) Large-spored *Alternaria* pathogens in section Porri disentangled. *Studies in Mycology* 79: 1–47.

Woudenberg JHC, Seidl MF, Groenewald JZ, Vries M, J.B. Stielow JB, Thomma BPHJ, Crous PW (2015) *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes?. *Studies in Mycology* 82: 1–21.

Yang YL, Cai L, Yu ZN, Liu ZY, Hyde KD (2011) *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. *Cryptogam., Mycol.* 32: 229-253.

Zhao H, Chen S, Chen Y, Zou C, Wang X, Wang Z, Liu A., Ahammed G (2018) First Report of Red Dragon Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) Anthracnose Caused by *Colletotrichum Siamense* in China.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela 1S.** Isolados de *Bipolaris* de referência e os utilizados no estudo

Isolado no. <sup>1</sup>	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. ITS	Referência
DB13GEN09	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Italy	KF041822	Garibaldi et al. (2014)
Strain 737	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	HM598679	Tarnowski et al. (2010)
Strain 738	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	HM598678	Tarnowski et al. (2010)
Strain 739	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	HM598677	Tarnowski et al. (2010)
Isolate 1.6	<i>B. cactivora</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Thailand	KT287110	Oeurn et al. (2016)
CBS 127235	<i>B. micropus</i>	Human clinical samples	USA	HE792934	da Cunha et al. (2012)
Strain L1	<i>B. spicifera</i>	<i>Saccharum officinarum</i>	China	JN695634	Lin et al. (2012)
CBS 327.64	<i>B. victoriae</i>	<i>Avena sativa</i>	USA	KJ909778	Manamgoda et al. (2014)
ICMP 6227	<i>B. sacchari</i>	<i>Oplismenus imbecillis</i>	New Zealand	KJ922386	Manamgoda et al. (2014)
MFLUCC 100715	<i>B. oryzae</i>	<i>Oryza sativa</i>	Thailand	JX256416	Manamgoda et al. (2012)
BRIP 14845	<i>B. coffeana</i>	<i>Coffea arábica</i>	Kenya	KJ415525	Tan et al. (2016)
CBS 136.29	<i>B. maydis</i>	<i>Zea mays</i>	Japan	KJ909769	Manamgoda et al. (2014)
CBS 690.96	<i>B. bicolor</i>	Unknown	Cuba	KJ909762	Manamgoda et al. (2014)
CBS 241.92	<i>B. heveae</i>	<i>Hevea</i> sp.	Nigeria	KJ909763	Manamgoda et al. (2014)

**Tabela 1S.** continua

Isolado no.	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. ITS	Referência
CBS 480.74	<i>B. sorokiniana</i>	<i>Tribulus terrestris</i>	South Africa	KJ909771	Manamgoda et al. (2014)
BRIP 11512	<i>B. zeae</i>	<i>Zea mays</i>	Australia	KJ415538	Tan et al. (2016)
BRIP 14840	<i>B. gossypina</i>	<i>Gossypium</i> sp.	Kenya	KJ415528	Tan et al. (2016)
BRIP 16571	<i>B. salviniae</i>	<i>Salvinia auriculata</i>	Brazil	KJ415535	Tan et al. (2016)
CBS 916.96	<i>A. alternata</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	India	AF071346	Tan et al. (2016)

Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Holanda; BRIP - Queensland Plant Pathology Herbarium, Brisbane, Queensland, Austrália; ICMP - International Collection of Microorganisms from Plants, Auckland, Nov Zelândia; MFLUCC - Mae Fah Luang University Culture Collection, Chiang Rai, Tailândia; DB13GEN09 - Center of Competence Agroinnova, University of Torino, Itália; T – isolado tipo.

**Tabela 2S.** Isolados de *Alternaria* de referência e os utilizados no estudo.

Isolado no.	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. <i>GAPDH</i>	Referência
CBS 916.96 <sup>T</sup>	<i>A. alternata</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	India	????	Woudenberg et al. (2015)
CBS 121348	<i>A. alternata</i>	<i>Platycodon grandiflorus</i>	China	KP124219	Woudenberg et al. (2015)
CBS 113024	<i>A. alternata</i>	<i>Minneola tangelo</i>	South Africa	KP124198	Woudenberg et al. (2015)
CBS 639.97	<i>A. alternata</i>	<i>Helianthus annuus</i>	Greece	KP124182	Woudenberg et al. (2015)
CBS 107.36	<i>A. gossypina</i>	Soil	Indonesia	JQ646310	Woudenberg et al. (2015)
CBS 104.32 <sup>T</sup>	<i>A. gossypina</i>	<i>Gossypium</i> sp.	Zimbabwe	JQ646312	Woudenberg et al. (2015)
Pit Alt 1	<i>A. tomato</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	USA	KY073861	Patel e Zhang (2017)
CBS 114.35	<i>A. tomato</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Unknown	KP124295	Woudenberg et al. (2015)
CBS 118696 <sup>T</sup>	<i>A. mimicula</i>	<i>Lycopersicum esculentum</i>	USA	AY562415	Woudenberg et al. (2013)
CBS 121339	<i>A. eryngii</i>	<i>Eryngium</i> sp.	Unknown	AY562416	Woudenberg et al. (2013)
CBS 482.81	<i>A. panax</i>	<i>Aralia racemosa</i>	USA	KC584128	Woudenberg et al. (2013)
CBS 101229	<i>A. obovoidea</i>	<i>Cucumis sativus</i>	New Zealand	FJ266498	Woudenberg et al. (2013)
CBS 483.81	<i>A. cucurbitae</i>	<i>Cucumis sativus</i>	New Zealand	AY562418	Woudenberg et al. (2013)
CBS 119411 <sup>T</sup>	<i>A. pseudorostrata</i>	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	USA	AY562406	Woudenberg et al. (2013)
CBS 103.32 <sup>T</sup>	<i>A. citrullicola</i>	<i>Citrullus vulgaris</i>	Cyprus	KJ717994	Woudenberg et al. (2014)
CBS 116114 <sup>T</sup>	<i>A. cucumerina</i>	<i>Luffa acutangula</i>	USA	KJ718000	Woudenberg et al. (2014)

**Tabela 2S.** continua

Isolado no.	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. <i>GAPDH</i>	Referência
CBS 210.86 <sup>T</sup>	<i>A. infectoria</i>	<i>Triticum aestivum</i>	UK	AY278793	Woudenberg et al. (2013)
CBS 196.86 <sup>T</sup>	<i>A. conjuncta</i>	<i>Pastinaca sativa</i>	Switzerland	AY562401	Woudenberg et al. (2013)
CBS 542.94 <sup>T</sup>	<i>A. oregonensis</i>	<i>Triticum aestivum</i>	USA	FJ266491	Woudenberg et al. (2013)
CBS 302.84	<i>Cicatricea salina</i>	<i>Cancer pagurus</i>	North Sea, Skagerrak	JN383467	Woudenberg et al. (2013)

Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht , Holanda. T – isolado tipo.



**Tabela 3S.** Isolados de *Colletotrichum* de referência e os utilizados no estudo.

Isolado no.	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. <i>GAPDH</i>	Referência
DFAN1	<i>C. siamense</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	India	MG561764	Abirami et al. (2019)
CMM 3814	<i>C. siamense</i>	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KC702955	Vieira et al. (2013)
ICMP 18578 <sup>HT</sup>	<i>C. siamense</i>	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	JX009924	Weir et al. (2012)
CMM 4083 <sup>T</sup>	<i>C. dianesei</i>	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KC517194	Lima et al. (2013)
ICMP 17821 <sup>ET</sup>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Citrus sinensis</i>	Italy	JX010056	Weir et al. (2012)
ICMP 17895	<i>C. theobromicola</i>	<i>Annona diversifolia</i>	Mexico	JX010057	Weir et al. (2012)
CBS 129818 <sup>HT</sup>	<i>C. colombiense</i>	<i>Passiflora edulis</i>	Colombia	JQ005261	Damm et al. (2012)
CBS 123755 <sup>T</sup>	<i>C. boninense</i>	<i>Crinum asiaticum</i>	Japan	JQ005240	Damm et al. (2012)
CBS 128501 <sup>HT</sup>	<i>C. brasiliense</i>	<i>Passiflora edulis</i>	Brazil	JQ005322	Damm et al. (2012)
CBS 132134 <sup>HT</sup>	<i>C. karstii</i>	<i>Vanda</i> sp.	China	HM585391	Yang et al. (2011)
MH817040	<i>C. karstii</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil	MH817040	Nascimento et al. (2019)
C23	<i>C. truncatum</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	KF031458	Vijaya et al. (2014)
CBS 151.35 <sup>ET</sup>	<i>C. truncatum</i>	<i>Phaseolus lunatus</i>	USA	GU228254	Damm et al. (2012)
CBS 144.31	<i>C. lindemuthianum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Germany	JX546712	Liu et al. (2013)

Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Holanda; ICMP - International Collection of Microorganisms from Plants, Auckland, Nova Zelândia; CMM - Culture Collection of Phytopathogenic Fung “Prof. Maria Menezes”, Recife, Brasil; T – isolado tipo; HT – holótipo; ET- epítipo.

**Tabela 4S.** Isolados de *Fusarium* de referência e os utilizados no estudo.

Isolado no.	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. <i>TEF</i>	Referência
NRRL 22944	<i>F. proliferatum</i>	<i>Cattleya</i> sp.	Germany	AF160280	O'Donnell (1999)
S4029	<i>F. proliferatum</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	JX868949	Masratul Hawa et al. (2013)
S4722	<i>F. proliferatum</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	JX868962	Masratul Hawa et al. (2013)
K9191	<i>F. fujikuroi</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	KJ655981	Masratul Hawa et al. (2017)
NRRL 13566	<i>F. fujikuroi</i>	<i>Oryza sativa</i>	Taiwan	AF160279	O'Donnell (1999)
S9167	<i>F. fujikuroi</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	KJ655998	Masratul Hawa et al. (2017)
NRRL 25226	<i>F. mangiferae</i>	<i>Mangifera indica</i>	India	AF160281	O'Donnell (1999)
NRRL 13999	<i>F. sacchari</i>	<i>Saccharum officinarum</i>	India	AF160278	O'Donnell (1999)
NRRL 13308	<i>F. acutatum</i>	Unknown	India	AF160276	O'Donnell (1999)
BBA 65058 <sup>ET</sup>	<i>F. udum</i>	<i>Cajanus cajan</i>	India	KY498862	Pfenning et al. (2018)
NRRL 13617 <sup>T</sup>	<i>F. phyllophilum</i>	<i>Sorghum bicolor</i>	Australia	KF466421	Proctor et al. (2013)
NRRL 25486 <sup>T</sup>	<i>F. xylarioides</i>	<i>Coffea robusta</i>	Uganda	AY707136	Geiser et al. (2015)
NRRL 22045	<i>F. thapsinum</i>	<i>Sorghum bicolor</i>	South Africa	AF160270	O'Donnell (1999)
NRRL 13488 <sup>T</sup>	<i>F. nygamai</i>	<i>Sorghum bicolor</i>	Australia	AF160273	O'Donnell (1999)
FGSC 7603	<i>F. verticillioides</i>	<i>Zea mays</i>	USA	FN552078	Van Hove et al. (2011)
NRRL 25059 <sup>T</sup>	<i>F. musae</i>	<i>Musa</i> sp.	Honduras	FN552086	Van Hove et al. (2011)

**Tabela 4S.** continua

Isolado no.	Espécie	Hospedeiro	País	GenBank acesso no. <i>TEF</i>	Referência
CBS 118516 <sup>1</sup>	<i>F. ananatum</i>	<i>Ananas comosus</i>	South Africa	LT996091	Sandoval-Dennis
NRRL 22016	<i>F. subglutinans</i>	<i>Zea mays</i>	USA	AF160289	O'Donnell (1999)
NRRL 25331 <sup>T</sup>	<i>F. circinatum</i>	<i>Pinus radiata</i>	USA	AF160295	O'Donnell (1999)
CML 283	<i>F. sterilihyphosum</i>	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	DQ452858	Lima et al. (2012)
NRRL 25623	<i>F. sterilihyphosum</i>	<i>Mangifera indica</i>	South Africa	AF160300	O'Donnell (1999)
CML 345	<i>F. tupiense</i>	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	DQ452861	Lima et al. (2012)
CML 262 <sup>T</sup>	<i>F. tupiense</i>	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	DQ452859	Lima et al. (2012)
CML 389	<i>F. tupiense</i>	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	DQ452860	Lima et al. (2012)
N001DF	<i>F. oxysporum</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	MH638321	Mohd Hafifi et al. (2019)
DF2	<i>F. oxysporum</i>	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Malaysia	MK190688	Mohd Hafifi et al. (2019)
NRRL 32873	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	<i>Gossypium</i> sp.	USA	FJ985310	O'Donnell et al. (2009)
NRRL 26445	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	USA	DQ837686	O'Donnell et al. (2009)
NRRL 26374	<i>F. oxysporum</i>	<i>Homo sapiens</i>	USA	AF008483	O'Donnell et al. (1998)
NRRL 22549	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i>	<i>Passiflora edulis</i>	Brazil	AF008505	O'Donnell et al. (1998)

**Tabela 4S.** continua

<b>Isolado no.</b>	<b>Espécie</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>País</b>	<b>GenBank acesso no. <i>TEF</i></b>	<b>Referência</b>
NRRL 38296	<i>F. commune</i>	<i>Beta vulgaris</i>	USA	FJ985372	O'Donnell et al. (2009)
NRRL 53153	<i>F. commune</i>	Unknown	Korea	FJ985440	O'Donnell et al. (2009)

Abreviações: CML - Coleção Micológica de Lavras, Brasil; CBS - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Holanda; NRRL, Northern Regional Research Laboratory, Peoria, IL, EUA; BBA: Julius Kühn Institute, Institute for Epidemiology and Pathogen Diagnostics, Berlin and Braunschweig, Alemanha; T – isolado tipo; ET- epítipo.

## **CURRÍCULO DA AUTORA**

Nevenka de Matos Moura é natural de Santos SP, onde nasceu em 1992. Em 2007 ingressou no curso Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, com conclusão em dezembro de 2009. Iniciou a graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade Federal de São João Del Rei em 2010, foi bolsista FAPEMIG de iniciação científica (2013 – 2014). Em 2014, fez transferência de curso para a Universidade Federal de Lavras, curso de Agronomia. Foi bolsista FAPEMIG de iniciação científica (2015 – 2017) no Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos. Concluída a graduação em 2018, ingressou em 2018 no curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras, sob a orientação do professor Dr. Ludwig H. Pfenning.