



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ**  
**CAMPUS LIMOEIRO DO NORTE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**MESTRADO ACADÊMICO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**LETÍCIA MARIA VIANA ALVES**

**PRIMEIRO REGISTRO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *FUSARIUM* EM  
FRUTOS DE *HYLOCEREUS COSTARICENSIS***

**LIMOEIRO DO NORTE - CE**

**2025**

LETÍCIA MARIA VIANA ALVES

PRIMEIRO REGISTRO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *FUSARIUM* EM FRUTOS DE  
*HYLOCEREUS COSTARICENSIS*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal do Ceará Campus Limoeiro do Norte como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Renata Chastinet Braga

Coorientador: Prof. Dr. Cleilson do Nascimento Uchôa

LIMOEIRO DO NORTE - CE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Instituto Federal do Ceará - IFCE  
Sistema de Bibliotecas - SIBI

Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- A474     Alves, Leticia Maria Viana.  
          Primeiro registro de espécies do gênero *Fusarium* em frutos de *Hylocereus costaricensis* / Leticia Maria Viana Alves. - 2025.  
          62 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Campus Limoeiro do Norte, 2025.  
          Orientação: Profa. Dra. Renata Chastinet Braga.  
          Coorientação: Profa. Dra. Cleilson Uchôa do Nascimento.
1. comercialização. 2. fitopatôgenos. 3. pitaita. 4. pós-colheita. I. Título.

CDD 664

---

LETÍCIA MARIA VIANA ALVES

PRIMEIRO REGISTRO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Fusarium* EM FRUTOS DE *Hylocereus costaricensis*

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará *Campus* Limoeiro do Norte como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em: 26/05/2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Chastinet Braga (Orientadora)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - (IFCE)  
*Campus* Limoeiro do Norte

Profa. Dra. Marlene Nunes Damaceno (Membra Interna Titular)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - (IFCE)  
*Campus* Limoeiro do Norte

Profa. Dra. Raimunda Valdenice da Silva Freitas (Membra Externa Titular)  
Universidade Federal da Paraíba - UFPB



Documento assinado eletronicamente por **Renata Chastinet Braga, Professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico**, em 06/06/2025, às 18:10, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marlene Nunes Damaceno, Professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico**, em 09/06/2025, às 17:52, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raimunda Valdenice da Silva Freitas, Usuário Externo**, em 10/06/2025, às 22:37, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade do documento pode ser conferida no site [https://sei.ifce.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ifce.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0) informando o código verificador **7463985** e o código CRC **ED99325E**.

“Não importa que você vá devagar, contanto  
que você não PARE.”

Confúcio

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, por todas as oportunidades em que Ele colocou no meu caminho desde que entrei nessa Instituição. Sem Ele, nada seria possível.

Aos meus pais, José Alves Filho e Maria da Conceição Viana da Silva, por todo apoio e exemplo que me deram em todos os momentos e toda a família por todo apoio.

À minha querida orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Renata Chastinet Braga (Tia), pela confiança, por todos os conselhos e ensinamentos, e pelo exemplo de professora que sempre demonstrou ser. Agradeço por nunca medir esforços para me ajudar em todos os âmbitos da minha vida.

Ao meu professor e coorientador, Cleilson Uchôa do Nascimento, que nunca mediu esforços para me ajudar, buscando parceria com a Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), na pessoa do Prof. Dr. Rui Sales; e com a Universidade Federal do Cariri (UFCA), na pessoa da Profa. Dra. Kamila Câmara Correia. Muito obrigada por toda a ajuda e dedicação.

Agradeço à técnica do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Naama, e ao aluno Moisés pelo auxílio nas análises. Aos alunos Wallison, Raquel e Wilson, bem como à técnica Ivna Salmito, do Laboratório de Fitopatologia da UFCA, pela ajuda e pela troca de conhecimento sobre PCR que me foi repassada.

À bolsista Liana, por estar sempre à disposição para me ajudar durante toda a pesquisa.

Às minhas amigas Andreza Moura, Geysa Gabriela, Juciene Lima e Sintya Moisés, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos, não me deixarem fraquejar nas horas difíceis e me ajudarem nas correções.

Ao Instituto Federal do Ceará – Campus Limoeiro do Norte, pelas oportunidades concedidas, e a todos os professores da instituição que contribuíram, de alguma forma, para a minha formação. Agradeço, ainda, aos professores pelos ensinamentos e contribuições repassados até aqui e à coordenação do Mestrado em Tecnologia de Alimentos, em especial à Profa. Dra. Maria Aparecida Liberato Milhome, atual coordenadora do curso.

Um agradecimento especial ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio e incentivo financeiro que possibilitaram o desenvolvimento desta pesquisa.

## RESUMO

A pitaia *Hylocereus costaricensis*, popularmente conhecida como fruta-dragão vermelho-púrpura, é um fruto rico em compostos bioativos com propriedades farmacológicas significativas, destacando-se pelo elevado teor de antioxidantes e atividade antimicrobiana. Dada à importância dessa espécie, a presente pesquisa teve como objetivo isolar e caracterizar os fungos que acometem a pitaia, utilizando técnicas laboratoriais como o sequenciamento de DNA para identificar as espécies e confirmar sua patogenicidade. Os frutos de pitaia foram desinfetados, lavados e secos, sendo posteriormente colocados em ambiente propício ao desenvolvimento de esporos fúngicos. Foram empregados os métodos de isolamento direto e indireto, e detectados os gêneros *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Bipolaris*, *Lasiodiplodia* e *Rhizopus*. Em seguida, aplicou-se o método de Castellani para a preservação das colônias fúngicas, além da realização de PCR, sendo identificadas as colônias F1.2 e F4 por meio de sequenciamento gênico e análise filogenética. Foram identificados *Fusarium falciforme*, com 93,7% de similaridade, e *Bisifusarium dimerum*, com 99,9% de similaridade. Na busca de artigos científicos nas bases ScienceDirect, SciELO, Springer, PubMed, Web of Science, Scopus e no Banco de Dados de Fungos do USDA (Departamento de Agricultura dos EUA), não foram encontradas referências à contaminação de frutos por essas espécies, o que caracteriza este como o primeiro relato mundial dessa ocorrência. Após a análise filogenética e a identificação dos fungos, realizou-se o teste de patogenicidade com as colônias preservadas, confirmando-se a sua patogenicidade. Assim, o presente trabalho relata pela primeira vez a ocorrência de *Fusarium falciforme* e *Bisifusarium dimerum* em frutos do gênero *Hylocereus*.

**Palavras chaves:** comercialização; fitopatôgenos; pitaia; pós-colheita.

## ABSTRACT

Dragon fruit *Hylocereus costaricensis*, popularly known as purple-red dragon fruit, is a fruit rich in bioactive compounds with significant pharmacological properties, especially due to its high antioxidant and antimicrobial content. Given the importance of the fruit, this research aimed to isolate and characterize the fungi that attack the dragon fruit, using laboratory techniques such as DNA sequencing to identify the species and confirm their pathogenicity. The dragon fruits were disinfected, washed and dried, and placed in an environment conducive to the development of fungal spores. Direct and indirect isolation methods were used and the genera *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Bipolares*, *Lasiodiplodia* and *Rhizopus* were detected. Then, the Castellani method was used to preserve the fungal colonies and PCR was performed, and colonies F1.2 and F4 were identified through gene sequencing and analysis of phylogenetic data. *Fusarium falciforme* was identified with 93.7% similarity and *Bisifusarium dimerum* with 99.9% similarity. In the search for scientific articles in the databases ScienceDirect, SciELO, Springer, PubMed, Web of science, Scopus and the USDA (U.S. Department of Agriculture in Fungi Database), and revealed no reports to fruit contamination by these species, indicating this as the first global report of this contamination. After phylogenetic analysis and identification of the fungi, the pathogenicity test was performed using the preserved colonies, which confirmed their pathogenicity. Thus, the present work confirmed the first global report of *Fusarium falciforme* and *Bisifusarium dimerum* in occurrence in fruits of the genus *Hylocereus*.

**Keywords:** Commercialization, Phytopathogens, Pitaia, postharvest.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Fruto de pitaia com sintomas de antracnose causada por <i>Colletotrichum</i><br><i>truncatum</i> .....                                                    | 21 |
| Figura 2 - Fruto de pitaia com sintomas de podridão causada por <i>Fusarium oxysporum</i> .....                                                                      | 22 |
| Figura 3 - Podridão em frutos de pitaia causada por bipolares .....                                                                                                  | 22 |
| Figura 4 - Podridão em frutos de pitaia causada por <i>Rizhopus</i> .....                                                                                            | 23 |
| Figura 5 - Frutos de pitaia em processo de higienização (A); Frutos em processo de<br>secagem (B); Frutos em câmara úmida para desenvolvimento de fungos (C).. ..... | 26 |
| Figura 6 - Esquema ilustrativo da metodologia de realização da PCR. ....                                                                                             | 32 |
| Figura 7 - Método de Isolamento Direto .....                                                                                                                         | 35 |
| Figura 8 - Imagens das duas espécies de <i>Fusarium</i> em placas e uma imagem<br>microscópica de esporos de <i>Fusarium</i> .....                                   | 36 |
| Figura 9 - Imagem microscópica de esporo de <i>Bipolares</i> .....                                                                                                   | 37 |
| Figura 10 - Imagem microscópica de um emaranhado de esporos de <i>Cuvullaria</i> .....                                                                               | 37 |
| Figura 11 - Imagem microscópica de esporo de <i>Rizophus</i> .....                                                                                                   | 38 |

## **LISTA DE TABELA**

|                                                    |    |
|----------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Métodos de Isolamento de fungos.....    | 36 |
| Tabela 2 - Codificação dos fungos escolhidos ..... | 41 |

## SUMÁRIO

|       |                                                                             |    |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1     | INTRODUÇÃO .....                                                            | 13 |
| 2     | OBJETIVOS .....                                                             | 15 |
| 2.1   | Objetivo geral.....                                                         | 15 |
| 2.2   | Objetivos específicos.....                                                  | 15 |
| 3     | JUSTIFICATIVA.....                                                          | 16 |
| 4     | REFERÊNCIAL TEÓRICO .....                                                   | 17 |
| 4.1   | Aspectos gerais e botânicos da pitaia.....                                  | 17 |
| 4.2   | Sistema de Classificação da Pitaia .....                                    | 17 |
| 4.3   | Compostos de interesse .....                                                | 18 |
| 4.4   | Características fisiológicas da pitaia.....                                 | 19 |
| 4.5   | Aspectos fisiológicos pós-colheita dos frutos da pitaia.....                | 20 |
| 4.6   | Doenças causadas por fungos encontrados em pitaia.....                      | 20 |
| 4.6.1 | Antracnose .....                                                            | 21 |
| 4.6.2 | Podridão por <i>Fusarium</i> .....                                          | 21 |
| 4.6.3 | <i>Bipolaris</i> .....                                                      | 22 |
| 4.6.4 | Podridão por <i>Rhizopus</i> .....                                          | 23 |
| 4.7   | Gênero <i>Fusarium</i> .....                                                | 23 |
| 5     | METODOLOGIA.....                                                            | 26 |
| 5.1   | Obtenção dos frutos.....                                                    | 26 |
| 5.2   | Preparação de lâminas para identificação .....                              | 27 |
| 5.3   | Cultivo de fungos isolamento direto e indireto .....                        | 27 |
| 5.4   | Purificação de fungos .....                                                 | 28 |
| 5.5   | Preservação de fungos.....                                                  | 29 |
| 5.6   | Teste de patogenicidade .....                                               | 29 |
| 5.7   | Extração de DNA e amplificação de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)..... | 30 |
| 5.8   | Análise filogenética .....                                                  | 32 |
| 5.9   | Isolamento de fungos dos solos.....                                         | 33 |
| 5.10  | Isolamento de fungos de raiz .....                                          | 34 |
| 6     | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                | 35 |
| 6.1   | Identificação de Fungos .....                                               | 35 |

|            |                                       |           |
|------------|---------------------------------------|-----------|
| <b>6.2</b> | <b>PCR e Análise Filogenica .....</b> | <b>46</b> |
| <b>7</b>   | <b>CONCLUSÃO.....</b>                 | <b>53</b> |
|            | <b>REFERÊNCIAS .....</b>              | <b>54</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A pitaia *Hylocereus costaricensis*, comumente conhecida como fruta-dragão vermelho-púrpura, é uma espécie de cactácea originária da América Central (WINSON *et al.* 2020). A pitaia é cultivada em todo o mundo, com os principais produtores localizados na China e em outros países do sul da Ásia (CARMEM; FRANCISCO; BARTHE, 2023). A casca e a polpa da fruta são ricas em betacianina, polifenóis, carboidratos, vitaminas, minerais e outros compostos bioativos (JOSHI; PRABHAKAR, 2020). Em 2022, o Brasil produziu aproximadamente 3 milhões de quilos da fruta, com um mercado interno que gerou vendas de mais de 44 milhões de reais (CONAB, 2023).

A busca pelo fruto da pitaia e outros alimentos que contribuem com a saúde vem crescendo graças as suas propriedades farmacológicas, que trazem benefícios na redução do risco de doenças neurodegenerativas, câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e inflamações, tendo também efeitos antioxidantes e antimicrobianos, assim como seu potencial nutricional, impulsionando seu consumo (SANTHI *et al.* 2020; TANG *et al.* 2021).

Este aumento da demanda reflete diretamente na produção, levando a um crescimento dos desafios enfrentados pelos produtores, como o aumento de perdas causadas por ataques fitopatogênicos, que variam de acordo com cada espécie. Doenças como as antracnoses são causadas por diferentes espécies de *Colletotrichum siamense*, *C. karstii* e *C. fructicola* (NASCIMENTO *et al.*, 2019; EVALLO; TAGUIAM; BALENDRES, 2021), resultando em graves perdas econômicas relatadas em todo o mundo. Entre os fungos causadores de diversas doenças, destacam-se: *Diaporthe phaseolorum*, causando a podridão do caule (KARIM *et al.*, 2019); *Diaporthe* spp., provocando a ferrugem cinzenta do caule (HUDA-SHAKIRAH; MOHD, 2021); a praga de *Alternaria* (PATEL; ZHANG, 2017); *Neoscytalidium dimidiatum*, causando o cancro, sendo um fungo de difícil identificação (COSTA *et al.*, 2024); *Bipolaris cactivora*, causando a podridão dos frutos (BEN-ZE'EV *et al.*, 2011); e *Nigrospora laticolonia* e *N. sphaerica*, responsáveis pela mancha marrom-avermelhada (KEE *et al.*, 2019).

Estudos conduzidos em pomares de pitaia nos distritos de Mizoram, Kolasib e Aizawl, na Índia, apontaram sintomas de podridão do caule semelhantes aos relatados em outros países. Após análises microscópicas, foram identificados como sendo do gênero *Fusarium oxysporum*, frequentemente associado à podridão basal (WRIGHT *et al.*, 2007; MOHD; KEE; MOHD, 2019; MAHMUD *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2023). As espécies *F. fujikuroi* e *F.*

*proliferatum*, encontradas na Malásia, e *F. solani*, em Bali e Indonésia, foram relatadas causando danos à planta, mas não ao fruto (RITA *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2023).

Não apenas fungos ocasionam doenças em pitaia, mas também outros fitopatógenos, como *Enterobacter cloacae*, que causa a podridão mole bacteriana (MASYAHIT *et al.*, 2009), e doenças virais, como o *Cactus virus X*, já registradas na China, Coreia e Índia (PENG *et al.*, 2016; KIM *et al.*, 2016; PARAMESWARI *et al.*, 2021; EVALLO *et al.*, 2021). A fase de pós-colheita da pitaia enfrenta inúmeros desafios fitossanitários, decorrentes da ampla diversidade de doenças que acometem os frutos. Essas doenças são responsáveis por perdas significativas na produção, afetando aspectos qualitativos e quantitativos, como a aparência, textura, sabor e valor nutricional. Além disso, a deterioração pós-colheita reduz a vida útil e a comercialização da fruta, ocasionando prejuízos econômicos expressivos para os produtores e impactando negativamente a cadeia produtiva. Diante desse cenário, a identificação precisa dos agentes etiológicos torna-se fundamental para subsidiar o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado, visando à prevenção e ao controle das doenças pós-colheita, bem como à garantia da qualidade e segurança alimentar.

Em face desses desafios, o presente estudo teve como objetivo isolar e caracterizar espécies de fungos associadas à infecção de *Hylocereus costaricensis*, visando fornecer subsídios para a mitigação dos danos e a redução das perdas expressivas na fase de pós-colheita nos pomares dessa cultura.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo fitopatológico de frutos pós-colheita de pitaiia da espécie *Hylocereus costaricensis*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a pós-colheita de frutos de pitaiia para visualização de contaminação por fungos;
- Buscar soluções para uma empresa parceira visando à redução das perdas econômicas enfrentadas em seus pomares e no processo pós-colheita;
- Realizar a identificação morfológica preliminar dos fungos por meio de microscópio ótico;
- Isolar e caracterizar as espécies de fungos encontrados;
- Identificar as espécies de patógenos através do sequenciamento do DNA;
- Realizar teste de patogenicidade para confirmar a capacidade dos fungos isolados em causar as doenças observadas;
- Realizar a identificação morfológica por meio de microscópio óptico, dos fungos presentes em solo e raízes de pitaiias cultivadas;
- Buscar um possível controle desses patógenos.

### 3 JUSTIFICATIVA

O conceito de "alimento como remédio" enfatiza o papel de certos alimentos na prevenção e no tratamento de doenças, especialmente em condições crônicas (SURESH; RAMAKRISHNAN, 2024). Por exemplo, segundo Santos *et al.* (2023), nos anos de 2023 a 2025, são esperados 704 mil novos casos de câncer. O mesmo estudo estimou que a Região Nordeste apresenta a segunda maior taxa de incidência (10,70/100 mil homens e 4,96/100 mil mulheres), ficando atrás apenas da Região Norte, que possui as maiores taxas tanto em homens (11,78/100 mil) quanto em mulheres (5,46/100 mil). Com isso, a procura por alimentos saudáveis e outras formas de cuidado está crescendo para minimizar essa incidência.

A pitia contém diversos fitoconstituintes, incluindo compostos fenólicos, pigmentos, terpenoides, ácidos graxos, flavonoides, vitaminas, açúcares, nutrientes e fibras alimentares, presentes tanto em suas partes comestíveis, como a polpa e as sementes, quanto em partes não comestíveis, como a casca (ARIVALAGAN *et al.*, 2021; RODRIGUEZ *et al.*, 2020). Devido à presença desses fitoconstituintes, a fruta apresenta múltiplas atividades terapêuticas, como propriedades antioxidantes, anticancerígenas, antidiabéticas, antimicrobianas, anti-hiperlipidêmicas, antiobesidade, hepatoprotetoras, antianêmicas, anti-inflamatórias, antivirais, prebióticas e cicatrizantes (LODI *et al.*, 2023; NISHIKITO *et al.*, 2023).

De acordo com o Censo Agropecuário de 2017 (IBGE, 2019), o Brasil produziu 1.409 toneladas de pitia, cultivadas em 1.100 hectares, o que gerou cerca de R\$ 8,6 milhões em valor bruto da produção (VBP). Nesse contexto, o jornal "O Povo", em publicação de 2021, destacou o potencial e o crescimento da pitia no Brasil e, especialmente, em nossa região. A matéria mencionou que a produção estava concentrada no Vale do Jaguaribe e na Serra da Ibiapaba, aonde a fruta também vinha sendo estudada como alternativa para substituir a beterraba na produção de corantes alimentícios (MAIA, 2021). Considerando que há poucos estudos pós-colheita na literatura sobre a variedade *Hylocereus costaricensis* analisada neste trabalho, este estudo busca ampliar o conhecimento sobre essa espécie, bem como investigar os problemas associados a doenças fúngicas, visando à identificação de estratégias eficazes para o combate e controle desses patógenos.

## 4 REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 4.1 Aspectos gerais e botânicos da pitaia

As flores da pitaia, de cor branca e medindo entre 20 e 30 cm de largura, possuem numerosos estames, aroma marcante e florescem à noite, fechando pela manhã, o que evita a autopolinização pela diferença de altura entre estigmas e anteras. A planta é perene, trepadeira, com ramos triangulares, suculentos e espinhosos, além de raízes adventícias que permitem fixação em suportes como árvores e pedras. Embora o fruto apresente muitas sementes pequenas e escuras na polpa, a propagação é mais eficiente por meio de mudas, que aceleram o crescimento em relação às sementes (MARQUES, 2008).

Os compostos voláteis presentes nas frutas influenciam diretamente as características sensoriais, como sabor e aroma. Eles auxiliam na percepção de açúcares, ácidos orgânicos, fenólicos, terpenoides e minerais, responsáveis pelos sabores doce, ácido, amargo e salgado. A doçura, por exemplo, está relacionada aos monossacarídeos, e esses atributos determinam a preferência do consumidor. No caso da pitaia, o aroma também desempenha papel essencial, abrangendo uma ampla variedade de compostos voláteis, como ésteres, álcoois, cetonas e ácidos, que influenciam a aceitação e escolha do produto (TOMAS *et al.*, 2023).

As principais espécies de pitaia incluem *Hylocereus polyrhizus*, com polpa vermelha e casca rosa; *Hylocereus megalanthus*, ou "pitaia colombiana", valorizada por sua polpa branca e casca amarela; e *Hylocereus undatus*, com polpa branca e casca vermelha. Destaca-se também a *Hylocereus costaricensis*, que se distingue por seus frutos doces com polpa violeta-avermelhada e casca rosada, foco deste estudo (EL-NASHAR *et al.*, 2024).

### 4.2 Sistema de Classificação da Pitaia

A pitaia, também conhecida como fruta-do-dragão ou pittaberry, é uma fruta tropical e subtropical, popular entre os consumidores por sua rica fibra alimentar, vitaminas, betalaínas e minerais (JALGAONKAR *et al.*, 2020; JIANG *et al.*, 2021; KHOO *et al.*, 2022). Esta planta é uma erva suculenta, além de ser um cacto trepador que atualmente é amplamente cultivado como cultura frutífera, apresentando crescimento epífito, caracterizado por estabelecer uma relação de inquilinismo com outra planta, que serve de suporte para o seu desenvolvimento

(CHEN; SABIR; QIN, 2023). É uma espécie de fruta exótica não climatérica nativa do centro do México e da América do Sul (JIANG *et al.*, 2020).

Quatro gêneros englobam os diversos tipos de pitaia: *Stenocereus*, *Cereus*, *Selenicereus* e *Hylocereus*. Esses gêneros diferem quanto ao fruto (LIU *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2020). As representantes do gênero *Hylocereus* podem tolerar fatores ambientais extremos, como frio, calor, seca e deficiência de compostos nutricionais essenciais do solo (PAŽKO *et al.*, 2021a). Possuem características únicas que vão desde a sua forma, cor e sabor, até às suas excepcionais propriedades nutraceuticas. Esses atributos, juntamente com o retorno financeiro da cultura, conquistaram os consumidores e fruticultores brasileiros nos últimos anos.

A planta apresenta uma fase juvenil curta, alta produtividade, capacidade de produção fora de temporada e fácil propagação por estacas, o que tem impulsionado o cultivo globalmente (CHIEN *et al.*, 2024). No entanto, os frutos possuem vida útil limitada.

#### 4.3 Compostos de interesse

A pitaia ganhou popularidade por causa de sua valiosa eminência nutricional e atributos farmacológicos (PAŽKO *et al.*, 2021b; HUANG *et al.*, 2022), sendo uma rica fonte de metabólitos distintos, entre os quais a betalaína, pigmento de grande relevância para a indústria, bem como fenólicos e flavonoides, importantes metabólitos secundários produzidos pela planta (ZULKIFLI *et al.*, 2020). Estes são valorizados por suas atividades antioxidantes e funções na sinalização celular, acrescentando potencial defensivo em ambientes estressantes (MARONE *et al.*, 2022).

Diversas pesquisas destacam as propriedades dos metabólitos ativos da pitaia na neutralização de radicais livres, demonstrando sua eficácia como agentes anti-inflamatórios, antidiabéticos, antiproliferativos e antimutagênicos, com significativo impacto na promoção da saúde humana (WINSON *et al.*, 2020).

Por ser nativa de regiões termofílicas, a pitaia é altamente adaptada ao estresse em baixas temperaturas. A planta cresce e pode suportar variações de 12 a 40 °C (GOENAGA *et al.*, 2020).

A polpa da fruta-do-dragão é doce e rica em nutrientes como açúcares, proteínas e minerais, destacando-se pelos compostos bioativos e betacianinas, pigmentos antioxidantes que combatem radicais livres. Também contém polifenóis, flavonoides e vitamina C, ampliando seu potencial antioxidante. Estudos indicam que as betacianinas ajudam a prevenir

obesidade e distúrbios metabólicos, enquanto, em diabéticos tipo 2, o consumo da fruta auxilia na redução do colesterol, triglicerídeos e glicose, além de melhorar a resistência à insulina (ARIVALAGAN *et al.*, 2021).

Jiang *et al.* (2021), em ensaio clínico, demonstraram que a ingestão do suco de pitaia vermelha foi capaz de melhorar os níveis de hemoglobina e eritrócitos, contribuindo para neutralizar o desenvolvimento de anemia em mulheres grávidas.

#### 4.4 Características fisiológicas da pitaia

O cultivo e consumo de pitaia de polpa vermelha vêm crescendo em diversas regiões tropicais e subtropicais nos últimos anos, tanto no Brasil como no mundo, principalmente devido ao seu sabor agradável, aparência exótica e propriedades nutricionais e funcionais promissoras (MAGALHÃES *et al.*, 2019; THAIUDOM *et al.*, 2021). Ela fornece um amplo espectro de vitaminas, licopeno, minerais e carboidratos, particularmente açúcares redutores como glicose e frutose (JOSHI; PRABHAKAR, 2020).

Estudados *in vitro* e *in vivo*, os fitoquímicos de extratos de *Hylocereus polyrhizus* (polpa e casca) demonstraram ampla gama de propriedades biológicas, incluindo atividades anti-inflamatórias, antiespasmódicas, radioprotetoras, antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas e antidiabéticas (JOSHI; PRABHAKAR, 2020). Em um estudo conduzido por Ravichandran *et al.* (2021), foi destacado que a *Hylocereus polyrhizus* é fonte natural promissora de compostos antiglicação e antioxidantes com potencial para reduzir o risco de glicação associada a distúrbios diabéticos e ao envelhecimento.

Embora a pitaia seja uma fruta estudada quanto a seus aspectos físico-químicos, esses fatores podem variar de acordo com a espécie e as condições às quais está exposta. Autores como Li *et al.* (2020) e Zayed *et al.* (2020) enfatizam que a biossíntese, o conteúdo e as bioatividades dos compostos podem ser influenciados por fatores como local, práticas agrícolas, precipitação, temperatura, espécie, solo, condições edafoclimáticas, tecido vegetal e cultivar.

A espécie *Hylocereus costaricensis* é pouco estudada e, por isso, muitas informações sobre ela se baseiam em pesquisas sobre *Hylocereus polyrhizus*, pertencente ao mesmo gênero e com características semelhantes de casca e polpa. Embora não sejam idênticas, a escassez de literatura específica levou à utilização de *Hylocereus polyrhizus* como referência.

#### 4.5 Aspectos fisiológicos pós-colheita dos frutos da pitaia

A pitaia se destaca pela aparência exótica, com cores vibrantes e brácteas frescas e limpas que atraem imediatamente os consumidores. Esses aspectos visuais desempenham papel crucial na decisão de compra. No entanto, brácteas quebradas ou murchas podem comprometer significativamente sua comercialização, reduzindo sua aceitação no mercado (JIANG *et al.*, 2020).

Diversos métodos pós-colheita têm sido avaliados para minimizar problemas no armazenamento da pitaia, como o uso de temperaturas controladas, embalagens adequadas e revestimentos. Cuidados na colheita, como evitar danos mecânicos, também reduzem significativamente os desafios do armazenamento. Em condições de temperatura ambiente moderada, a fruta tem vida útil de 6 a 8 dias. Para conservação prolongada, recomenda-se a refrigeração acima de 8 °C, a fim de evitar danos à polpa. Esse método pode prolongar a durabilidade por até um mês, embora o ressecamento das brácteas comprometa a aparência e afete a comercialização. O transporte e o armazenamento variam conforme o produtor, o destino e o retorno financeiro esperado (PIO *et al.*, 2020).

#### 4.6 Doenças causadas por fungos encontrados em pitaia

Como toda planta cultivada, a pitaia está sujeita a doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Essa frutífera vem sendo tema de pesquisas no Brasil, registradas em obras como *Pitaia no Brasil: nova opção de cultivo* (CRUZ; MARTINS, 2022), *Pitaia: uma alternativa frutífera* (SANTOS *et al.*, 2022) e *Cultivo de pitaia* (LONE, 2020).

Há registro de 17 gêneros e 30 espécies de fitopatógenos que podem afetar cladódios, frutos e raízes, causando prejuízos significativos. No Brasil, destacam-se fungos (antracnose, mancha de curvularia, mancha de alternaria, mancha marrom ou olho de peixe, mancha dos cladódios, podridão do colo e dos frutos, podridão por *Fusarium*, podridão do fruto ou por *Bipolaris*), bactérias (podridão mole ou *pectobacteriose*), vírus (virose X dos cactos) e nematoides (meloidoginose). Entre as mais preocupantes está o cancro ou podridão negra, causado por *Neoscytalidium dimidiatum*. Diante disso, exige-se maior investimento em pesquisa e transferência de tecnologias para a adoção de “Boas Práticas Agrícolas” (MENTEN, 2023).

Essas doenças reduzem a vida útil da fruta, afetando o armazenamento pós-colheita, o transporte e a comercialização. No Brasil, há relatos recentes, como *Colletotrichum carstii* causando antracnose em pomares de *H. undatus*, atacando cladódios (COSTA *et al.*, 2024); *Colletotrichum tropicale* afetando cladódios em pomares de *H. costaricensis* (INOKUTI *et al.*, 2023a; INOKUTI *et al.*, 2023b); e *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causando podridões em cladódios de *Hylocereus spp.* (MELLO *et al.*, 2022; MOURA, 2020).

#### **4.6.1 Antracnose**

Causada pelos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum truncatum*. Manifesta-se inicialmente como pequenas lesões alaranjadas que evoluem para manchas escuras em formato concêntrico, acompanhadas de massas de esporos alaranjados, afetando principalmente cladódios jovens e frutos. Ocorre tanto no campo quanto após a colheita, sendo comum em climas quentes e úmidos (SANTOS *et al.*, 2022). Na Figura 1, apresenta-se uma lesão típica de antracnose.

#### **4.6.2 Podridão por *Fusarium***

O fungo *Fusarium oxysporum* causa lesões secas e necróticas, com sintomas visíveis nos frutos e nas partes aéreas, como amarelecimento, podendo ser confundidos com danos por nematoides. O patógeno infecta inicialmente as raízes e vasos condutores, bloqueando o fluxo de seiva, sobrevivendo no solo e restos vegetais. Sua disseminação ocorre por resíduos culturais, chuva e ferramentas contaminadas. Condições favoráveis incluem temperaturas de 12 a 28°C, solos arenosos, pH desequilibrado e alta umidade (SANTOS *et al.* 2022).

Figura 1 - Fruto de pitiaia com sintomas de antracnose causada por *Colletotrichum truncatum*



Fonte: Santos *et al.*, (2022)

A Figura 2 contém fruto de pitaia com sintomas de podridão causada por *Fusarium oxysporum*.

Figura 2 - Fruto de pitaia com sintomas de podridão causada por *Fusarium oxysporum*



Fonte: Santos *et al.*, (2022)

#### **4.6.3 *Bipolaris***

Esse fungo ataca tanto os frutos quanto os cladódios em condições de temperatura entre 25 e 30 °C. Inicialmente, causa lesões necróticas de coloração alaranjada, que podem evoluir para a podridão total dos tecidos. Para prevenir seu ataque, recomenda-se a remoção das flores após a polinização, uma vez que o patógeno surge e se desenvolve comumente nos botões florais. As perdas causadas podem chegar a 44% do fruto (SANTOS *et al.* 2022), conforme pode ser observado na Figura 3.

Figura 3 - Podridão em frutos de pitaia causada por bipolares



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

#### 4.6.4 Podridão por *Rhizopus*

*Rhizopus sp.* é um fungo oportunista que necessita de uma porta de entrada para infectar o fruto, embora seja considerado um fungo infeccioso. Seu controle torna-se mais simples quando se evitam condições favoráveis, como o contato dos frutos com botões florais, o que já permite reduzir significativamente sua incidência (SANTOS *et al.*, 2022) (Ver Figura 4).

Figura 4 - Podridão em frutos de pitaia causada por *Rizhopus*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

#### 4.7 Gênero *Fusarium*

Espécies do gênero *Fusarium* são responsáveis por inúmeros ataques a diversas espécies de plantas. Ele foi descrito pelo micologista alemão Link pela primeira vez em 1809 e listado por Fries (1821) na taxonomia, onde foi classificado como pertencente à família *Nectriaceae*, ordem *Hypocreales*, classe *Sordariomycetes*, filo *Ascomycota*. Grandes mudanças vêm ocorrendo nos últimos anos na taxonomia do gênero *Fusarium*, modificando, consequentemente, o conceito de espécie apresentado, envolvendo os conceitos morfológico, biológico e filogenético (NIKITIN *et al.* 2023).

As espécies do gênero *Fusarium* são comumente classificadas como fungos transmitidos pelo solo devido à sua alta presença nesse ambiente e à frequência com que se associam às raízes das plantas (TORBATI *et al.* 2021; HILL *et al.* 2022). Atualmente, o gênero *Fusarium* inclui cerca de 300 espécies descritas, embora se acredite que ainda existam

muitas não identificadas. O gênero abrange espécies com diferentes modos de vida, como saprófitas, parasitas, endófitas, fitopatogênicas, mutualistas e patogênicas de animais (TOGHUEO, 2020; TORBATI *et al.* 2019; SOUFIANI; ABRINBANA; POURALIBABA, 2025). Algumas apresentam capacidade de se transformar, em resposta a mudanças na imunidade da planta (NELSON *et al.* 2020; LI *et al.* 2020; HILL *et al.* 2022), assim como de estabelecer uma relação simbiótica obrigatória como endófitos mutualísticos, adotando uma forma de vida micorrízica (HILL *et al.* 2022).

*Fusarium* é um gênero relevante, capaz de produzir diversos metabólitos secundários exclusivos (LI *et al.* 2020). Entre eles, destacam-se as micotoxinas, como ácido fusárico, zearalenona, fusarinas, fumonisinas, beauvericina, moniliformina e tricotecenos, que podem ser tóxicas para plantas, animais e humanos (LI *et al.* 2020; NIEHAUS *et al.* 2016; SÁNCHEZ, 2024).

Como é um dos gêneros de fungos filamentosos responsáveis por doenças de grande impacto agrônômico (como podridões, ferrugens, doenças vasculares e cancrios), o *Fusarium* afeta uma ampla variedade de culturas, tanto antes quanto após a colheita, tornando-se um dos patógenos mais estudados e distribuídos em todas as regiões do mundo (TORRES-CRUZ *et al.* 2022). As micotoxinas produzidas pelas espécies patogênicas são responsáveis por doenças em plantas e podem se infiltrar na cadeia alimentar, resultando em intoxicações e riscos à saúde de seres humanos e animais (LIN *et al.* 2023).

As espécies de *Fusarium* são prevalentes no ambiente, mas raramente reconhecidas como patógenos em humanos, afetando geralmente indivíduos imunocomprometidos. Trata-se, portanto, de um patógeno que causa perdas e danos não apenas na agricultura, mas também em seres humanos (DURAND, 2017). Suas espécies são frequentemente destrutivas, pois além de colonizar o sistema vascular das plantas, podem persistir no solo por longos períodos (BANAKAR *et al.* 2025).

As identificações utilizadas para classificar as espécies de *Fusarium* consideram três aspectos com base nas semelhanças entre as estruturas observadas: (I) os caracteres morfológicos, também chamados de marcadores morfológicos; (II) os caracteres biológicos, relacionados à compatibilidade sexual entre indivíduos da mesma espécie; e (III) os caracteres genéticos, referentes às sequências de DNA e à relação filogenética entre espécies (O'DONNELL *et al.* 2000; SUMMERELL; SALLEH; LESLIE, 2003).

Para a identificação e separação mais precisa das espécies de *Fusarium*, novas técnicas moleculares vêm sendo estudadas, com foco em sequências de DNA e análises filogenéticas

(CROUS *et al.* 2021; CROUS *et al.* 2022; GEISER *et al.* 2021; LOMBARD *et al.* 2019; O'DONNELL *et al.* 2022; YILMAZ *et al.* 2021).

Graças às investigações filogenéticas moleculares, descobriu-se que o gênero *Fusarium* está distribuído em 23 linhagens monofiléticas, chamadas complexos de espécies (GEISER *et al.* 2021; O'DONNELL *et al.* 2022). Consideradas de grande relevância tanto para patologistas de plantas quanto para micotoxicologistas, essas linhagens integram seis complexos principais: o complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* (FFSC); o complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC); o complexo de espécies *Fusarium solani* (FSSC); o complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC); o complexo de espécies *Fusarium sambucinum* (FSAMSC); e o complexo de espécies *Fusarium tricinctum* (FTSC) (O'DONNELL *et al.* 2022).

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Obtenção dos frutos

O material utilizado para o isolamento foi o fruto da pitaia (*Hylocereus costaricensis*), fornecido pela empresa DS INDÚSTRIA COM. E EXP. LTDA, localizado no Perímetro irrigado Tabuleiro de Russas, S/N Lotes C3/334 – Zona Rural – CEP: 62900-000 Russas/CE – Brasil; e da empresa Pitaya Tropical - Projeto irrigado Jaguaribe Apodi, localizada na chapada do Apodi, S/N Lote E52 - Zona Rural – CEP: 629300-000 - Limoeiro do Norte- CE.

Após o recebimento dos frutos no laboratório do mestrado do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – *Campus* Limoeiro do Norte, eles foram submetidos a uma lavagem e desinfecção para eliminar patógenos oportunistas de contaminação ambiental. Os frutos foram colocados em um recipiente contendo uma solução de hipoclorito de sódio (1400 mL de hipoclorito a 1% para 800 mL de água) por 3 minutos. Depois, eles foram retirados e colocados em água ADE (água destilada esterilizada) por 30 segundos, repetindo esse procedimento. Após esse período, foram colocados para secar em papel Kraft, esperando até sua secagem por completo.

Figura 5: Frutos de pitaia em processo de higienização (A); Frutos em processo de secagem (B); Frutos em câmara úmida para desenvolvimento de fungos (C).



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Em seguida, os frutos foram colocados em uma placa de Petri devidamente esterilizada em estufa a 170 °C por 30 minutos, dentro de um recipiente com papel umedecido no fundo, contendo 100 mL de água destilada autoclavada (ADE), sendo posteriormente vedado com tampas, formando uma câmara úmida, ambiente propício ao desenvolvimento e à

esporulação fúngica. Esse procedimento é conhecido como método direto de isolamento, proposto por Alfenas *et al.* (2007). Após cinco dias, observaram-se esporos fúngicos nas cores preta, cinza e branca. Esses esporos foram, então, levados ao laboratório de microbiologia para a preparação de lâminas destinadas à identificação. A Figura 5 apresenta as etapas do processo de higienização dos frutos.

## **5.2 Preparação de lâminas para identificação**

Em laboratório, foi extraída a massa de micélio presente nos frutos de pitaia, sendo colocada sobre uma lâmina. Em seguida, foi adicionada uma solução composta por 1 mL de glicerina líquida e 1 mL de água, na proporção de 1:1.

Posteriormente, uma lamínula foi posicionada sobre a amostra, que foi então examinada ao microscópio óptico. Durante a observação, os focos de esporos fúngicos foram observados, e imagens (fotografias e vídeos) foram capturadas para posterior identificação.

## **5.3 Cultivo de fungos: isolamento direto e indireto**

Os esporos dos fungos que se desenvolveram nos frutos foram inoculados em placas contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e, em seguida, mantidos em estufa à temperatura ambiente, pois esta se encontrava desligada. Após uma semana, período médio para o crescimento dos fungos, as lâminas para observação e confirmação dos mesmos foram preparadas. O conteúdo das lâminas foi transferido para novas placas com meio de cultura BDA, visando ao isolamento dos fungos presentes.

Esse método foi utilizado inicialmente para a identificação dos primeiros fungos. Posteriormente, as placas com os fungos cultivados foram encaminhadas ao laboratório de Fitopatologia da UFRSA – Universidade Federal Rural do Semiárido, localizada em Mossoró, Rio Grande do Norte, para análises e procedimentos subsequentes. Amostras dos frutos também foram submetidas ao método de isolamento indireto, proposto por Alfenas *et al.* (2007), que consiste na transferência de porções infectadas do tecido do hospedeiro para o meio de cultura BDA.

A metodologia descrita por Alfenas *et al.* (2007) foi utilizada para o cultivo de fungos, envolvendo inicialmente o isolamento direto. Esse método consiste na transferência do órgão infectado pelo patógeno para um meio de cultura, utilizando um estilete.

## 5.4 Purificação de fungos

A purificação dos fungos foi realizada por dois métodos: monosporização e ponto de hifa. O primeiro foi o de monosporização, que consiste na diluição seriada de uma colônia de fungos, a fim de obter culturas puras. Esse processo seguiu o protocolo do laboratório da UFERSA, na qual primeiramente foi selecionada uma placa contendo uma colônia de *Fusarium*. Esta foi levada a uma câmara de fluxo, onde a colônia foi misturada com 10 mL de água previamente autoclavada por duas vezes. Utilizando uma alça de inoculação, a colônia foi raspada e homogeneizada na água.

Em seguida, 1 mL dessa suspensão foi transferido para um tubo contendo 10 mL de água autoclavada, criando uma suspensão de esporos após agitação. A diluição seriada dos esporos iniciou-se com a coleta de 1 mL da suspensão inicial, adicionada a um tubo com 9 mL de água autoclavada. Esse processo foi repetido cinco vezes, resultando em uma diluição final de  $1 \times 10^{-5}$ .

Após o preparo das diluições, 1 mL de cada suspensão foi transferido para placas contendo meio de cultura BDA. Com o auxílio de uma alça de inoculação esterilizada, a suspensão foi espalhada pelo meio. As placas foram incubadas em BOD a 25 °C por 24 horas. Após esse período, selecionaram-se as colônias monospóricas a partir das diluições em que os monósporos estavam mais visíveis e separados, especialmente nas placas da diluição  $1 \times 10^{-5}$ . Os esporos foram transferidos para novas placas utilizando uma seringa esterilizada. O procedimento foi realizado com duas colônias de *Fusarium*, inicialmente observadas como possíveis colônias de espécies distintas.

Em seguida, esses monósporos foram encaminhados ao laboratório de Microbiologia do IFCE – Campus Limoeiro do Norte, e incubados em BOD a 25 °C, com observação diária de seu desenvolvimento. O processo de monosporização é fundamental para a obtenção de culturas fúngicas puras, permitindo estudos detalhados sobre a morfologia, fisiologia, genética e outros aspectos biológicos dos fungos.

O segundo método de purificação foi o de ponta de hifa, proposto por *Alfenas et al.* (2007), que consiste na transferência da extremidade de uma hifa (estrutura filamentosa do fungo) de uma placa replicada para outra placa. Para esse isolamento, utilizou-se uma placa em estágio inicial de crescimento fúngico. Com o auxílio de uma seringa e de uma lupa, foi possível observar e selecionar precisamente a ponta da hifa. Após a retirada, a hifa foi

transferida para uma nova placa de Petri, permitindo seu crescimento e desenvolvimento, de modo a isolar um fungo específico.

Esse processo criterioso garante que apenas o fungo desejado seja cultivado, eliminando a presença de outros organismos e possibilitando estudos mais precisos sobre o patógeno isolado.

### **5.5 Preservação de fungos**

O processo seguiu o protocolo do laboratório de fitopatologia da UFCA-Cariri, onde o mesmo segue o método de Castellani de preservação. Inicialmente, eppendorfs de 1,5 mL contendo água destilada foram autoclavados por 15 minutos a 121 °C. Após a autoclavagem, os tubos foram deixados sobre a bancada para esfriar em condições ambiente. No dia seguinte, os eppendorfs foram abertos cuidadosamente dentro de uma câmara de fluxo laminar, previamente esterilizada com luz ultravioleta UV por 20 minutos.

Na mesma câmara, placas contendo fungos foram abertas, uma de cada vez, para a retirada de discos fúngicos com o auxílio de uma ponteira de pipeta automática esterilizada. Cada eppendorf recebeu cinco discos de meio de cultura BDA (Agar Batata Dextrose) que continha crescimento miceliais de colônias fúngicas, sendo posteriormente selados com filme plástico, que também foi previamente esterilizado na câmara de fluxo. Este procedimento foi realizado 5 vezes, sendo uma vez para cada tipo de fungo.

### **5.6 Teste de patogenicidade**

O teste de patogenicidade foi conduzido em etapas sequenciais para verificar a associação entre os fungos isolados e os sintomas observados na pitaia. Inicialmente, realizou-se o teste preliminar antes da purificação dos isolados, com o objetivo de confirmar que os fungos purificados seriam os mesmos que cresceriam nos frutos. Após o isolamento e purificação, os fungos foram inoculados nos frutos, com os procedimentos realizados em duplicata.

Os frutos foram submetidos à assepsia, sendo imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1,5% por três minutos. Em seguida, foram lavados com água destilada esterilizada em autoclave (120°C por 15 minutos) e dispostos sobre papel Kraft para secagem.

Foi preparada uma suspensão de esporos, cuja concentração foi determinada com auxílio da câmara de Neubauer. A contagem foi realizada duas vezes, e a média foi calculada utilizando a fórmula  $(L1+L2) / 2 = \text{MÉDIA}$ . O valor médio obtido foi multiplicado por 50.000 para estimar o número total de esporos na suspensão. Com base no  $C1V1 = C2V2$  e utilizando um fator de correção de 50.000, preparou-se uma diluição de  $10^6$  esporos por ml. Esse processo foi realizado no primeiro teste de patogenicidade, que foi essencial para definir a quantidade da solução de suspensão que seria utilizada nos testes de patogenicidade realizados posteriormente (CALIGIORE-GEI; VALDEZ, 2015).

Após a secagem, os frutos foram dispostos em bandejas, nas quais foram feitos dois furos com o auxílio de uma ponteira de pipeta automática estéril. Em um dos furos, foi aplicado 2  $\mu\text{L}$  da suspensão de esporos ( $10^{-6}$ ) com pipeta; no outro, adicionou-se um disco de BDA com sete dias de crescimento micelial fúngico, retirado com uma ponteira de pipeta automática de 8 mm devidamente esterilizada. Para favorecer o desenvolvimento dos fungos, as bandejas foram cobertas com sacos plásticos transparentes, formando câmaras úmidas e criando um ambiente propício ao crescimento fúngico. O teste foi realizado seguindo os postulados de Koch, conforme descrito por Luo *et al.* (2014). Essa metodologia possibilitou a inoculação de frutos assintomáticos com os fungos isolados, permitindo observar o desenvolvimento de sintomas. Os sintomas registrados nos frutos inoculados foram comparados com os inicialmente observados, possibilitando a avaliação da patogenicidade dos isolados.

### **5.7 Extração de DNA e amplificação de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)**

Inicialmente, foram identificados os microtubos de plástico com fundo cônico de 2 mL contendo quatro microesferas de vidro (beads) esterilizadas, utilizando códigos correspondentes a cada amostra.

Os isolados fúngicos foram previamente cultivados por sete dias em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), sobreposto com uma membrana semipermeável de celofane, e mantidos a 25 °C. Os micélios aéreos foram coletados com o auxílio de uma ponteira de pipeta esterilizada e transferidos para os microtubos previamente identificados.

O DNA genômico foi extraído com o *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega Corporation, Fitchburg, EUA), conforme as instruções do fabricante. As concentrações de DNA foram determinadas visualmente por meio de eletroforese em gel de

agarose a 1%, comparando a intensidade da banda com um marcador de peso molecular com escala de 1 kb (Invitrogen 1 Kb Plus DNA Ladder; Axygen Scientific Inc., Union City, EUA).

Depois da extração do DNA, as amostras foram submetidas ao PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para amplificação dos genes EF1- $\alpha$  (fator de alongamento da tradução 1- $\alpha$ ), utilizando os oligonucleotídeos EF1 (5'-ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3') e EF2 (5'- GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3') (O'DONNELL *et al.*, 1997), enquanto para a segunda maior subunidade da RNA polimerase II (RPB2), com os oligonucleotídeos RPB2-5F2 (5'- GAYGAYCGTGATCACTTYGG-3') (REEB, LUTZONI, ROUX, 2004) e RPB2-7cR (5'- CCCATRGCTGYTTTRCCCAT-3') (LIU *et al.*, 1999). Foram usados para amplificação por PCR os componentes: 6,25  $\mu$ L de GoTaq® Green Master Mix (2X) (Promega Corporation), 0,5  $\mu$ L de cada primer, 4,25  $\mu$ L de Água nuclease-Free e 1  $\mu$ L de DNA, totalizando 12,5  $\mu$ L. Para essa análise, faz-se necessário o uso de 1  $\mu$ L de um controle negativo, ou seja, que não possua DNA. Com isso, o mesmo foi incluído em todas as reações de PCR.

Com o uso de um termociclador Biocycler MJ 96 (Applied Biosystems, Waltham, EUA), as reações foram realizadas, utilizando as seguintes condições:

- Para EF1- $\alpha$  - desnaturação inicial a 94 °C por 1 min, seguida por 34 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 50 °C por 45 s, extensão a 72 °C por 1 min e uma extensão final a 72 °C por 5 min;
- Para RPB2 - desnaturação inicial a 94 °C por 90 s, seguida por 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 55 °C por 90 s, extensão a 68 °C por 2 min e uma extensão final a 68 °C por 5 min.

O PCR e os produtos gerados pela sua amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% em Tris-acetato 1.0 x ácido EDTA (TAE), corados com GelRed™ (Biotium Inc., Hayward, EUA) e, em seguida, fotografados sob luz ultravioleta (UV). Utilizando o kit de purificação NucleoSAP® (Cellco Biotec do Brasil Ltda, Brasil), os produtos de PCR foram purificados seguindo as instruções do fabricante e sequenciados em ambas as direções com os mesmos oligonucleotídeos da amplificação usando um sequenciador ABI PRISM 3100 - Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems), disponível na Plataforma de Sequenciamento do Laboratório Central do Centro de Biociências (LABCEN/CCB) da Universidade Federal de Pernambuco, localizada em Recife, Brasil (SANTOS 2022). Foi utilizado o software Staden Package® v. 2.0 para analisar os cromatogramas gerados pelo sequenciamento dos genes EF1- $\alpha$  e RPB2 dos isolados e para a montagem das sequências

(STADEN *et al.*, 1998). As sequências obtidas foram alinhadas com o programa ClustalX v. 1.83 (THOMPSON *et al.*, 1997), no software MEGA v. 7.0 (KUMAR *et al.*, 2016), sendo os loci individuais ajustados manualmente quando necessário.

Sequências de isolados de referência de *Fusarium* foram obtidas do GenBank e incluídas no alinhamento múltiplo de cada gene. O método de Máxima Verossimilhança (MV) foi empregado para as análises filogenéticas, tanto para os genes individualmente quanto para os combinados. As sequências obtidas foram comparadas com as de isolados de referência de espécies de *Fusarium*, considerando a base de dados FUSARIOID-ID (<https://www.fusarium.org/>) e os trabalhos mais recentes publicados sobre espécies do complexo FFSC.

Com o auxílio do programa MEGA 7 (KUMAR *et al.*, 2018), as análises de MV foram realizadas utilizando o modelo GTR + I + G, com 1000 repetições para estimar a confiabilidade dos ramos das árvores filogenéticas geradas

Figura 6 apresenta, de forma esquemática, as etapas para o processo de amplificação por PCR.

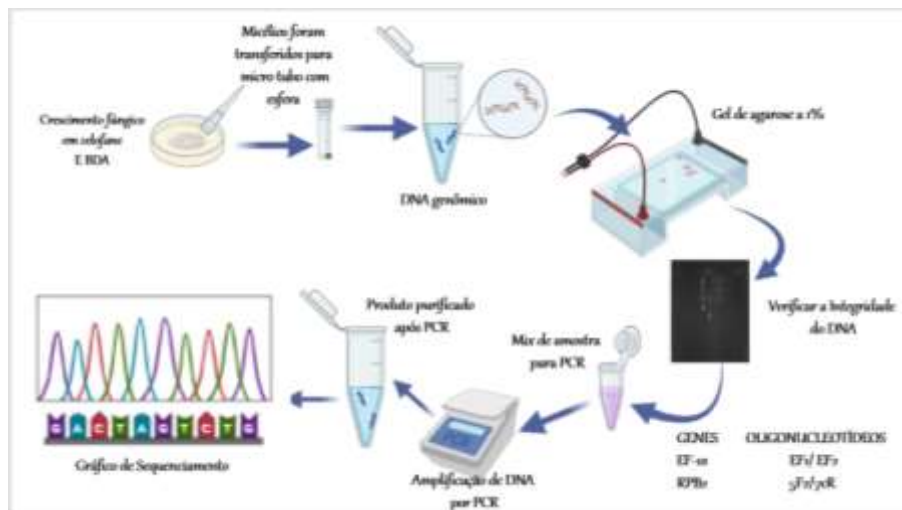
## 5.8 Análise filogenética

Foi utilizado o software Staden Package® v. 2.0 para analisar os cromatogramas gerados pelo sequenciamento dos genes EF1- $\alpha$  e RPB2 dos isolados e para a montagem das sequências (STADEN *et al.*, 1998). As sequências obtidas foram alinhadas com o programa ClustalX v. 1.83 (THOMPSON *et al.*, 1997), no software MEGA v. 7.0 (KUMAR *et al.*, 2016), sendo os loci individuais ajustados manualmente quando necessário.

Sequências de isolados de referência de *Fusarium* foram obtidas do GenBank e incluídas no alinhamento múltiplo de cada gene. O método de Máxima Verossimilhança (MV) foi empregado para as análises filogenéticas, tanto para os genes individualmente quanto para os combinados. As sequências obtidas foram comparadas com as de isolados de referência de espécies de *Fusarium*, considerando a base de dados FUSARIOID-ID (<https://www.fusarium.org/>) e os trabalhos mais recentes publicados sobre espécies do complexo FFSC.

Com o auxílio do programa MEGA 7 (KUMAR *et al.*, 2018), as análises de MV foram realizadas utilizando o modelo GTR + I + G, com 1000 repetições para estimar a confiabilidade dos ramos das árvores filogenéticas geradas

Figura 6 - Esquema ilustrativo da metodologia de realização da PCR.



Fonte: Elaborada pela autora (2024) com uso da plataforma BioRender.com.

## 5.9 Isolamento de fungos dos solos

As amostras foram coletadas dos lotes dos Perímetros irrigados do Tabuleiro de Russas, S/N Lotes C3/334 – Zona Rural – CEP: 62900-000 Russas/CE – Brasil e Pitaya Tropical - Projeto irrigado Jaguaribe Apodi, localizada na chapada do Apodi, S/N Lote E52 - Zona Rural – CEP: 629300-000 - Limoeiro do Norte- CE. A incubação das amostras de solo foi realizada após a esterilização das amostras coletadas das áreas de cultivo das pitaias de uma empresa parceira.

Inicialmente, 10 gramas de cada amostra foram pesadas e esterilizadas na câmara de fluxo laminar. Em seguida, as amostras de solo foram submetidas a uma suspensão em 90 mL de água peptonada a 0,1%, esterilizada em autoclave a 121 °C por 15 minutos. O objetivo dessa suspensão foi liberar os esporos e fragmentos de micélio presentes no solo para o meio de cultura. A mistura foi homogeneizada por agitação manual e descanso por 10 minutos, garantindo a completa distribuição dos componentes.

Para o isolamento dos fungos, foi aplicada a técnica de diluição seriada com inoculação em placas de Petri, adaptada conforme o método descrito por Barnett, Hunter

(1998) e Tortora *et al.* (2012). Após a homogeneização da suspensão, 1 mL da solução de solo foi retirado e transferido, com o auxílio de uma pipeta automática estéril, para um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada estéril, configurando a diluição  $10^{-2}$ . O procedimento foi repetido sequencialmente até obter a diluição de  $10^{-6}$ . Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram transferidas para placas de Petri contendo o meio de cultura ágar batata dextrose (BDA) com antibiótico tetraciclina. As alíquotas foram espalhadas sobre a superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski, garantindo a completa absorção. Ao todo, 24 placas foram utilizadas para o isolamento dos fungos presentes nas amostras de solo, e todos esses procedimentos foram realizados dentro da câmara de fluxo laminar devidamente esterilizada.

Após a inoculação, as placas foram identificadas e incubadas a 28 °C. A partir do terceiro dia de incubação, as placas foram observadas, e as colônias brancas formadas foram transferidas (com o auxílio de uma seringa e agulha) para novas placas de Petri com meio BDA e tetraciclina, com o objetivo de purificar as culturas. O crescimento micelial foi monitorado com o auxílio de um microscópio estereoscópio. Em alguns casos, ocorreram contaminações nas culturas isoladas, o que resultou na realização de novos repiques em meio BDA para garantir a pureza das culturas.

### 5.10 Isolamento de fungos de raiz

As amostras de solo provenientes de Tabuleiro de Russas e da Chapada do Apodi foram levadas ao Laboratório de Microbiologia do IFCE – *Campus* Limoeiro do Norte, onde foram retiradas as raízes misturadas ao solo. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente para remoção do excesso de solo aderido. Posteriormente, foram submetidas aos procedimentos de higienização, os mesmos utilizados para a desinfecção dos frutos.

Após a secagem, aplicou-se o método de isolamento indireto proposto por Alfenas *et al.* (2007), adaptado em virtude da ausência de porções visivelmente infectadas, uma vez que as raízes superficiais eram estruturalmente finas e penetradas. Assim, estas foram cortadas e colocadas em meio de cultura BDA, mantido em estufa a temperatura entre 25 e 30 °C, de acordo com a variação ambiente. Após dois dias, observou-se o crescimento micelial, que foi separado em placas com o objetivo de isolar as colônias para posterior observação em lâminas microscópicas.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Identificação de Fungos

Observou-se uma coleção de cinco isolados obtidos de frutos sintomáticos por meio do isolamento direto e dois obtidos pelo método de isolamento indireto de pitaia do Vale do Jaguaribe, fornecidos pela empresa DS Indústria Com. e Exp. Ltda.

No primeiro método empregado, foi possível identificar uma maior diversidade de espécies de fungos. Contudo, durante o processo de desenvolvimento, os fungos dos gêneros *Bipolaris* e *Curvularia* não apresentaram crescimento adequado para dar continuidade às etapas subsequentes do isolamento, impossibilitando sua obtenção.

O gênero *Rhizopus* é conhecido por causar podridão mole em frutas e vegetais durante a pós-colheita. Embora tradicionalmente seja considerado um saprófito (MESQUIDA PESCI *et al.*, 2025), também pode atuar como fungo oportunista, aproveitando-se de danos causados aos frutos durante a colheita, transporte e armazenamento. Esse risco aumenta principalmente quando os frutos entram em contato com botões florais da planta, locais em que o fungo pode se instalar e causar contaminação (SANTOS *et al.*, 2022). Devido a essas características, *Rhizopus* não foi considerado neste estudo, mas será avaliado em trabalhos posteriores.

Na Figura 7 observa-se o processo utilizado para o isolamento dos fungos, que seguiu o método de isolamento direto. Em seguida, na Tabela 1, são apresentados os isolados obtidos pelo primeiro método.

Figura 7 - Método de Isolamento Direto



Fonte: Elaborada pela autora (2024) com uso da plataforma BioRender.com.

Tabela 1 - Métodos de Isolamento de fungos.

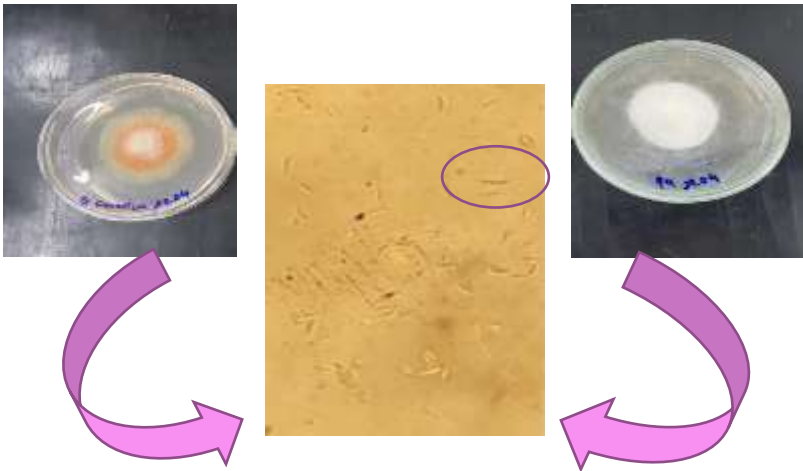
| Métodos de isolamento                                                                               |                                               |           |                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------|------------------------------------------|
| Isolamento direto                                                                                   | Isolamento Indireto                           | Substrato | Local de coleta                          |
| <i>Fusarium 1</i><br><i>Fusarium 2</i><br><i>Bipolares</i><br><i>Curvullaria</i><br><i>Rizophus</i> | <i>Colletotrichum</i><br><i>Lasiodiplodia</i> | Fruto     | Tabuleiro de Russas/<br>Chapada do Apodi |

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Os esporos de *Fusarium* (

Figura 8) podem surgir como microconídios, que são menores e têm forma ovalada. Já os macroconídios são conídios segmentados, com septos que os dividem. Os clamidósporos, por sua vez, são esporos de resistência que se formam intercalados ao longo da hifa ou nas suas extremidades, em posição terminal. Essas variações na estrutura dos esporos são essenciais para a identificação dos fungos (LESLIE; SUMMERELL, 2006). Nas placas mostradas na Figura 8, temos placas com as duas espécies diferentes de *Fusarium* encontradas, podendo ser observada a diferença entre as colônias formadas nas placas, porém, microscopicamente não foi possível observar suas diferenças.

Figura 8 - Imagens das duas espécies de *Fusarium* em placas e uma imagem microscópica de esporos de *Fusarium*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

A Figura 9 evidencia o gênero *Bipolares*. Estes fungos podem apresentar conídios curvos com coloração marrom, extremidade afuniladas e apresenta de cinco a onze septos (COSTA, SILVA, COTA, 2014).

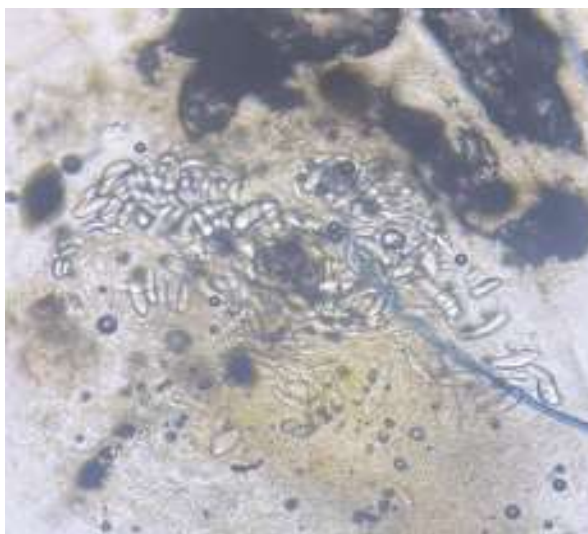
Figura 9 - Imagem microscópica de esporo de *Bipolares*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

O fungo *Cuvullaria* (Figura 10) tem como sua principal característica, conídios curvos, sendo semelhante ao formato de bumerangue, apresentando coloração amarronzada (MANAMGODA *et al.* 2015).

Figura 10 - Imagem microscópica de um emaranhado de esporos de *Cuvullaria*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

O gênero *Rizophus* é caracterizado por ter os esporângios de cor preta ou marrom escuro, com forma globular, como é evidenciado na Figura 11 (SANTOS, SANTOS, CASTRO, 2019).

Figura 11 - Imagem microscópica de espora de *Rizophus*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

No segundo processo de isolamento, que consistiu em retirar um pedaço do fruto lesionado e colocá-lo em meio de cultura para observar o aparecimento dos fungos causadores da lesão, foram identificados os fungos *Lasiodiplodia* e *Colletotrichum* através do método de isolamento indireto (WANG *et al.*, 2020). A Figura 12 segue o processo de isolamento indireto.

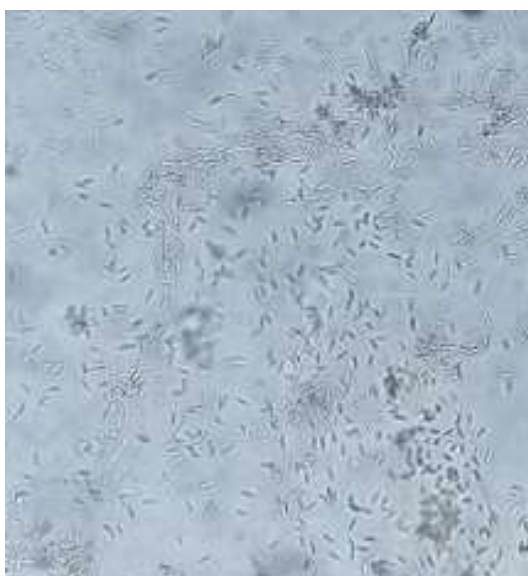
Figura 12 - Método de Isolamento Indireto



Fonte: Elaborada pela autora (2024) com uso da plataforma BioRender.com.

Na figura 13, tem-se a imagem do *Colletotrichum*, identificado pelo método indireto. A estrutura de um fungo é formada por hifas, esporângios e esporos, incluindo macroconídios e microconídios. Essas características estruturais permitem uma identificação preliminar do gênero do fungo, já que cada espécie apresenta uma morfologia única. Por exemplo, o *Colletotrichum* possui esporos que se assemelham a bastonetes transparentes (PULLEN *et al.*, 2025).

Figura 13 - Imagem microscópica de esporo de *Colletotrichum*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

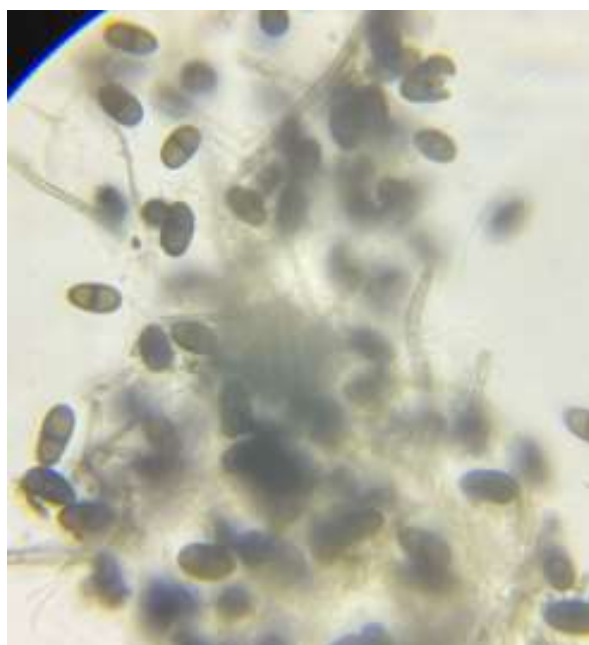
No caso de *Lasiodiplodia*, seus esporos também apresentam formato de bastonetes, mas variam quanto à cor e à septação: alguns são escuros e septados, enquanto outros são transparentes. Essa diferença está relacionada à idade dos esporos, sendo os mais escuros os mais antigos (ALVES *et al.*, 2008).

Aliada à identificação do gênero, a observação dos frutos infectados (Figura 15: Fruto de pitaia – (A) Antracnose causada por *Colletotrichum* sp.; (B) Podridão causada por *Fusarium* sp.; (C) Podridão causada por *Bipolaris*; e (D) Podridão causada por *Rhizopus*) indica sintomas de doenças provocadas pelos fungos citados ao longo do trabalho.

A antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* é uma das doenças vegetais mais destrutivas do mundo, ocupando o oitavo lugar entre as doenças pós-colheita. As perdas anuais atribuídas a essa doença somam pelo menos dezenas de bilhões de dólares em escala

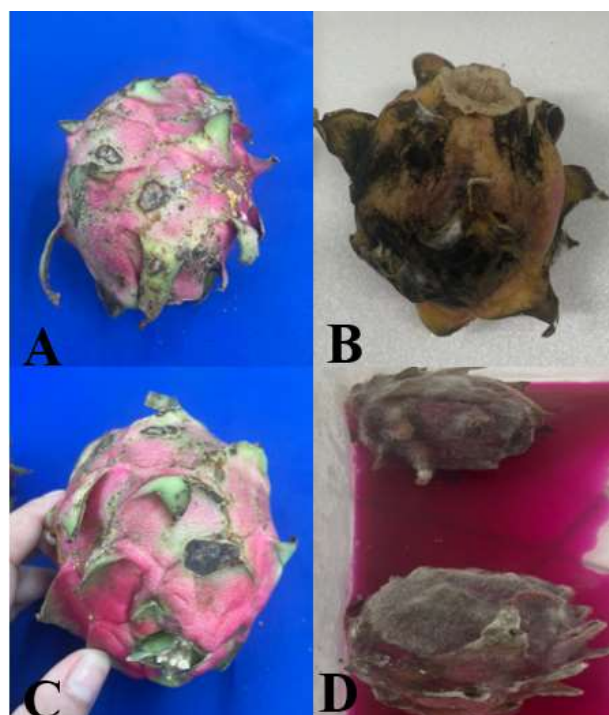
mundial, afetando diversas frutas, como manga, tomate, maçã e figo, entre outras (WU *et al.*, 2023).

Figura 14 - Imagem microscópicas de esporos mais velhos de *Lasiodiplodia*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Figura 15: Fruto de pitaia (A) - Antracnose causada por *Colletotrichum* sp; (B) - Podridão causada por *Fusarium* sp; (C) - Podridão causada por *Bipolares* e (D) - Podridão causada por *Rizhopus*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Conforme apontado por Wang e Wu (2020), o fungo *Colletotrichum* possui grande importância econômica em diversas culturas, o que ressalta a necessidade da realização de PCR para identificar a espécie específica responsável pelos danos na cultura estudada, possibilitando um controle mais eficaz, especialmente no contexto do manejo orgânico da pitaia.

O gênero *Fusarium*, introduzido por Link em 1809, merece destaque, pois atualmente engloba 431 espécies e 3.558 isolados e híbridos não classificados, conforme as listas de taxonomia do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Esses fungos apresentam ampla variedade de estilos de vida e ciclos de infecção, explorando diferentes ambientes, hospedeiros, nichos ecológicos e fontes de nutrientes (ARMER *et al.*, 2024).

O fungo *Fusarium* se destaca por causar a podridão de *Fusarium* na pitaia, uma doença com impacto econômico significativo em diversas culturas agrícolas. Seus sintomas incluem murcha, podridão em caule, raízes e frutos, além de manchas nas flores e descoloração de sementes. A identificação correta da espécie é essencial, pois cada uma pode ocasionar danos distintos e requerer estratégias específicas de controle (YANG *et al.*, 2022).

Considerando a diversidade de espécies de *Fusarium*, *Colletotrichum* e *Lasiodiplodia*, e levando em conta fatores como região, tipo de solo, condições climáticas, práticas pós-colheita e a cultura em que se desenvolvem, foram selecionadas previamente os isolados identificados como *Fusarium* para dar seguimento ao estudo. As colônias foram repicadas, e o resumo dos fungos isolados está apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 : Codificação dos fungos escolhidos

| Espécie                        | Substrato                | Codificação |
|--------------------------------|--------------------------|-------------|
| <i>Fusarium 1</i>              | Primeiro isolamento      | F 1.1       |
| <i>Fusarium 1</i>              | Replicação do isolamento | F 1.2       |
| <i>Fusarium 2</i>              | Replicação do isolamento | F 2.2       |
| <i>Colletotrichum/Fusarium</i> | Primeiro isolamento      | F 4         |

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Realizou-se o teste de patogenicidade para confirmar a capacidade patogênica dos fungos. Esses testes foram conduzidos conforme o protocolo estabelecido, e os resultados estão ilustrados nas Figuras 16 e 17. Na Figura 16, observa-se o primeiro dia de acompanhamento do experimento de patogenicidade.

Figura 16 - Teste de patogenicidade – Dia 1 Pitaia controle (A); Fungo F 1.1 (B); Fungo F 4 (C); Fungo F 1.2 (D) e Fungo F 2.2 (E).



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

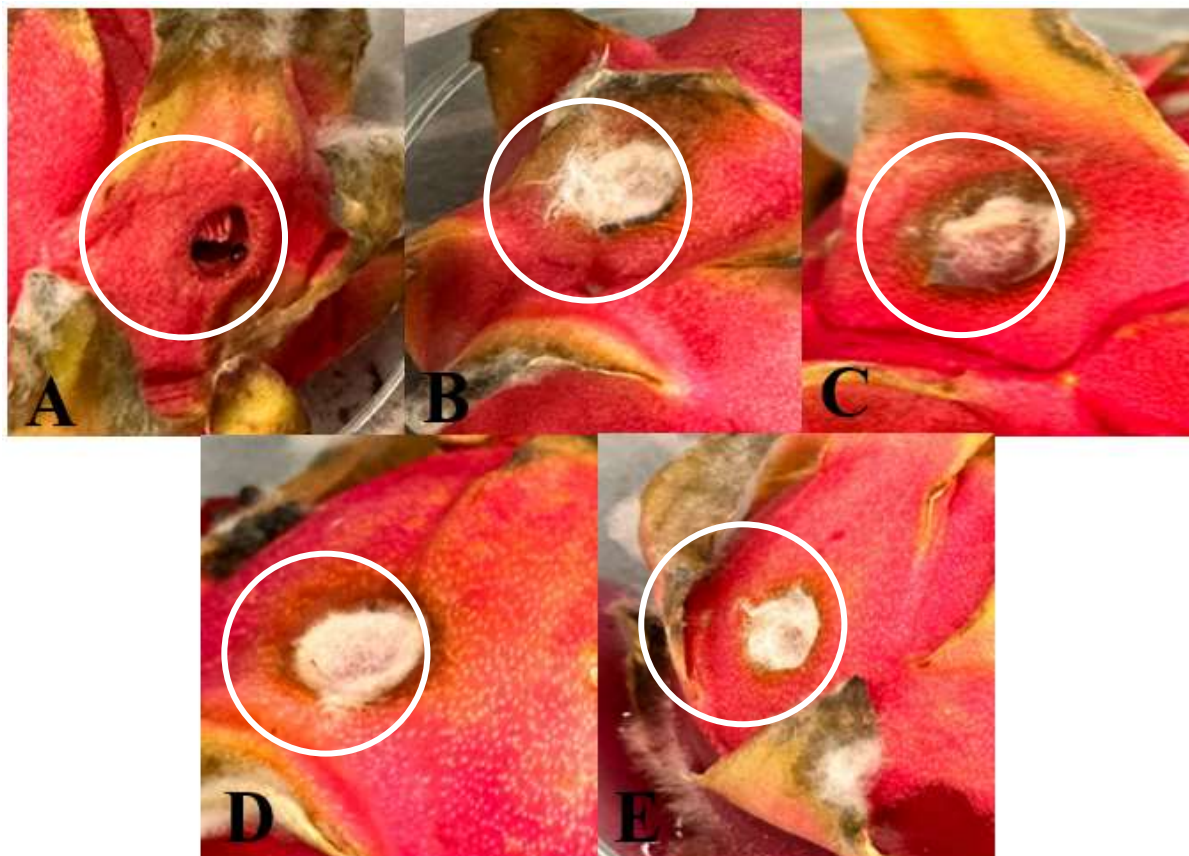
Na Figura 16, a imagem 16A, correspondente ao controle, apresenta apenas o ferimento, sem quaisquer alterações visuais além da cicatrização natural do fruto. Na imagem 16B, evidenciam-se manchas escurecidas ao redor do ferimento, associadas a um aspecto lesional mais pronunciado, bem como à presença de micélio branco desenvolvido no interior da lesão. Já na imagem 16C, também são verificadas manchas escuras, embora em menor extensão em comparação ao fruto anterior, acompanhadas de crescimento micelial branco em parte da lesão.

No fruto representado pela Figura 16D, observa-se um crescimento micelial mais intenso e evidente em relação aos demais. Por sua vez, no fruto 16E, o crescimento micelial manifesta-se predominantemente em um dos lados do ferimento, apresentando-se de forma bastante visível, acompanhado de alterações no tecido circundante, caracterizado por manchas claras.

Dessa forma, desde o primeiro dia de observação, os resultados do teste de patogenicidade demonstraram que todas as cepas fúngicas testadas apresentaram capacidade fitopatogênica sobre a espécie de pitaia em estudo. Entretanto, a continuidade do experimento

mostrou-se necessária para monitorar a evolução e a intensidade do ataque fúngico ao longo do tempo.

Figura 17: Teste de patogenicidade – Dia 4 Pitaia controle (A); Fungo F 1.1 (B); Fungo F 4 (C); Fungo F 1.2 (D) e Fungo F 2.2 (E).



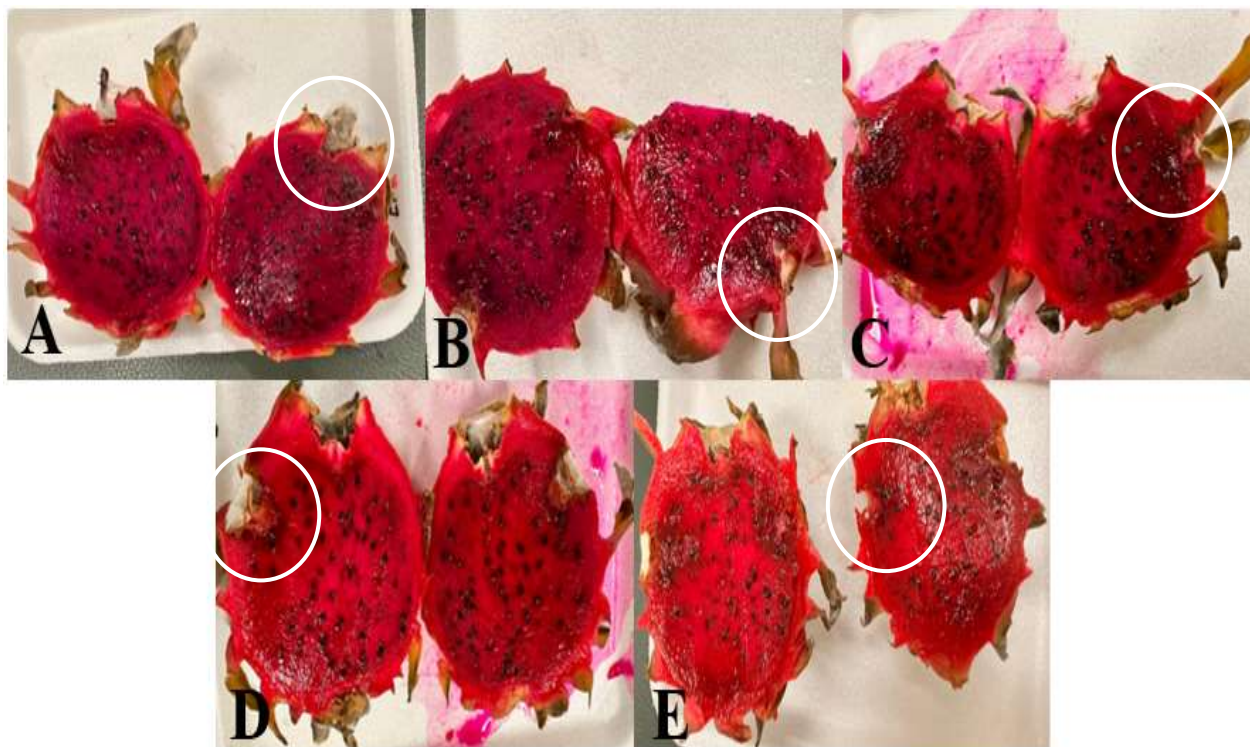
Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Observou-se que, no fruto controle 17A, embora tenha ocorrido desenvolvimento fúngico nas brácteas, o ferimento causado no teste permaneceu sem apresentar sintomas de doença além da cicatrização natural. Na Figura 17B, nota-se o desenvolvimento exacerbado de micélio em todo o ferimento, diferindo da Figura 17C, onde o crescimento micelial foi menos intenso; entretanto, este fruto apresentou manchas necróticas em coloração marrom-amarelada, em progressão ao longo da lesão.

Nas Figuras 17D e 17E, verificam-se ferimentos com desenvolvimento micelial semelhantes, porém, na imagem 17D, as manchas são mais escuras em comparação às observadas na imagem 17E, confirmando o resultado registrado desde o primeiro dia do teste.

Ao final do experimento de patogenicidade, foi realizado o corte da pitaia, evidenciando os danos internos causados pelo fungo ao fruto após quatro dias de ensaio (Figura 18).

Figura 18 - Experimento Retirada - Pitaia controle (A); Fungo F 1.1 (B); Fungo F 4 (C); Fungo F 1.2 (D) e Fungo F 2.2 (E).



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

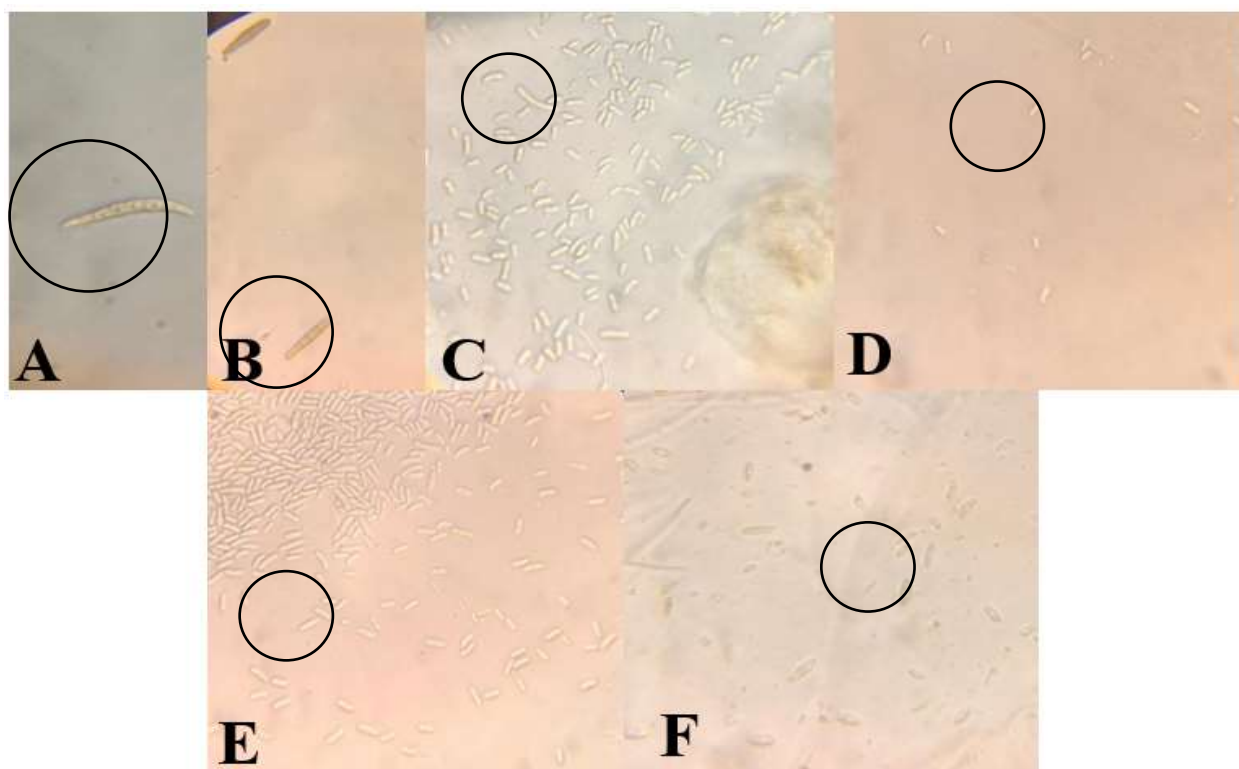
Ao longo do período de estudo, foi possível observar o desenvolvimento de micélio nos ferimentos dos frutos, evidenciando a patogenicidade dos agentes. Ao final do experimento, realizou-se o corte dos frutos para avaliar o desenvolvimento interno das infecções fitopatogênicas.

Na Figura 18A, correspondente ao fruto controle, não se observam ataques internos. Já na Figura 18B, verifica-se crescimento micelial interno, acompanhado de coloração vermelho-escura ao redor do ferimento. Na Figura 18C, nota-se uma coloração bastante escura, semelhante à de vinho. Na Figura 18D, observa-se crescimento micelial interno mais intenso, com a lesão apresentando-se mais evidente do que nas demais figuras, além de uma coloração vermelho-escura que se estendeu pela lateral do fruto. Por sua vez, na Figura 18E, a lesão interna restringe-se à região ao redor do ferimento, apresentando inicialmente coloração amarronzada que evolui para tons avermelhados.

De modo geral, em todos os frutos inoculados com colônias fúngicas foram observados aspectos necróticos, tanto externos quanto internos, comprometendo ainda mais a qualidade do fruto.

Após a diagnose da patogenicidade, prepararam-se lâminas a partir das lesões (Figura 19), a fim de comparar os esporos presentes com os dos fungos previamente inoculados

Figura 19: Lâminas preparadas a partir das pitaias do teste de patogenicidade - Pitaia controle (A); Fungo F 1.1 (B); - Fungo F 4 (C); Fungo F 1.2 (D) e Fungo F 2.2 (E).



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Pode-se observar a presença de esporos em todas as lâminas feitas a partir das lesões, inclusive no fruto controle, conforme demonstrado na Figura 19, imagens A e B. A presença desses esporos foi atribuída a fungos previamente existentes no fruto, possivelmente localizados em suas brácteas.

Observou-se ainda o surgimento de um esporo distinto, pertencente a um gênero diferente dos demais; contudo, tal ocorrência não foi aprofundada, uma vez que não constituía o foco deste estudo.

Nas demais imagens (Figura 19, C, D, E e F), evidenciam-se esporos característicos do gênero *Fusarium*, com morfologia semelhante entre si.

## 6.2 PCR e Análise Filogenética

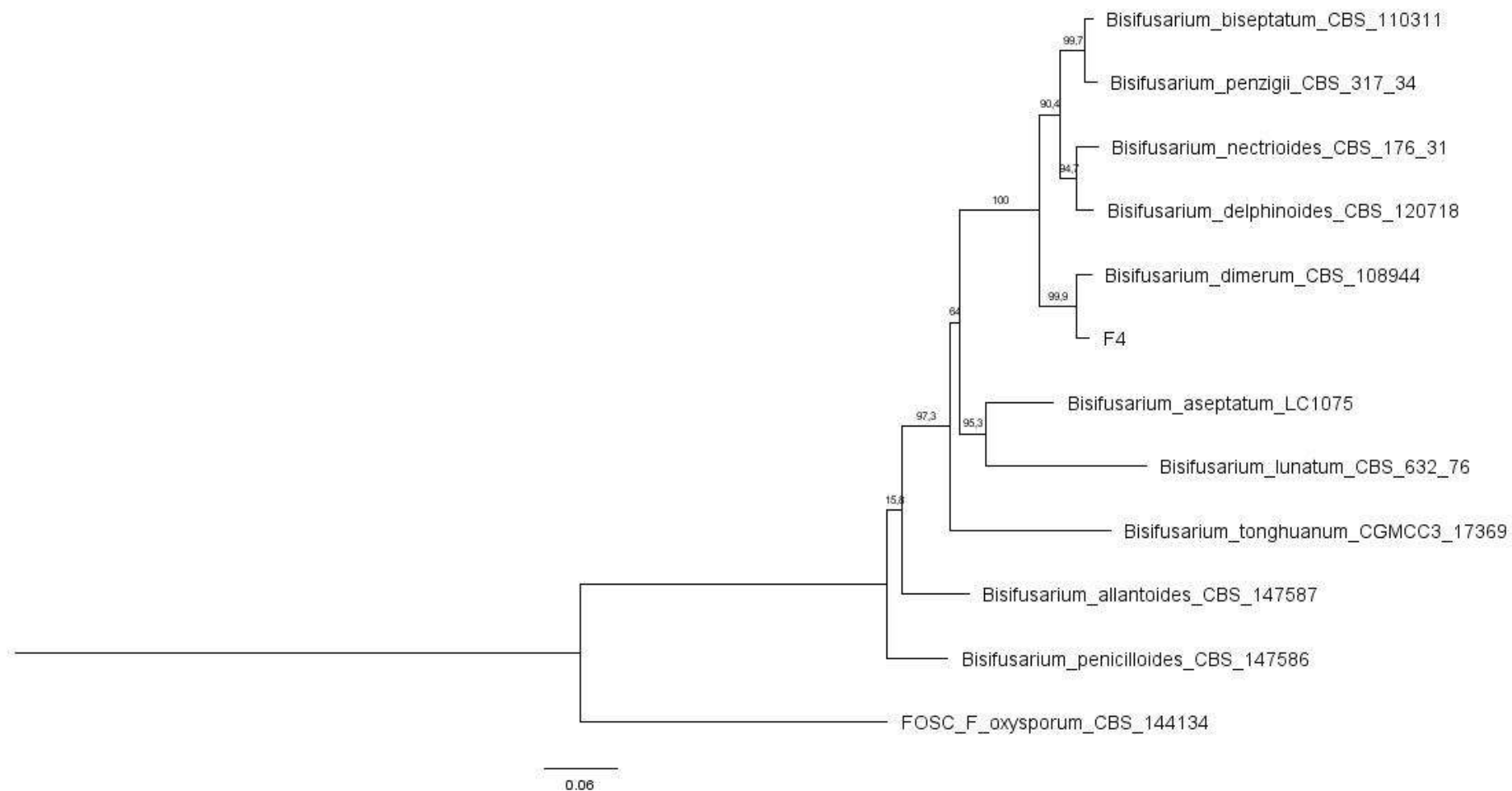
As sequências dos genes EF1- $\alpha$  e RPB2 foram comparadas com as de espécies pertencentes ao mesmo complexo, realizando-se a análise de Máxima Verossimilhança (MV) para cada gene separadamente, bem como para as sequências concatenadas (EF1- $\alpha$  + RPB2). De acordo com as análises filogenéticas, os isolados do FFSC obtidos de frutos de pitaia pertencem ao gênero *Fusarium*, sendo dois deles identificados como *Bisifusarium dimerum* e *Fusarium falciforme* (também conhecido como *Neocosmospora falciformes*) (GEISER *et al.*, 2021), integrante do Clado 3 do *Fusarium solani species complex* (FSSC), considerado o maior grupo desse complexo.

O *Fusarium falciforme* é responsável por causar doenças de murcha em vegetais tropicais, frutas e algumas leguminosas (SILVA *et al.*, 2023). Já o *Bisifusarium dimerum* foi proposto para agrupar espécies semelhantes às de *Fusarium*, que anteriormente eram classificadas nesse gênero. As espécies de *Bisifusarium* distinguem-se pelo formato de seus macroconídios curtos, geralmente (0–)1–2(–3)-septados, e pela rara formação de pinos fialídicos laterais característicos das hifas, uma característica pouco comum em *Fusarium*. Estudos filogenéticos anteriores demonstraram que *Bisifusarium* forma um clado monofilético robusto e bem suportado, separado e distinto do clado de *Fusarium* (LOMBARD *et al.*, 2015).

A Figura 20 apresenta o resultado da análise filogenética, destacando a árvore do fungo do gênero *Bisifusarium*. De acordo com o valor de bootstrap mostrado na árvore, o agrupamento do isolado F4 com *Bisifusarium dimerum* apresenta alta confiabilidade estatística. Isso significa que, em 99,9% das reamostragens realizadas durante a análise, a relação entre esses dois grupos foi mantida, indicando que esse agrupamento é robusto e altamente consistente. Esse valor de 99,9% evidencia que a conexão entre o isolado F4 e *B. dimerum* é bastante forte, com elevado suporte estatístico nas análises realizadas.

A espécie *Bisifusarium dimerum*, identificada a partir da PCR e da análise filogenética dos isolados obtidos de pitaia (*Hylocereus costaricensis*), apresenta escassez de registros na literatura.

Figura 20 - Árvore filogenética do *Bisifusarium dimerum*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Com relação à espécie *Bisifusarium dimerum*, não houve relato de sua ocorrência na espécie vegetal estudada, *Hylocereus costaricensis*, sendo também um fungo pouco conhecido. Estudos realizados demonstraram que esse fungo tem sido identificado como um agente inibidor de nematoides e é considerado um saprófito cosmopolita em solos (SCHROERS et al., 2009; LORI et al., 2022).

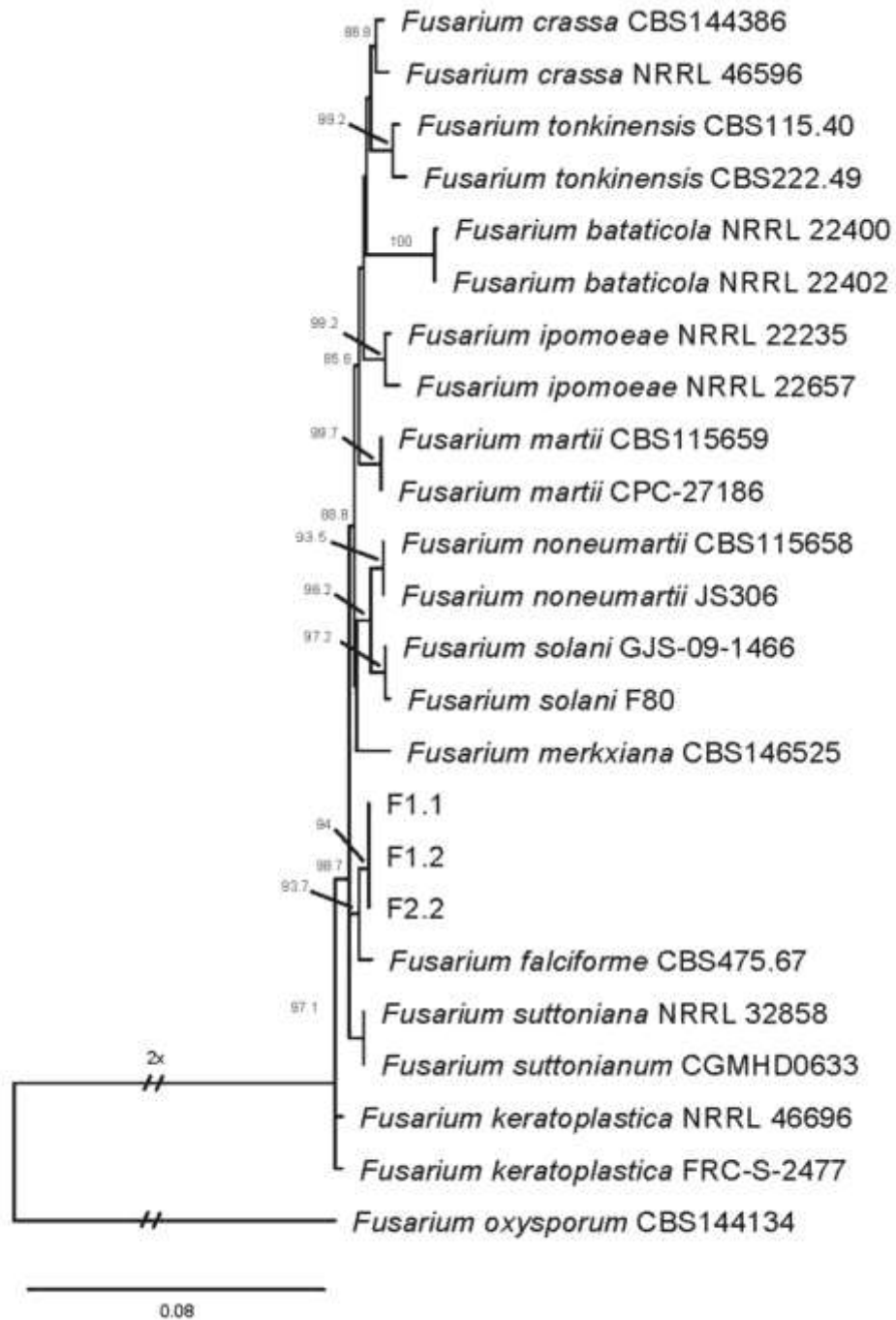
Em relação aos estudos sobre essa espécie, de acordo com Wang et al. (2024), o fungo foi detectado em amostras de solo coletadas em dois zoológicos na província de Shandong, China. Já Frederick et al. (2023) relataram a presença de *Bisifusarium dimerum* em pacientes imunocompetentes, nos quais o fungo causou uma deficiência sanguínea associada ao uso de cateter central.

A Figura 21 mostra o resultado da análise filogenética do fungo do gênero *Fusarium*, representado em uma árvore filogenética. Os valores de *bootstrap* representam a confiabilidade estatística dos agrupamentos dentro da árvore. No caso do nó que conecta F1.1, F1.2 e F2.2 ao *Fusarium falciforme* (CBS 475.67), os fungos apresentam 94,0% de similaridade entre si e 93,7% de similaridade com o *Fusarium falciforme*.

Esse valor sugere que a relação entre os fungos isolados e o *F. falciforme* é bem suportada, ou seja, a divisão representada por esse ramo é confiável e tem alta probabilidade de refletir a realidade, com base nas sequências genéticas analisadas.

Devido às constantes mudanças taxonômicas, a identificação de uma espécie de *Fusarium* é bastante complexa. Por isso, critérios filogenéticos foram introduzidos, redefinindo e promovendo uma segregação mais restrita de novos gêneros, como o *Fusarium falciforme*, que agora é conhecido em alguns países europeus como *Neocosmospora falciformis*. Este apresenta características ecológicas e morfológicas únicas (CROUS; SANDOVAL-DENIS et al., 2021). Sendo um fungo de solo, é responsável por causar doenças de murcha em vegetais tropicais, frutas e algumas leguminosas, levando a perdas significativas para a agricultura (SILVA et al., 2023; LATIFFAH, 2023).

Figura 21 - Árvore filogenética do gênero *Fusarium*



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Os sintomas causados por *Fusarium falciformes* variam de acordo com a cultura hospedeira. Na soja, pode ocorrer a síndrome da morte súbita, iniciando com manchas avermelhadas na raiz principal, que se desenvolvem em necrose, afetando toda a raiz. Em

ervilhas, o patógeno provoca a podridão radicular, caracterizada por lesões de coloração castanho-avermelhada escura. Já na pimenta-do-reino, o fungo começa na raiz, espalhando-se posteriormente para o caule (GOULART-JUNIOR; REITER; SILVA, 2023).

Com base nas sequências do gene *tef1*, os isolados de *Neocosmospora falciforme* (*Fusarium falciformes*) provenientes de plantas suculentas no condado de Shiraz, se agruparam com outros isolados previamente identificados dessa mesma espécie (O'DONNELL *et al.*, 2020). Ele é considerado um fungo patogênico não só em plantas, mas como agente oportunista em humanos e animais (GOULART-JUNIOR; REITER; SILVA, 2023).

As espécies de *Fusarium* são frequentemente espécies fúngicas destrutivas, pois além de colonizar o sistema vascular das plantas, podem persistir no solo por longos períodos (BANAKAR *et al.*, 2025). Kamali-Sarvestani *et al.*, (2022) indica que os gêneros *Neocosmopora* e *Bisifusarium* causam danos a espécies de suculentas.

Para verificar os relatos das espécies encontradas em *Hylocereus costaricensis* e no gênero *Hylocereus*, foram realizadas buscas nas bases de dados científicas ScienceDirect, SciELO, Springer, PubMed e no Banco de Dados de Fungos do USDA (Departamento de Agricultura dos EUA). Ao incluir os nomes das espécies de fungos (e suas variações), nenhum trabalho foi encontrado nessas bases que realmente incluísse a identificação de fungos em frutos.

Os poucos estudos disponíveis foram analisados e, em sua maioria, direcionam-se à investigação das propriedades bioativas da pitaia, bem como à caracterização de seus pigmentos. No entanto, observou-se uma escassez de trabalhos pós-colheita, especialmente aqueles voltados às perdas causadas por fungos nesse fruto, e nenhum registro das espécies fúngicas aqui relatadas.

Diante disso, foi realizada uma nova busca no Banco de Dados de Fungos do USDA, utilizando como critérios a espécie de pitaia estudada, *Hylocereus costaricensis*, e o fungo *Bisifusarium dimerum*, sem limitar a busca a nenhum país específico. Nenhum resultado foi encontrado, indicando que o fungo *Bisifusarium dimerum* nunca foi registrado mundialmente como fitopatógeno em frutos pós-colheita de pitaia da espécie *Hylocereus costaricensis*.

Para a outra espécie analisada, o *Fusarium falciforme* (*Neocosmospora falciformis*), também não foi encontrado registros mundiais de sua ocorrência em frutos pós-colheita de pitaia da mesma espécie. Não se observou qualquer documentação ou registro nas bases

consultadas que indicasse a incidência desses fungos afetando diretamente a fruta. Portanto, este trabalho representa o primeiro registro dessas espécies no gênero e na espécie *Hylocereus*.

Considerando que a pitaia é consumida principalmente in natura, e que os fungos identificados podem apresentar efeitos patogênicos em humanos, o aumento do consumo global dessa fruta pode representar um risco significativo, especialmente para indivíduos imunocomprometidos ou com condições de saúde mais vulneráveis. A presença desses fungos nos frutos pode indicar potencial contaminação, aumentando a preocupação com a segurança alimentar.

Dessa forma, é essencial que novos estudos sejam realizados para monitorar e avaliar os riscos microbiológicos associados ao consumo de pitaia, bem como para desenvolver protocolos de controle e prevenção da contaminação fúngica na produção e comercialização desse fruto.

Com base nos estudos realizados ao longo deste trabalho, observou-se que o gênero *Fusarium* é capaz de persistir no solo por longos períodos, representando um risco contínuo para as plantas. Considerando essa característica, foram coletadas amostras de solo e raízes das áreas de produção de pitaia, com o objetivo de investigar a origem da contaminação dos frutos por fungos.

Realizou-se uma inoculação com soluções seriadas contendo amostras de solo da área de cultivo. Em seguida, amostras das raízes foram cultivadas em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose Ágar). O objetivo dessa metodologia foi verificar se ocorreria o crescimento microbiológico de fungos presentes no solo e nas raízes, e, possivelmente, identificar os mesmos fungos encontrados nos frutos de pitaia.

Ao analisar as culturas, foi possível observar a presença de esporos semelhantes aos encontrados nas amostras de frutos contaminados por *Fusarium*, sugerindo uma possível origem da contaminação no solo onde a fruta é cultivada e nas raízes da planta.

Esses resultados indicam que a fonte da contaminação dos frutos de pitaia pode estar diretamente relacionada ao solo de cultivo, ou ainda estar associada às mudas utilizadas no início do plantio, que podem atuar como reservatório desses fungos patogênicos. A presença contínua de *Fusarium* no solo pode contribuir para a contaminação das raízes, das plantas e, consequentemente, dos frutos.

Essa descoberta reforça a importância da adoção de práticas agrícolas que incluam o monitoramento do solo e o controle adequado de doenças fúngicas, visando garantir a qualidade e segurança alimentar dos produtos derivados da pitaia.

## 7 CONCLUSÃO

Neste estudo, atingiram-se satisfatoriamente os objetivos propostos. A avaliação da pós-colheita de frutos de pitaia permitiu identificar a contaminação por fungos patogênicos, isolados tanto das frutas quanto do solo e das raízes das plantas cultivadas, reforçando a suspeita de uma possível origem cruzada de contaminação. A identificação morfológica preliminar desses fungos foi realizada com sucesso por meio de microscopia óptica, seguida da caracterização e isolamento das espécies encontradas.

O sequenciamento do DNA confirmou a identidade dos principais patógenos. O isolado F4 foi alocado no mesmo clado de *Bisifusarium dimerum*, com 99,9% de similaridade, enquanto os isolados F1.1, F1.2 e F2.2 apresentaram 93,7% de similaridade com *Fusarium falciforme*, evidenciando a robustez das análises filogenéticas realizadas. Além disso, os testes de patogenicidade comprovaram a capacidade dos fungos isolados de causar as doenças observadas nos frutos de pitaia, destacando sua relevância fitopatológica. Também foi realizada a identificação dos fungos presentes no solo e nas raízes, o que contribui para um entendimento mais abrangente do ciclo de infecção da cultura.

Esses achados permitem propor soluções à empresa parceira, uma vez que a identificação e o mapeamento genético dos patógenos representam etapas fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes e sustentáveis. Entretanto, embora alternativas como o uso de fitoquímicos possam ser consideradas, é importante avaliar seus riscos, tais como impactos ambientais, resistência fúngica e efeitos à saúde humana.

Diante da diversidade de espécies fúngicas envolvidas, como *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Bipolaris* e *Rhizopus*, e das dificuldades ainda existentes no controle dessas infecções, torna-se urgente à continuidade das pesquisas. Somente assim será possível desenvolver métodos de controle mais adequados, garantir a qualidade e segurança dos frutos e reduzir as perdas econômicas enfrentadas durante o cultivo, o armazenamento e a comercialização da pitaia.

Portanto, este trabalho contribui significativamente para o entendimento dos problemas fitopatológicos na pós-colheita de *Hylocereus costaricensis* e reforça a necessidade de integrar práticas agrícolas adequadas, controle de qualidade rigoroso e inovação científica, assegurando a sustentabilidade da produção e a segurança alimentar dos consumidores.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. 22. ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. p. 53-61.
- ALVES, A. *et al.* Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. **Fungal Diversity**, v. 28, p. 1–13, 2008.
- ALVES, L. M. V. **Metodologia de realização da reação em cadeia da polimerase (PCR)**. Ilustração criada com BioRender.com. Ceará, Brasil, 2025. Disponível em: <https://app.biorender.com>. Acesso em 21 jan. 2025.
- ARIVALAGAN, M. *et al.* Biochemical and nutritional characterization of dragon fruit (*Hylocereus* species). **Food Chemistry**, v 353, p 1-11. 2021.
- ARMER, V. J. *et al.* Navigating the *Fusarium* species complex: host-range plasticity and genome variations. **Fungal Biology**, v. 128, E. 8, p. 2-3, 2024.
- BANAKAR, N.; *et al.* Unveiling *Fusarium falciforme*: Genome sequencing of a Novel wilt causing pathogen in subabul (*Leucaena leucocephala* L.) .**India Microbial Pathogenesis**. v 20, p 1-9. 2025.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. 4ª edição. APS Press, 1998.
- BEN-ZE'EV, I.S. *et al.* First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. **Phytoparasitica**. v 9, p 195–197. 2011.
- CALIGIORE-GEI, P. F.; VALDEZ, J. G. 2015. Adjustment of a rapid method for quantification of *Fusarium* spp. spore suspensions in plant pathology. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 47, n. 2, p. 152–154.
- CARMEM, F.; FRANCISCO, C.; BARTHE, E. U. Tendências na valorização da biomassa de frutos de pitaia através de tecnologia de extração verde e de valor agregado uma revisão crítica dos avanços e processos. **Trends in Food Science and Technology**, v. 138, p. 339-354, 2023.
- CHEN, J.; SABIR, I. A.; QIN, Y.; From challenges to opportunities: Unveiling the secrets of pitaya through omics studies. **Scientia Horticulturae**. v 321, p 1 2023.
- CHIEN, Y. H. *et al.* Synergistic effect of net-houses and light sources on the enhancement of off-season flowering waves and production of ‘Da Hong’ red-fleshed pitaia. **Scientia Horticulturae**, v. 329, p. 112-982, 2024.
- CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <http://dw.ceasa.gov.br/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

- COSTA, I. H. L. *et al.* First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing stem canker on pitaya (*Hylocereus costaricensis*) in Pará, Brazil. **Crop Protection**, v. 184, p. 106-788, 2024.
- COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; COTA, L. V. Mancha-de-Bipolaris-do-Milho *Mancha-de-Bipolaris-do-Milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2014. **Circular técnica**, n. 207, p.4. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1012083/1/circ207.pdf>. Acesso em 23 mar. 2025.
- CROUS, P. W. *et al.* *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in mycology**, v. 98, p. 100116, 2021.
- CROUS, P. W. *et al.* *Fusarium* and allied fusarioid taxa (FUSA). **Fungal Systematics and Evolution**, v. 9, n. 1, p. 161-200, 2022.
- CRUZ, M. C. M.; MARTINS, R. S.; **Pitaya no Brasil, nova opção de cultivo**. Epagri - Departamento Estadual de Marketing e Comunicação – DEMC, v 1, p 1-350, 2022.
- DURAND, M. L. Endoftalmite bacteriana e fúngica. **Clin Microbiol Rev**, v. 30. p.597-613, 2017.
- EL-NASHAR, H. A. S. *et al.* HPLC-ESI/MS-MS metabolic profiling of white pitaya fruit and cytotoxic potential against cervical cancer: Comparative studies, synergistic effects, and molecular mechanistic approaches. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 244, p. 116-121, 2024.
- EVALLO, E.; TAGUIAM, J. D.; BALENDRES, A. M. A brief review of plant diseases caused by *Cactus virus X*. **Crop Protection**, v. 143, p. 105566, 2021.
- EVALLO, E. *et al.* First report of *Colletotrichum fructicola*, causing anthracnose of *Hylocereus* plants, in the Philippines. **Czech Mycology**, v. 73, p. 79-90, 2021.
- FREDERICK, V. *et al.* *Bisifusarium dimerum* species complex central line-associated bloodstream infection in an immunocompetent patient. **Relatos de Casos de Micologia Médica**. v. 41, p 33-35. 2023
- GEISER, D. M.; *et al.* Phylogenomic analysis of a 55.1-kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex. **Phytopathology**, v 7, p 111, 2021.
- GOENAGA, R.; MARRERO, A.; PÉREZ, D. Yield and fruit quality traits of dragon fruit cultivars grown in Puerto Rico. **HortTechnology**, v. 30, p. 803-808, 2020.
- GOULART-JUNIOR, R.; REITER, J. M. W.; SILVA, D. A.; caracterização da cultura da pitaya: produção e comercialização no sul catarinense, **Anais do Evento: XVI Encontro de Economia Catarinense**, Edição online, p 1-5, 2023.
- HILL, R. *et al.* As transições de estilo de vida em fungos fusarioides são frequentes e carecem de assinaturas genômicas claras. **Mol. Biol. Evol.**, v 4. p 39 2022.

- HUANG, W. *et al.* Metabolomics and transcriptomics analysis of vitro growth in pitaya plantlets with different LED light spectra treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 186, p. 115-237, 2022.
- HUDA-SHAKIRAH, A.; MOHD, M. First report of *Fusarium sacchari* causing leaf blotch of orchid (*Dendrobium antennatum*) in Malaysia. **Crop Protection**, v. 143, p. 105-559, 2021.
- HUDA-SHAKIRAH, A.R. *et al.* *Diaporthe* species causing stem gray blight of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Scientific Reports**. V 11, p 1-12, 2021.
- IBGE – CENSO AGROPECUÁRIO 2017. Rio de Janeiro: IBGE, 2019, disponível em: APEC\_23-Characterizacao\_cultura\_pitaya.pdf.
- INOKUTI, E. M. *et al.* First report of stem gray blight on *Hylocereus megalanthus* and *Hylocereus polyrhizus* caused by *Diaporthe arecae* in Brazil. **Plant Disease**, v. 108, E. 3, p. 550-828, 2023a.
- INOKUTI, E. M. *et al.* First report of *Colletotrichum tropicale* causing anthracnose on pitaya (*Hylocereus costaricensis*) in Brazil. **Plant Disease**, v. 108, E. 3, p. 550-828, 2023b.
- JALGAONKAR, K. *et al.* Postharvest profile, processing and waste utilization of dragon fruit (*Hylocereus* spp.): a review. **Food Reviews International**, v. 38, p. 733-759, 2020.
- JIANG, H. *et al.* Nutrição, perfil fitoquímico, bioatividades e aplicações na indústria alimentícia de pitaya (*Hylocereus* cascas): uma revisão abrangente. **Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 116, p. 199-217, 2021.
- JIANG, Y. L. *et al.* Improving postharvest storage of fresh red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus* sp.) fruit by pre-harvest application of CPPU. **Scientia Horticulturae**, v. 273, p. 109-646, 2020.
- JOSHI, M.; PRABHAKAR, B. Phytoconstituents and pharmaco-therapeutic benefits of pitaya: A wonder fruit. **Foods Biochemistry**, v. 44, p. 1-5, 2020.
- KAMALI-SARVESTANI, S. *et al.* Fusário e Neocosmospora espécies associadas à rot de cactáceas e outras plants suculentas. **Jornal of fungal**, v. 8, n. 4, p. 364, 2022.
- KARIM, M. M., *et al.* Occurrence of stem rot disease of *Hylocereus undatus* in Bangladesh. **Indian Phytopathology**, v 72, p 545–549, 2019.
- KEE, Y.J. *et al.* First report of reddish-brown spot disease of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) caused by *Nigrospora laticolonia* and *Nigrospora sphaerica* in Malaysia. **Crop Protection**. v 112, p 165–170. 2019.
- KHOO, H. E. *et al.* Betacyanins and anthocyanins in pulp and peel of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus* cv. Jindu), inhibition of oxidative stress, lipid reducing, and cytotoxic effects. **Frontiers Nutrition**, v. 9, p. 1-4, 2022.

KIM, J.S. *et al.* First report of *Cactus virus X* infecting *Hylocereus undatus* in Korea. **Plant Disease**, v 100, p 12. 2016.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, v 33, p 1870-1874, 2016.

KUMAR, S. *et al.* MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular biology and evolution**, v 35, p 1547–1549, 2018.

LATIFFAH, Z. Fusarium Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops **Horticulturae** v. 9, p 1. 2023.

LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The fusarium laboratory manual**. Ames: Blackwell Publishing, 2006. P 388.

LI, M. *et al.* *Fusarium: a treasure trove of bioactive secondary metabolites*. **Natural Products Reports**, v 37. P.1568-1588, 2020.

LI, Y. *et al.* O efeito de fatores de desenvolvimento e ambientais sobre metabólitos secundários em plantas medicinais. **Fisiologia Vegetal e Bioquímica**, v. 148, p. 88-89, 2020.

LIN, C. *et al.* Análise bioinformática do potencial biossintético de metabólitos secundários em *Fusarium* patogênico. **J. Fungos (Basileia)**, v. 9. p. 850 2023.

LIU, R. *et al.* Synergistic effect of 1-methylcyclopropene and carvacrol on preservation of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). **Food Chemistry**, v. 283, p. 588–595, 2021.

LIU, Y. J.; WHELEN, S.; HALL, B. D. Phylogenetic relationships among ascomycetes: 695 evidence from an RNA polymerase II subunit. **Molecular biology and evolution**, 16(12), 1799- 696 1808. 1999.

LODI, K. Z. *et al.* Pitaya (*Hylocereus lemairei*) extracts avoid mitochondrial dysfunction and NF-κB/NLRP3-mediated inflammation in endothelial cells under high glucose and are in vivo safe. **Pharma Nutrition**, v. 26, p. 100-356, 2023.

LOMBARD, L. *et al.* Epitypification of *Fusarium oxysporum*—clearing the taxonomic chaos. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n 1, p. 1-47, 2019.

LONE, A. B. *et al.* **Cultivo de Pitaia**. Florianópolis, p 44. 2020. (Epagri. Boletim Técnico, 196).

LORI, M. *et al.* O manejo orgânico melhora a qualidade do solo e impulsiona a diversidade da comunidade microbiana nos sistemas de produção de cacau. **Ciência do Meio Ambiente Total**, v. 834, p. 1-11. 2022.

LUO, H. *et al.* Composição química e avaliação *in vitro* das atividades citotóxica e antioxidante de extratos supercríticos de dióxido de carbono da casca de pitaya (fruta do dragão). **Química Central Journal**, v. 8, p. 10-13, 2014.

MAGALHÃES, D. S. *et al.* Mudanças nas características físicas e físico-químicas da pitaya de polpa vermelha durante seu desenvolvimento. **Ciência Hortícola**, v. 253, p. 180-186, 2019.

MAHMUD, N.U. *et al.* First report of basal rot of dragon fruit caused by *Fusarium oxysporum* in Bangladesh. **Plant Disease**. p 105-218. 2020.

MAIA, L., Ceará: corante extraído da pitaya é alternativa sustentável para produtos do mercado. **O POVO**, 2021. Disponível em: <https://www.opovo.com.br/noticias/economia/2021/12/06/ceara-corante-extraido-da-pitaya-e-alternativa-sustentavel-para-produtos-do-mercado.html>. Acesso em: 03/01/2025

MANAMGODA, D, S. *et al.* A taxonomic and phylogenetic reappraisal of the genus *Curvularia* (Pleosporaceae): human and plant pathogens **Phytotaxa**, v 212, p 175, 2015.

MARONE, D.; *et al.* Specialized metabolites: physiological and biochemical role in stress resistance, strategies to improve their accumulation, and new applications in crop breeding and management. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 172, p. 2-3, 2022.

MARQUES, V. B. Propagação seminífera e vegetativa de pitaya (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose). **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 50-54, 2008.

MASYAHIT, M. *et al.* First report on bacterial soft rot disease on dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) caused by *Enterobacter cloacae* in peninsular Malaysia. **Bacterial soft rot disease on dragon fruit / International Journal of Agriculture and Biology.**, v 11, p 1-8, 2009.

MELLO, J. F. *et al.* First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing cladode rot in *Hylocereus* sp. in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, p. 899, 2022.

MENTEN, J. O. Pitaias: principais doenças e seu controle. **Revista Vida no Campo Agro Sustentável (CCAS)**, 2023. Disponível em: <https://www.revistavidanocampo.com/blog/pitaias-principais-doencas-e-seu-controle>. Acesso em: 20/07/2024.

MESQUIDA-PESCI, S. D. *et al.* *Rhizopus stolonifer* exhibits necrotrophic behavior when causing soft rot in ripe fruit. **Phytopathology**, v. 115, n. 3, p. 306–315, 2025.

MOHD, H. A. B.; KEE, Y. J.; MOHD, M. H. First report of *Fusarium oxysporum* as a causal agent of stem blight of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. **Plant Disease**. v 103, p 1040. 2019.

MOURA, N. M. **Doenças fúngicas da cultura da pitaya**. P 17, 2020. Disponível em: [http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/45572/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_Do%C3%A7as%20f%C3%BAngicas%20da%20cultura%20da%20pitaya.pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/45572/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Do%C3%A7as%20f%C3%BAngicas%20da%20cultura%20da%20pitaya.pdf). Acesso em: 20/07/2024

- NASCIMENTO, M. B. *et al.* First report of *Colletotrichum karstii* causing anthracnose spot on pitaya (*Hylocereus undatus*) in Brazil. **Plant Disease**. v 103, p 1-8. 2019.
- NELSON, A. *et al.* Double lives: transfer of fungal endophytes from leaves to woody substrates. **Ecology. PeerJ**, v 8, p 1, 2020.
- NIEHAUS, E. M. *et al.* "Ômicas" comparativas do complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* destacam diferenças no potencial genético e na síntese de metabólitos. **Genoma Biology**. v, 8 p. 1-20. 2016.
- NIKITIN, D. A. *et al.* Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic *Fusarium* in Soil: A Review. **Diversity**, v. 15, n. 1, p. 49, 2023.
- NISHIKITO, D. F. *et al.* M. Anti-inflammatory, antioxidant, and other health effects of dragon fruit and potential delivery systems for its bioactive compounds. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 159, 2023.
- O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 7, n. 1, p. 103-116, 1997.
- O'DONNELL, K. *et al.* DNA sequence-based identification of *Fusarium*: A work in progress. **Plant disease**, v. 106, n. 6, p. 1597-1609, 2022.
- O'DONNELL, K. K. *et al.* Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. **PNAS**, v. 97, p. 7905–7910, 2000.
- O'DONNELL, K. *et al.* Não ao *Neocosmospora*: Filogenômico e razões práticas para a inclusão contínua do *Fusarium solani* complexo de espécies do gênero Fusário. **Micosfera**, v 5, p 10-20, 2020.
- PARAMESWARI, B. *et al.* First record of *Cactus virus X* in dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in India. **Indian Phytopathology**. v. 75, p. 297-299, 2021.
- PAŠKO, P. *et al.* Bioactivity and cytotoxicity of different species of pitaya fruits – A comparative study with advanced chemometric analysis. **Food Bioscience**, v. 40, p. 100-888, 2021.
- PAŠKO, P. *et al.* Dragon fruits as a reservoir of natural polyphenolics with chemopreventive properties. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 8, art. 2158, 2021
- PATEL, J. S., ZHANG, S. First report of *Alternaria* blight of pitahaya (*Hylocereus undatus*) caused by *Alternaria* sp. in South Florida of the United States. **Plant Disease**. v 101, p 6. 2017.
- PENG, C. *et al.* Molecular identification of *Cactus virus X* infecting *Hylocereus polyrhizus* (*cactaceae*) in hainan island, China. **Plant Disease**. v 100, p 19. 2016.

PIO, L. A. S.; RODRIGUES, M. A.; SILVA, F. O. R. **O Agronegócio da Pitaia**. ed. Lavras: Ed. Lavras: Abrappitaia, v. 1, p. 325, 2020.

PULLEN, R. M. *et al.* Considerations for Domestication of Novel Strains of Filamentous Fungi. **ACS Synthetic Biology**. p 1-20. 2025

RAVICHANDRAN, G. Attenuation of protein glycation by functional polyphenolics of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*); an in vitro and in silico evaluation. **Food Research International**, v. 140, P.1-14, 2021.

REEB, V.; LUTZONI, F.; ROUX, C. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (*Pezizomycotina*, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. **Molecular phylogenetics and evolution**, v 32. p 3. 2004.

RITA, W. S. *et al.* First report on *Fusarium solani*, a pathogenic fungus causing stem rot disease on dragon fruit (*Hylocereus* sp.) **International Journal of Agricultural Health**. v 3. p 93-99. 2013.

RODRÍGUEZ, Y. R. *et al.* Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities. **Food Chemistry**, v. 312, p. 1-13, 2020.

SÁNCHEZ, C. *Fusarium* as a promising fungal genus with potential application in bioremediation for pollutants mitigation: A review. **Biotechnology Advances**, v. 77, p. 1-8, 2024.

SANTHI, V. P. *et al.* Edible fruit extracts and fruit juices as potential source of antiviral agents: a review. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 5181-5190, 2020.

SANTOS, D. N.; PIO, L. A. S.; FALEIRO, F. G. Pitaia: uma alternativa frutífera. **ProImpress Empresa Mato-Grossense de Pesquisa Assistência e Extensão Rural**, p. 35-37, 2022. Disponível em: <[www.bdpa.cnpia.embrapa.br](http://www.bdpa.cnpia.embrapa.br)>. Acesso em: (10/07/2024).

SANTOS, M. O. *et al.* Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**; v 69. p1-12. 2023.

SANTOS, R. M.; SANTOS, K. B.; CASTRO, D. R.; Estudo dos estágios de vida do fungo *rhizopus stolonifer*: iniciação a prática laboratorial dentro da engenharia. **Revista sertão sustentável**, v. 1, n. 2, p. 130-140, 2019.

SCHROERS, H. J. *et al.* Taxonomia e filogenia do grupo de espécies *Fusarium dimerum* **Micologia**, v 101, p 44-70. 2009.

SILVA, S. G. A. *et al.* *Fusarium falciforme* and *Fusarium suttonianum* cause root rot of melon in Brazil. **Plant Pathology**. v. 72, p. 721 – 730. 2023.

SINGH, R. *et al.* *Fusarium equiseti* as the pathogen causing stem rot disease of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in India. **Crop Protection**. v 1, p. 1- 8 2023.

SOUFIANI, M. G.; ABRINBANA, M.; POURALIBABA, H. R. Identification and pathogenicity assessment of *Fusarium* species associated with grass pea yellowing and wilting in Iran. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v 136, p 1-10. 2025.

STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. K. The Staden package. In: MISENER, S.; KRAWETZ, S. A. (Ed.). **Bioinformatics Methods and Protocols**. v. 132, p. 115-130, 1998.

SUMMERELL, B. A.; SALLEH, B.; LESLIE, J. F. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant disease**, v. 87, p 117-128, 2003.

SURESH, M.; RAMAKRISHNAN, M. Interrelationship between food, medicine and health as reflected in the ancient tamil society. **International journal of research - granthaalayah**, [s. l.], v. 12, n. 12, 2024.

TANG, W. *et al.* Phenolic compounds profile and antioxidant capacity of pitahaya fruit peel from two red-skinned species (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*). **Foods**, v. 10, p. 11-83, 2021.

THAIUDOM, S.; OONSIVILAI, R.; THAIWONG, N. Production of colorant powder from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel: Bioactivity, heavy metal contamination, antimutagenicity, and antioxidation aspects. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, p. 15044, 2021.

THOMPSON, J. D. *et al.* The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, v 25, p 4876-4882, 1997.

TOGHUEO, R. M. K. Bioprospecção de fungos endofíticos do gênero *Fusarium* como fontes de metabólitos bioativos **Micologia**. v 31. p 1-21. 2020.

TOMAS, M. G. *et al.* Physicochemical characteristics and volatile profile of pitaia (*Selenicereus setaceus*). **South African Journal of Botany**, v. 154, p. 88-97, 2023.

TORBATI, M. *et al.* Multigene phylogeny reveals new fungicolous species in the *Fusarium tricinctum* species complex and novel hosts in the genus *Fusarium* **Iran. Mycol. Prog.**, p. 119-133. 2019.

TORBATI, M.; ARZANLOU, M.; SANTOS, A.; C.; S.; Fungicolous *Fusarium* Species: Ecology, Diversity, Isolation, and Identification. **Curr Microbiol**. p 1-8. 2021.

TORRES-CRUZ, T. J. *et al.* FUSARIUM-ID v. 3.0: an updated, downloadable resource for *Fusarium* species identification. **Plant disease**, v. 106, n. 6, p. 1610-1616, 2022.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, CL, 2012. **Microbiologia**. 10. ed., Porto Alegre: Artmed.

WANG, H.-Y. *et al.* Duas novas espécies de Sordariomycetes (Chaetomiaceae e Nectriaceae) da China. **MycoKeys**, v. 102, pág. 301–315, 2024.

WANG, T. *et al.* *CgSCD1* is essential for melanin biosynthesis and pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Pathogens**, v. 9, n. 2, p. 141, 2020.

WINSON, K. W. S. *et al.* The establishment of callus and cell suspension cultures of *Hylocereus costaricensis* for the production of betalain pigments with antioxidant potential. **Industrial Crops and Products**, v. 155, p. 1-16, 2020.

WRIGHT, E. R. *et al.* Basal rot of *Hylocereus undatus* caused by *Fusarium oxysporum* in Buenos Aires, Argentina. **Plant Disease**. 91, 323. 2007.

WU, Q. *et al.* Multiple metabolomics comparatively investigated the pulp breakdown of four dragon fruit cultivars during postharvest storage. **Food Research International**, v. 164, p. 1-12, 2023.

WU, Q. *et al.* Deciphering the metabolic pathways of pitaya peel after postharvest red-light irradiation. **Metabolites**, v. 10, p. 108, 2020.

YANG, L. *et al.* The effects of different ambient pH on the pathogenicity of *Fusarium sulphureum* and reactive oxygen species metabolism in *F. sulphureum*-inoculated muskmelon fruits. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 122, p. 1-12, 2022.

YILMAZ, N. *et al.* Redefining species limits in the *Fusarium fujikuroi* species complex. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 46, n. 1, p.129-162, 2021.

ZAYED, A.; SERAG, A.; FARAG, M. A. *Cynara cardunculus* L.: tendências emergentes e potenciais de méritos fitoquímicos, industriais, nutritivos e medicinais. **Journal of Functional Foods**, v. 69, p. 1-16.2020.

ZULKIFLI, S. A. *et al.* Optimization of total phenolic and flavonoid contents of defatted pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed extract and its antioxidant properties. **Molecules**, v. 25, p. 787, 2020.