



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

SUÊNIA CRISTINE CAMPOS

**ANTRACNOSE EM ESPÉCIES DE MANGUE DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**

Prof. Dr. PAULO SÉRGIO TORRES BRIOSO
Orientador

SEROPÉDICA, RJ
Novembro – 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

SUÊNIA CRISTINE CAMPOS

**ANTRACNOSE EM ESPÉCIES DE MANGUE DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Florestal, como requisito parcial para a obtenção do Título de Engenheiro Florestal, Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Prof. Dr. Paulo Sérgio Torres Brioso
Orientador

SEROPÉDICA, RJ
Novembro – 2016

**ANTRACNOSE EM ESPÉCIES DE MANGUE NO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO**

SUÊNIA CRISTINE CAMPOS

Monografia aprovada em 02 de dezembro de 2016.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Paulo Sérgio Torres Brioso – UFRRJ
Orientador

Prof. Dr. Paulo Sérgio dos Santos Leles – UFRRJ
Membro

Prof. Dr. José Carlos Arthur Júnior – UFRRJ
Membro

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por todas as lições e dificuldades que tive que passar para chegar até aqui foram muitas, porém foram elas que me fizeram crescer.

Minha gratidão eterna ao meu grande orientador Paulo Sérgio Torres Bioso pela sua excelência como professor, orientador e amigo.

Agradeço a minha mãe Rosângela Maria Severiano Campos por todo o esforço que fez pra que eu conseguisse chegar até aqui, por tudo que tornou possível, por ter segurado até o fim para que eu não desistisse. Agradeço a minha mãe porque é por ela que eu venho concluir esse curso com muito orgulho e dedicação, na esperança de um dia poder ser a profissional que prometi ser.

Agradeço ao meu pai Carlos Alberto Campos e melhor amigo que esteve ao meu lado todo o tempo dessa jornada.

Agradeço a toda à família Severiano e Campos, todos os primos-irmãos e tios que apostaram esses cinco anos em mim e estiveram ao meu lado o tempo todo.

Agradeço aos amigos maravilhosos de Volta Redonda pela amizade dedicada, apoio e paciência perante a distância, especialmente aos melhores amigos Diego Teixeira, Rafael Dantas, Rafael Araújo, Vinicius Roner, Maria Fernanda Pires, Tatiana Quincas, Bárbara Moura, Diego Lazaroni, Tuíra Luna, Juliana Rocha, Indira Luna, Rui Miguel e aos meus irmãos do coração Anderson Jácomo, Viviane Menezes, Maisa Dalbone e Thamiris Mendes.

Agradeço as minhas irmãs do F1 - 24, por todo amor, carinho, amizade e socorro de SEMPRE, amo muito vocês.

Agradeço aos funcionários da UFRRJ, especialmente aos da manutenção por toda a alegria e dedicação aos alunos.

Serei grata eternamente aos professores do Instituto de Floresta, aos companheiros do Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário, e a toda turma 2011-2 pelos maravilhosos e inesquecíveis momentos.

Em especial deixo o meu muito obrigado à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo acolhimento e aos amigos Marcelle São Pedro Abdiel de Souza e Alexandre Padilha por absolutamente tudo.

RESUMO

Encontradas em vários pontos do litoral brasileiro o Mangue Vermelho, Mangue Branco e Mangue Preto estão entre as principais espécies do manguezal brasileiro, de importância econômica, social e ambiental. Devido às peculiaridades dessas espécies, como resistência a salinidade e desenvolvimento em ambientes pobres em oxigênio os mangues se tornaram responsáveis por uma rica biodiversidade, geração de empregos em comunidades tradicionais e estabilização de solos. Apesar de escassos, aumentou nos últimos anos o cultivo de variedades de mangue nos viveiros florestais destinadas a recuperação de áreas degradadas. Porém, nos meses chuvosos de 2015 e 2016 observaram-se sintomas de doenças em mudas de Mangue Vermelho, de Mangue Branco e de Mangue Preto. As folhas das mudas apresentavam manchas marrom-escuras com halo amarelado, amarelecimento das folhas e queda foliar constante.

Objetivou-se com esse estudo a identificação e caracterização dos isolados fungicos causadores da Antracnose e a suscetibilidade de diferentes espécies florestais que compõem os manguezais do Estado do Rio de Janeiro a fim de evitar a disseminação do mesmo nas mudas das espécies e impedir que mudas doentes cheguem às áreas de recuperação. A princípio as mudas foram levadas do viveiro para o Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário da UFRRJ, onde amostras foliares de ambas as espécies foram expostas a ambiente úmido por alguns dias e a morfologia do tecido observada em microscópio estereoscópico e ótico. Em seguida optou-se pelo isolamento de novas amostras em meio de cultura batata-dextrose-agar (BDA). Ao observar as placas novamente, notou-se inúmeras estruturas gelatinosas, ricas em biotina que protegem os esporos do fungo. A caracterização molecular foi obtida por teste de PCR com primers específicos, o resultado encontrado foram estruturas de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Rhizophora mangle* (Mangue Vermelho), *Laguncularia racemosa* (Mangue Branco) e *Avicennia schaueriana* (Mangue Preto) e os testes de patogenicidade comprovaram a virulência do mesmo. Se tratando do primeiro relato registrado no Estado do Rio de Janeiro de Antracnose nessas espécies.

Palavras-chave: Antracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*, fungo, PCR

ABSTRACT

`Red Mangrove`, `White Mangrove` and `Black Mangrove` are found in several places of the Brazilian coast. They are among the main mangrove species in Brazil for their economic, social and environmental importance. Because of the peculiarities of species, such as resistance to salinity, development in oxygen-poor environments, the mangroves became responsible for rich biodiversity and job opportunities in traditional communities and soil stabilization. Even scarce, it has increased the cultivation of mangrove varieties in forest vivarium used to recover the degraded areas in recent year. However, in the rainy months of 2015 and 2016, there were symptoms of diseases in Red Mangrove, White Mangrove and Black Mangrove seedlings. The seedlings` leaves had showed dark brown patches with yellowish halo, yellowing leaves and constant leaf fall.

The aim of this research was to identify and characterize the fungal isolates responsible for Antracnose and the sustainability of different forest species that make up the mangroves of the state of Rio de Janeiro, in order to avoid the spread of the disease in the species' seedlings and to prevent the seedlings from reaching recovery areas. At first, the seedlings were taken from the vivarium to the Official Laboratory of Phytosanitary Diagnosis of UFRRJ, where leaf samples of both species were exposed to a humid environment for a few days and the morphology of the tissue were observed with a stereoscopic and optical microscope. Secondly, new samples were isolated in potato-dextrose-agar (BDA) medium. Upon observing plates once more, it was observed numerous gelatinous structures, which is rich in biotin that protected the spores of the fungus. A molecular characterization was obtained by PCR test with specific primers, the result found was structures of *Colletotrichum gloeosporioides* in *Rhizophora mangle* (Red Mangrove), *Laguncularia racemosa* (White Mangrove) and *Avicennia schaueriana* (Black Mangrove) and the Pathogenicity test proved its virulence. It is the first recorded report in the State of Rio de Janeiro of Anthracnose in these species.

Keywords: Anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*, fungus, PCR

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Manguezal, o Ecossistema	2
2.1.1 <i>Rhizophora mangle</i> L.....	3
2.1.2 <i>Laguncularia racemosa</i> . (L.) Gaertn	3
2.1.3 <i>Avicennia schaueriana</i> Stapf & Leechman.....	4
2.2 Aspectos fitossanitários na produção de mudas	5
2.3 Gênero <i>Colletotrichum</i> sp.	6
2.4 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	7
2.5 Técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction).....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Área de Estudo.....	7
3.2 Coleta do material.....	9
3.3 Observação.....	9
3.4 Isolamento.....	11
3.5 Teste de Patogenicidade.....	11
3.6 Teste de PCR	11
3.7 Resistência	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÕES.....	17
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

LISTA DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1. Severidade de <i>C. gloeosporioides</i> em espécies de mangue	17

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1: Pecíolo de <i>Laguncularia racemosa</i> (Mangue Branco)	4
Figura 2: Localização do município de Seropédica no Estado do Rio de Janeiro	8
Figura 3: Localização da Ilha do Governador, RJ	9
Figura 4: Manchas marrom-escuras com halos amarelados em folha de <i>Rhizophora mangle</i>	10
Figura 5: Método de câmara úmida	10
Figura 6: Características morfológicas de <i>Colletotrichum</i> em tecido de <i>R. mangle</i> : Corpo de frutificação e conídios (A), Esporos envoltos por massa alaranjada rica em biotina (B), Observação da Lâmina por corte do tecido de <i>R. mangle</i> (C), Conídios (D)	12
Figura 7: Isolados de <i>Colletotrichum</i> , em meio de cultura BDA, encontrado em <i>R. mangle</i> (A), em <i>A. schaueriana</i> . (B), em <i>L. racemosa</i> (C)	13
Figura 8: Agressividade de <i>Colletotrichum</i> como resultado da inoculação do isolado de <i>L. racemosa</i> : (A) Lesão em <i>A. Schaueriana</i> , (B) Lesão em <i>L. racemosa</i> provocada por <i>C. gloeosporioides</i> , (C) Lesão em <i>R. mangle</i>	14
Figura 9: Agressividade de <i>Colletotrichum</i> como resultado da inoculação do isolado de <i>R. mangle</i> : (A) Lesão em <i>R. mangle</i> , (B) Lesão em <i>L. racemosa</i> provocada por <i>C. gloeosporioides</i> , (C) Lesão em <i>A. schaueriana</i>	15
Figura 10: Agressividade de <i>Colletotrichum</i> como resultado da inoculação do isolado de <i>A. schaueriana</i> : Lesão em <i>R. mangle</i> provocada por <i>C. gloeosporioides</i> (A) Lesão em <i>Rhizophora mangle</i> , (B) Lesão em <i>Laguncularia racemosa</i> provocada por <i>C. gloeosporioides</i> , (C) Lesão em <i>A. schaueriana</i>	16

INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema comumente associado às costas litorâneas, margens de baías, enseadas, barras, desembocaduras de rios, lagunas e reentrâncias costeiras, onde há a junção de águas de rios e de mares e a forte influência do regime das marés. Possui um sistema extremamente complexo, porém estável considerando a sua resiliência e resistência às condições ao qual ele está frequentemente exposto. (SCHAEFFER-NOVELLI, 1999).

O ecossistema abrange espécies vegetais e animais, residentes e visitantes, marinhas e de água doce relativamente pobre em diversidade, mas rico em quantidade principalmente de crustáceos e de moluscos (ALMEIDA et al., 2002). Dessa maneira contribui com a manutenção da biodiversidade e com o sustento das populações que dependem dos seus recursos.

Considera-se um ambiente altamente produtivo e severo, sendo que toda essa produtividade pode ser atribuída as estratégias que as espécies utilizam para otimizar o uso dos nutrientes disponíveis e conservá-los. As árvores de mangue possuem adaptações adequadas para garantir a sobrevivência nesses locais, como as raízes respiratórias ou pneumatóforos, que são órgãos responsáveis pela respiração da planta no solo lodoso; além disso, essas árvores possuem também adaptações fisiológicas que permitem que a água salobra seja filtrada (ALMEIDA et al., 2002; REEF, 2010).

No Brasil, nas últimas décadas o ser humano vem ocupando novos espaços antes preservados e com esse aumento acelerado da urbanização, vem surgindo novos problemas ambientais desequilibrando todo o ecossistema. O ser humano ao destruir o patrimônio natural, se torna vítima de si mesmo, pois para atender as suas necessidades, desconsidera os impactos causados à água, ao solo e a vegetação, onde além de prejudicar a qualidade de vida da própria população se torna responsável por grande parte das catástrofes ambientais que na maioria das vezes tem origem social e não natural (MELO, 2014).

Devido as mudanças provenientes da pressão antrópica sobre os manguezais e as consequências geradas, projetos como “CO₂ manguezal” e “Um Manguezal em Nossa Casa”, vem sendo desenvolvidos a fim de produzir mudas de mangue para recuperação de áreas degradadas.

Vanucci (2003) diz que os manguezais continuarão fornecendo benefícios a toda a sociedade se forem administrados corretamente. Porém é recomendável que sejam desenvolvidos novos estudos direcionadas à produção de mudas de espécies de mangue para que o objetivo principal possa ser alcançado. (ALMEIDA et al., 2002)

Esses projetos de recuperação de manguezais exigem um levantamento das espécies que serão cultivadas nos viveiros adaptadas à diferentes níveis de inundação e salinidade, porém, aspectos como qualidade e a sanidade das mudas são extremamente relevantes para o manejo, levando em conta o desenvolvimento dessas espécies em lugares de clima quente e úmido que favorecem uma infinidade de doenças. Dentre essas doenças destaca-se a Antracnose que é considerada uma das doenças mais importantes do País economicamente, devido ao grau de severidade com que as espécies são atacadas.

Segundo Grigoletti Júnior (2001) os viveiros florestais, até mesmo os mais tecnificados, são vulneráveis ao ataque de microrganismos patogênicos, em função de certas condições ambientais. Alguns fatores devem ser considerados para prevenir o estabelecimento de fitopatógenos nos viveiros.

Para que haja um método de controle adequado nos viveiros florestais e consequentemente a prevenção da Antracnose em campo, verifica-se a importância da

precisão nas informações adquiridas através das análises laboratoriais. Sendo assim, esse estudo tem como objetivo principal a identificação e caracterização dos isolados fungicos causadores da Antracnose e a suscetibilidade de diferentes espécies florestais que compõem os manguezais do Estado do Rio de Janeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Manguezal, o Ecossistema

No Brasil, de acordo com a legislação ambiental os mangues são considerados Áreas de Preservação Permanente pelo Art. 2º da lei 4771/65, que os consideram florestas e demais formas de vegetação natural, proibindo qualquer tipo de desmatamento. (ARAÚJO, 2011).

O manguezal é definido como um ecossistema costeiro típico de regiões tropicais e subtropicais, suscetível ao regime das marés e que ocupam zonas em que há transições de ambientes terrestres e marinhos. É constituído de espécies que sobrevivem ao excesso de salinidade e se desenvolvem em substratos com pouco ou nenhum oxigênio (SCHAEFFER-NOVELLI, 1999 citado por CUNHA-LIGNON, 2001).

Nos manguezais há a incidência de uma vegetação arbóreo-arbustiva, desenvolvida principalmente em solos lamosos e lodosos ao longo da zona de influência das marés, que abrange desde a área onde as águas do mar escorrem para dentro do continente até as zonas de inundação ao longo dos estuários. Além disso, é composto por uma grande diversidade de espécies da fauna por garantir abrigo e alimento para o seu desenvolvimento (MAIA et al., 2006).

Ramos e Silva et al. (2006) afirmam que os manguezais funcionam também como filtros bioquímicos, armazenando em suas raízes, troncos e folhas os metais que seriam transportados às áreas costeiras.

Essa vegetação possui características peculiares que fazem desses ecossistemas extremamente funcionais, pois suas características morfológicas e adaptações contam com raízes aéreas, reprodução por viviparidade, dispersão de propágulos através da corrente marítima, rápido crescimento de copa, ausência de anéis de crescimento, capacidade de reter nutrientes e água e grande resistência à salinidade (ALONGI, 2002).

As espécies vegetais e animais que compõem os pântanos dos manguezais formados pela junção das águas provenientes dos rios e das correntes marítimas quando estão adaptadas às condições de salinidade acabam se beneficiando com o melhor dos dois ambientes, o que explica a alta produtividade dos mesmos (VANUCCI, 2003).

Rhizophora mangle L. está entre algumas das espécies vegetais que chegam a alcançar porte arbóreo, fornecem madeiras próprias para construções e sua casca rica em tanino é bem aproveitada para tingir e fortalecer linhas e redes de pesca, enquanto espécies de mangue com pequeno e médio portes como *Avicennia schaueriana* e *Laguncularia racemosa* são mais utilizadas como lenha. (LIMA, 2007).

Atualmente nota-se a importância de conscientização ecológica e sócio-econômica do manguezal, pelo crescimento e desenvolvimento principalmente no uso das populações tradicionais, aumentando cada vez mais o interesse de pesquisadores e do Estado em estudos científicos multidisciplinares no âmbito nacional e internacional (TORRADO et al., 2005).

De acordo com Fonseca e Rocha (2001), se compararmos mundialmente o manguezal brasileiro com algumas regiões tropicais podemos observar que há uma redução no número de

espécies, sendo as espécies *Rhizophora mangle* (Mangue Vermelho), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn (Mangue Branco) e *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman (Mangue Preto) dominantes em porte arbóreo. Os autores destacam ainda que a plantação de manguezais tende a gerar maior quantidade de biomassa do que as formações originais, devido às ações de manejo florestal atualmente estarem bem desenvolvidas enquanto algumas florestas nativas precocemente chegam ao estado clímax, reduzindo as atividades físico-biológicas e resultam em uma menor produção de biomassa.

2.1.1 *Rhizophora mangle* L.

Prado et al. (2013) dizem que os manguezais possuem diversas zonas com diferentes níveis de estabilidade consequentes da variação na inundação do solo e que as plantas de *R. mangle*, ocorrem em todas as zonas de um manguezal das mais inundadas até as menos inundadas, variando suas estruturas de sustentação em função de cada zona. Porém apesar de se estabelecer em diferentes zonas, são frequentes principalmente em lugares mais alagados, onde os níveis das marés são mais elevados e permanecem assim por mais tempo (FONSECA et al., 2001).

A espécie da família *Rhizophoraceae* (SILVA et al., 2013) tem a denominação popular “Mangue Vermelho” devido a coloração avermelhada no interior de seu caule que pode ser observada ao raspar a sua casca. Entre suas características principais destacam-se suas raízes, escoras em forma de grandes arcos que saem do caule sustentando a planta no substrato lodoso e promovendo trocas gasosas com a atmosfera. As raízes do Mangue Vermelho possuem lenticelas em grande quantidade e um interior de aspecto esponjoso, composto por tanino que impede que essas raízes submersas se desgastem com o tempo. Além disso, possuem propágulos ou sementes, grandes e pesadas que se movem de acordo com o regime das marés e que podem tanto manter-se flutuando até o momento adequado de se fixar ou podem germinar ainda quando estão vinculadas à planta mãe e por possuírem formato de lanças caem de forma ideal para fixação no solo lodoso e facilitam a reprodução por viviparidade, característica da espécie (ALMEIDA et al., 2002; FONSECA et al., 2001; TORRADO et al., 2005).

2.1.2 *Laguncularia racemosa*. (L.) Gaertn

O Mangue Branco é uma das espécies da família *Combretaceae* que constitui o manguezal brasileiro. Possui essa denominação que vem do latim, *Laguncul*, relacionado ao formato dos seus frutos, significa “frasco pequeno” semelhante aos de perfume, enquanto *racemosa*, do latim “*racemus*” refere-se ao crescimento dos seus frutos do tipo vagem em tons de verde a marrom (ANDREU et al., 2016).

Esta espécie se encontra principalmente nas áreas mais afastadas da influência da oscilação das marés, ou seja, precisam de um período sem inundação, para garantir o processo de enraizamento no substrato. Sua reprodução é por sementes e os propágulos presentes na espécie não flutuam novamente depois de cair no solo (FONSECA et al., 2001)

A principal diferença do Mangue Branco em relação ao Vermelho e ao Preto consiste nas suas folhas arredondadas, no vermelho destacado em seu pecíolo, nas duas glândulas circulares na base da folha que são características da espécie e no menor porte podendo ocasionalmente ser encontradas como arbustos (Figura 1). Além disso, comparada á outras

espécies possuem um sistema radicular em que os pneumatóforos presentes também tem uma estrutura menor e podem ser bifurcados ou trifurcados (SILVA, 2003; TORRADO et al., 2005).



Figura 1. Pecíolo de *Laguncularia racemosa*. Créditos: Reinaldo Aguilar (Fonte: ANDREU et al., 2016)

2.1.3 *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman

Avicennia schaueriana é uma espécie arbórea, com caule de cor castanho-claro e escamas abaixo das folhas com coloração esbranquiçada, na qual suas raízes horizontais ficam próximas à superfície do solo enquanto as raízes axiais possuem ramificações expostas ao ar e eretas ao redor do tronco (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995 citado por SANTOS, 2010). Também chamadas de Mangue Preto ou Siriúba, suas plantas pertencem à família *Avicenniaceae*, e para o seu melhor desenvolvimento necessitam de áreas que sofrem menos com inundações periódicas, ou seja, são predominantes em zonas afastadas da influência das marés (FONSECA et al., 2001)

Diferente do Mangue Branco seus propágulos sempre flutuam mesmo com tamanho reduzido e quando comparado ao Mangue Vermelho, o Mangue Preto possui raízes com formatos mais regulares, frutos do tipo cápsula e sistemas radiculares compostos por inúmeros pneumatóforos que permitem o desenvolvimento da espécie e sua sobrevivência. (FONSECA et al., 2001; TORRADO et.al., 2005).

Santos et al. (2010) diz que é comum, as comunidades tradicionais que habitam florestas de manguezais usarem espécies do gênero *Avicennia* no tratamento de várias

doenças e apesar de não haver relatos científicos sobre as suas propriedades medicinais, considera-se importante o desenvolvimento de pesquisas sobre suas atividades farmacológicas.

2.2 Aspectos fitossanitários na produção de mudas

Um dos fatores essenciais para se obter um bom resultado na produção de mudas é a observação e o controle de todos os fatores que interferem no processo de produção inclusive o controle fitossanitário, que assim como a adubação, a irrigação e os tratamentos culturais é parte integrante do manejo nos viveiros florestais. As práticas culturais são utilizadas a fim de alterar as condições micro e mesoclimáticas que condicionam o patógeno e reduzem os níveis de inóculo e quanto maior for o cuidado na hora do cultivo, maior o sistema de defesa das plantas e menor a suscetibilidade de doenças, entretanto, considera-se importante a precaução na avaliação dos sintomas dado que o transplante errôneo, excesso de água, adubação e danos mecânicos, podem ser confundidos com doenças causadas por agentes bióticos. (Grigoletti Junior et al, 2001; Santos et al., 2007)

Para a existência de uma doença é necessário que haja a interação de um patógeno virulento com um hospedeiro suscetível e um ambiente favorável e para preveni-la esses fatores devem ser monitorados e controlados frequentemente. (BARBOSA, 2013)

2.3 Gênero *Colletotrichum* sp.

O gênero *Colletotrichum* é um gênero que abrange espécies de fungos responsáveis por atacar uma diversidade de hospedeiros no mundo inteiro, espécies essas que podem apresentar-se como saprófitas ou patogênicas. Quando patogênica a incidência desses fungos causa uma doença de extrema relevância econômica, considerada a doença de maior importância por ser letal a inúmeras culturas agrícolas e florestais e causar grandes prejuízos para os produtores. A doença causada por esses patógenos é chamada de Antracnose e predomina em regiões tropicais e subtropicais, em épocas e locais quentes e úmidos (MENEZES, 2006).

De acordo com Rosseto (2006) além da incidência nos cajueiros, abacateiros, acerolas e em pés de café, a Antracnose é mundialmente a doença mais preocupante nas mangueiras, pois mesmo após serem colhidos, seus frutos continuam sendo extremamente afetados, dificultando a manutenção dos mesmos. O fungo quando sobrevive na forma saprofítica, se desenvolve através de partes da planta que já foram afetadas por fungos patogênicos, sejam vinculadas a planta, no chão ou ainda em restos de ramos, flores e frutos.

Segundo Menezes (2006) para penetrar no hospedeiro as espécies contam com estruturas especializadas e após a penetração no tecido da planta surgem sintomas característicos da doença que podem ser vistos em toda a parte aérea da planta. Apesar de estarem presentes em diversas partes, os sintomas são frequentemente encontrados nas folhas, onde a princípio pequenas manchas irregulares e claras podem ser vistas em folhas jovens, aumentando esse tamanho com o tempo e acrescidas de deformações ou possíveis orifícios no limbo foliar proveniente do processo de infecção do fungo. Em inflorescências já é comum manchas de coloração marrom escuras, ovaladas e arredondadas, assim como nos frutos, porém esses contam com apodrecimentos e rachaduras que inviabilizam o consumo, resultando em perdas significativas na qualidade e rendimento.

As espécies do gênero *Colletotrichum* são frequentes em áreas onde há maior densidade de florestas e áreas de várzeas. São encontradas no campo, nos viveiros e até em processos de propagação vegetativa (MENEZES, 2006; MUNIZ et al., 2016).

A doença está diretamente relacionada à suscetibilidade do hospedeiro, a variedade do patógeno e a ambientes favoráveis que inclui maiores taxas de calor e umidade e pode ser disseminada através do vento ou da chuva (ROSSETO, 2006).

Dentro dos métodos de controle estão as técnicas de manejo adequadas, queima de todo material infectado reduzindo o inóculo presente na área, controle de insetos e cuidados durante a colheita evitando abertura de ferimentos nos frutos (PICCININ et al., 1997).

De acordo com Cardoso et al. (2013), atualmente tem aumentado os estudos voltados para o controle da Antracnose considerando desde o manejo na produção e a variabilidade genética até o uso de fungicidas. A identificação de espécies em *Colletotrichum* é uma atividade de extrema importância, considerando que espécies complexas como *C. gloeosporioides* exigem métodos complementares para identificação das espécies e subespécies que o compõem, principalmente quando o objetivo visa o melhoramento genético das plantas (MENEZES, 2006).

2.4 *Colletotrichum gloeosporioides*.

Atualmente, diversos fatores são utilizados para identificação e diferenciação de espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum* sendo a morfologia dos conídios a mais utilizada, seguido dos sintomas e da identidade do hospedeiro. Diante disso uma diversidade de espécies surgiram, porém apenas a análise dos aspectos morfológicos e culturais do patógeno são insuficientes para identificação de raças fisiológicas.

O fungo *C. gloeosporioides* na sua forma anamórfica provoca uma lesão circular, deprimida e com margem marrom clara. São favorecidos em ambientes de alta temperatura e umidade, pois quando encontram condições favoráveis produzem uma massa central de conídios com coloração alaranjada ou rosada localizada na superfície do tecido necrosado. A massa que envolve os conídios é constituída de polissacarídeos e proteínas solúveis em água e tende a evitar a dessecação dos conídios e aumentar a eficiência tanto da germinação quanto da penetração no tecido hospedeiro. Os conídios são hialinos, unicelulares e cilíndricos, formados nos conidióforos de seus acérvulos irregulares e podem ser constituídos ou não de setas (MENEZES, 1997; REZENDE et al., 1997; MENEZES, 2006).

Durante a infecção do patógeno, seus conídios após germinar produzem apressórios, estruturas especializadas que permitem a fixação do fungo no tecido da planta (MENEZES, 1997).

O fungo só apresenta sintomas em frutos maduros devido a necessidade da temperatura ideal e o contato com água livre para germinação e infecção no tecido do hospedeiro. Quando os frutos estão verdes a infecção é o que chamamos de latente, onde as plantas não apresentam sintomas, nesse caso os esporos germinam e formam os órgãos de sobrevivência denominados apressórios que apresentam uma resistência a condições adversas do ambiente (PICCININ, et al. 1997; REZENDE et al.. 1997; MENEZES, 2006).

As flores podem ser facilmente afetadas pelo patógeno ocorrendo seca ou abscisão das mesmas ou podem alterar o desenvolvimento do fruto através de queda prematura, podridões ou ambos. Pequenos pontos circulares, pretos ou marrons são características de *Colletotrichum* em frutos. As lesões vão aumentando, necrosando o tecido, podendo atingi-lo em até 100 %. A partir do momento em que o fungo ocupa o interior do fruto, sua polpa passa

a apresentar uma coloração que varia de bege a marrom, sintoma de apodrecimento que acarreta em queda. Em folhas os sintomas se apresentam como manchas escuras, necróticas, de formas e tamanhos irregulares (PICCININ et al., 1997).

O fungo quando está na fase saprófita sobrevive apenas do tecido morto do hospedeiro já afetado por sua forma patogênica (MENEZES, 1997).

2.5 Técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction)

A identificação por análise morfológica dos esporos é delicada e sujeita a uma grande margem de erro. Diversas técnicas têm sido desenvolvidas para a investigação da diversidade dos fungos através da análise direta do Ácido Desoxirribonucleico (DNA), evitando assim práticas desnecessárias, demoradas e de baixa precisão, que não permitem uma avaliação consistente em relação a tanta diversidade (SOUZA, 2005).

A técnica de PCR promove em pouco tempo uma amplificação de um fragmento específico da molécula de DNA através de três etapas principais, baseadas na temperatura e no tempo de cada ciclo e tem como função a duplicação da dupla fita de DNA, para inúmeras finalidades, dentre elas o estudo e o diagnóstico de doenças infecciosas. São inúmeras as técnicas de PCR aplicadas, sendo variável a duração de cada fase (BERGAMANN et al., 2016). O autor ainda afirma que existem diferentes técnicas de PCR que diferem na quantidade e no tempo de duração dos ciclos.

As amostras de DNA dos isolados são extraídas a partir do micélio e submetidas ao Teste de PCR para a amplificação da região do espaçador transcrito interno (ITS) gerando um produto a ser sequenciado. Os fragmentos da região ITS, gerados via PCR, são visualizados em gel de agarose. Quando há uma proximidade no tamanho desses fragmentos, pode estar relacionado à composição de um mesmo gênero entre patógenos, entretanto, é através do sequenciamento que observamos a diferença da composição nucleotídica, facilitando assim a separação dos organismos de espécies distintas (POLLETO, 2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

O estudo foi realizado com mudas provenientes de dois viveiros localizados em áreas distintas. O primeiro foi o Viveiro Florestal Luis Fernando Oliveira Capellão do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que situa-se a 22° 45' S e 43° 43' W, no município de Seropédica, região metropolitana do Rio de Janeiro (Figura 2). O clima da região é do tipo Aw de acordo com a classificação de Köppen, com chuvas predominantes entre novembro e março, precipitação anual média de 1.213 mm e temperatura média anual de 23,9° C (Carvalho et al., 2006).

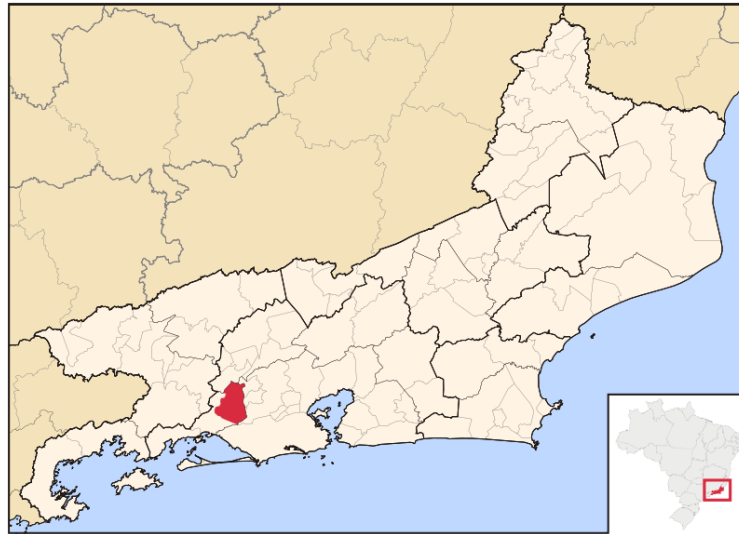


Figura 2. Localização do município de Seropédica no Estado do Rio de Janeiro. Fonte: Wikipédia, acessado em 18/09/2016.

O segundo foi o Viveiro de Tubiacanga, localizado na Ilha do Governador (Figura 3), que produz mudas dentro de uma área de manguezal, destinadas à recuperação de áreas degradadas.

Nos últimos anos os mangues da Baía de Guanabara vem sofrendo com impactos ambientais, este viveiro entre outros, vêm com uma proposta de recuperação dessas áreas de mangue através da produção de mudas de diversas espécies, incluindo os gêneros *Rhizophora*, *Avicennia* e *Laguncularia*, presentes no atual estudo.

Vale ressaltar que a área onde as mudas são produzidas são áreas características de manguezais, logo, o substrato utilizado, à água utilizada e a diversidade de fauna, flora e matéria orgânica encontrada ali contribui para o desenvolvimento das mudas na sua forma ideal.

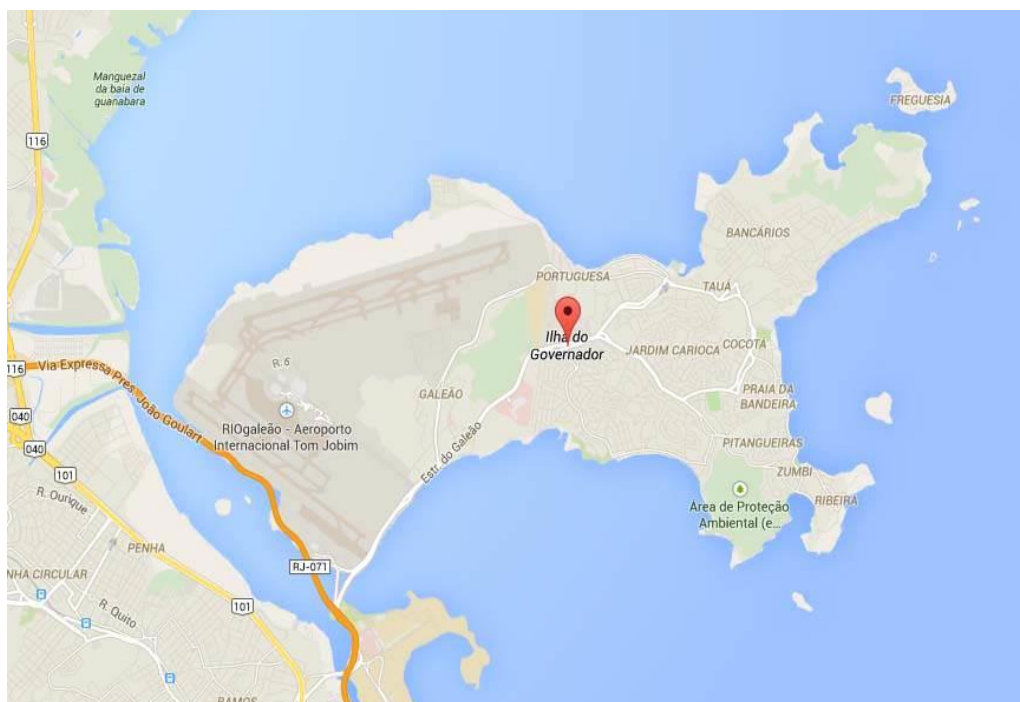


Figura 3. Localização da Ilha do Governador, RJ. Fonte: Google Maps, acessado em: 27/09/2016

3.2 Coleta do material

As mudas de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa* foram doadas pelo Viveiro da UFRRJ e levadas para a estufa, localizada na área de Fitopatologia da UFRRJ. Ao chegar ao local, três amostras de folhas de cada uma das espécies, que apresentavam sintomas, foram coletadas manualmente, cortadas com tesoura, embaladas em saco plástico e encaminhadas diretamente para o Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário (LODF), para o início dos testes laboratoriais.

Após a retirada das amostras, 10 mudas foram replantadas e colocadas em ambiente adequado dentro da estufa para a manutenção das mesmas.

Em Tubiacanga foram encontradas espécies de *Avicennia* (espécie conhecida como Siriuba ou Mangue Preto), a qual o cultivo de mudas é relativamente difícil de encontrar no Estado do Rio de Janeiro.

As mudas foram trazidas à Seropédica, juntamente com duas mudas de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa* sendo repetido o procedimento anterior, levando as mudas diretamente para a estufa, onde foram replantadas, com substrato adequado e três amostras de cada espécie coletadas de forma manual e levadas para o LODF, para o início das análises.

3.3 Observação

Por meio de método direto observou-se o sintoma (Figura4) associado ao sinal à procura de estruturas frutificativas do agente infeccioso, porém como as mesmas não foram encontradas, utilizou-se do método de câmara úmida (Figura 5), neste método uma folha de

cada espécie foi colocada em placa de petri com pedaços de algodão úmido e depois protegidas por uma campânula de vidro no intuito de propiciar um ambiente de alta umidade, favorável para a frutificação do agente causador dos sintomas. Após cinco dias foram feitos pequenos cortes do material que foram colocados em lâminas com uma gota de corante, onde através do microscópio estereoscópico e ótico tornou-se possível a visualização das estruturas fúngicas.



Figura 4. Manchas marrom-escuras com halos amarelados em folha de *Rhizophora mangle*



Figura 5 – Método de câmara úmida

3.4 Isolamento

Utilizou-se do método de implantação de tecido para o isolamento do fungo. Essa etapa começa a partir da desinfestação das amostras, onde cada folha é cortada em pequenos pedaços contendo uma parte doente e uma parte sadia do tecido, destacando o limite da lesão.

Dentro do fluxo laminar, esses fragmentos foram colocados em placas de petri com água destilada esterilizada e deixados por 15 minutos a fim de enrijecer a estrutura do tecido. Em seguida foram transferidas com o auxílio de uma pinça estéril para novas placas contendo solução de Hipoclorito de sódio NaClO (25 %) por 15 minutos para assepsia completa do material. Por fim foram repassados novamente para água destilada por mais 15 minutos para retirada do excesso do hipoclorito.

Dentro do fluxo, próximo a chama para evitar a contaminação do material, os fragmentos de cada espécie foram colocados em papel filtro, deixados por cinco minutos e transferidos para placas contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Àgar (BDA). Após as placas serem devidamente identificadas e lacradas, as mesmas foram para estufa onde permaneceram por sete dias.

3.5 Teste de Patogenicidade

Após sete dias optou-se pela repicagem do material, tanto para tubos de ensaio quanto para placas de petri ambos contendo BDA, no intuito de manter a pureza do isolado. As culturas foram mantidas por repicagens periódicas em meio BDA.

Para o teste de patogenicidade foi feita a inoculação do fungo isolado de cada espécie em suas respectivas folhas sadias e deixadas na estufa por sete dias. No procedimento, as três folhas sadias foram primeiramente desinfestadas e em seguida colocadas em placas de petri estéril, contendo papel filtro umidificado com água destilada esterilizada. De cada isolado, foi retirado um pequeno pedaço do meio com a cultura, colocado na parte superior da folha sadia, onde pequenos furos foram feitos de forma com que o meio fosse implantado no interior da folha.

As avaliações foram feitas semelhante a técnica de Andrade et al. (2007) até sete dias após a inoculação, através de uma escala de notas de 0 a 5, na qual 0 representa folhas que não apresentaram nenhum tipo de sintoma depois da inoculação e 5 representando o maior grau de severidade da doença através dos sintomas.

3.6 Teste de PCR

As próximas etapas consistiram no re-isolamento das folhas que agora já apresentavam sintomas e do Teste de PCR.

O teste de PCR foi realizado para a identificação molecular do fungo. No procedimento foram utilizados os *primers* CgInt e ITS4 específico para *Colletotrichum gloeosporioides* e o programa no Termociclador de 94°C por dois minutos; 35 ciclos de 94°C por 40 segundos, 54°C por um minuto e 72°C por um minuto; 72°C por cinco minutos; 4°C por cinco minutos. Após a amplificação do DNA foi feito a eletroforese em gel de agarose a 1,5% de forma a visualizar em transiluminador de luz ultravioleta, o fragmento amplificado.

3.7 Resistência

Após todas as análises, optou-se por inocular o isolado de cada fungo em três repetições, nas três respectivas espécies a fim de saber a resistência de cada espécie à variabilidade dos isolados. O procedimento foi feito por etapas, sendo a avaliação feita por escala. Os sintomas receberam notas de 0 a 5, onde 0 seriam as folhas isentas de sintomas e 5 o máximo de agressividade do tecido foliar após a inoculação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O viveiro de Tubiacanga é localizado em área de manguezal, áreas frequentemente inundadas, apresentando assim maior nível de umidade em comparação ao viveiro da UFRRJ.

Ambos os viveiros florestais possuem área cercada por uma vegetação densa, composta por diversas espécies que proporcionam ao ambiente maior umidade e influenciam a temperatura, fatores que aumentam a incidência de fungos (FERNANDES, 2011).

As amostras coletadas nas diferentes áreas de estudo, apresentavam sintomas característicos de fungo, porém não apresentavam sinal quando observadas em microscópio. Após sete dias expostas a um ambiente de alta umidade através do método de câmara úmida, tornou-se possível a visualização das estruturas frutificativas do fungo (Figura 6).

Conforme Pio-Ribeiro et al. (1997) as condições de umidade favorável demonstraram as áreas afetadas facilmente perceptíveis em forma de pontuações provenientes da frutificação. Além disso, os esporos aparecem cobertos por uma massa de coloração alaranjada.

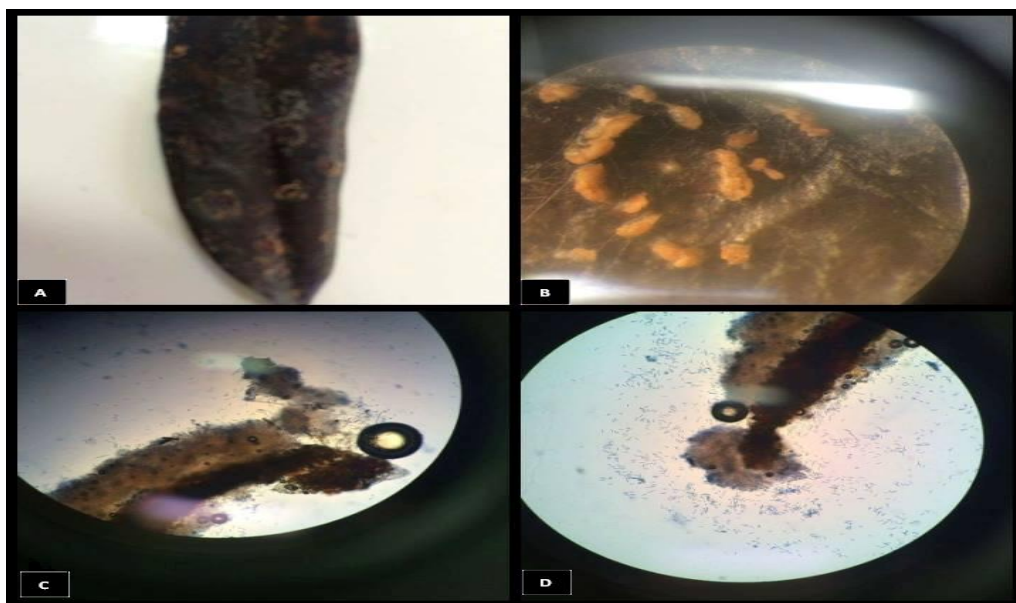


Figura 6. Características morfológicas de *Colletotrichum* em tecido de *R. mangle*: Corpo de frutificação e conídios (A), Esporos envolvidos por massa alaranjada rica em biotina (B), Observação da Lâmina por corte do tecido de *R. mangle* (C), Conídios (D).

As colônias dos isolados das três espécies variaram na coloração (Figura 7). Em *R. mangle*, as colônias apresentaram coloração que variava de cinza-escuro a preta, em *A. schaueriana* era branca e, em *L. racemosa* branca com a produção de massas de conídios na superfície da colônia, de cor alaranjada. As colônias variaram, também, na formação de micélio, desde flocoso sem conídios perceptíveis, até micélio escasso, submerso e bem esporulado, sete dias após à incubação (COUTO et al., 2004).

A classificação morfológica e cultural das três amostras baseou-se no tipo de micélio, frutificação e esporulação, sendo esses baseados em chaves dicotômicas (FERNANDES, 2011).

A associação das características determinou o gênero *Colletotrichum*, como o gênero do fungo causador dos sintomas e segundo Couto et al. (2004), a variabilidade encontrada nos isolados, pertencentes à mesma espécie de fungo em mesmo substrato, é proveniente de diferentes raças fisiológicas.

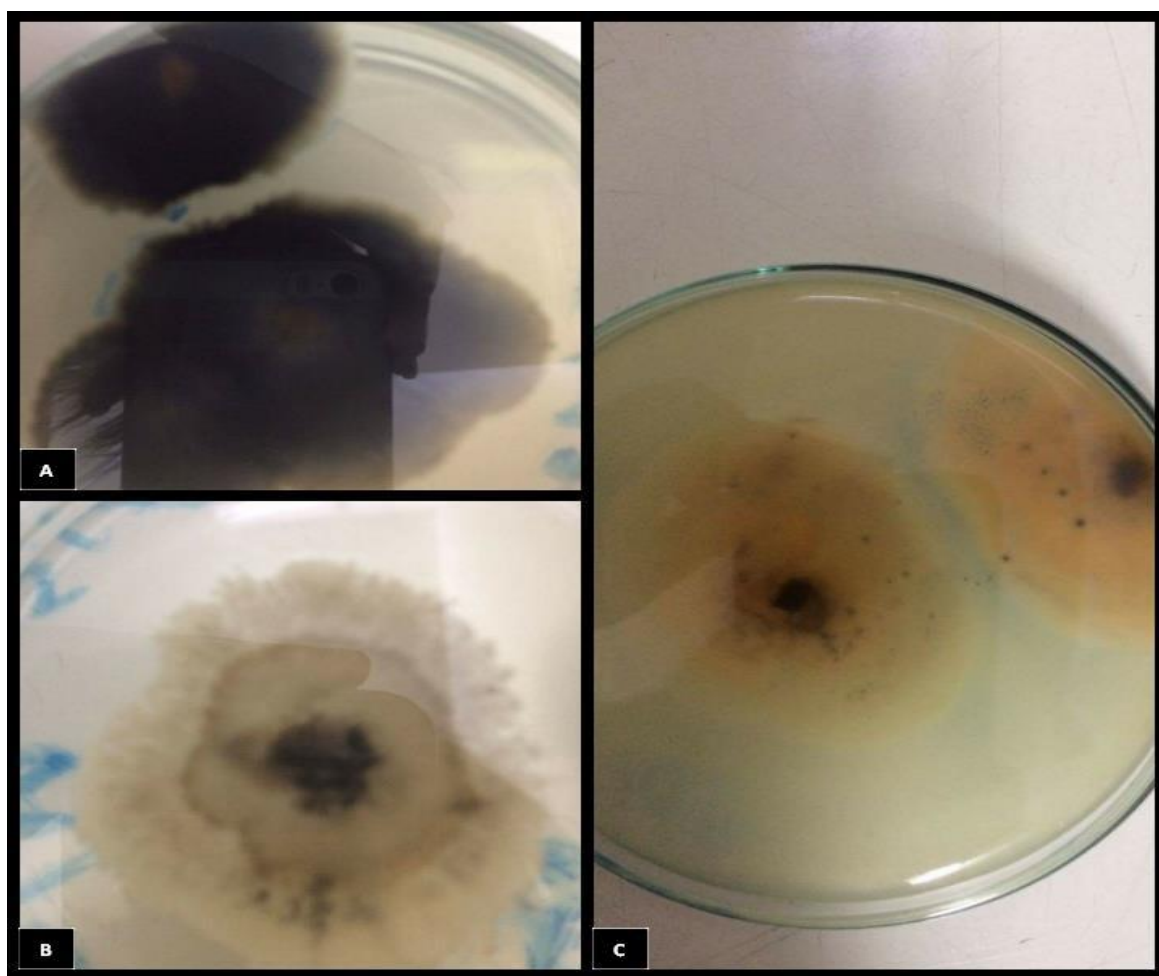


Figura 7. Isolados de *Colletotrichum*, em meio de cultura BDA, encontrado em *R. mangle* (A), em *A. schaueriana*. (B), em *L. racemosa* (C)

Após cinco dias de inoculação o teste de patogenicidade provou que as três variedades de manga apresentaram suscetibilidade aos isolados, apresentando os mesmos sintomas do início do processo. Seguiu-se com o re-isolamento dos patógenos em BDA concluindo os

Postulados de Koch que permite afirmar que o fungo encontrado é o único responsável pelos sintomas. (BATISTA et al., 2007)

Menezes (2006) afirma que o sistema de identificação baseado apenas nas características morfológicas e culturais, ou na combinação entre eles, é considerada insuficiente por não permitir a identificação de raças fisiológicas. Sendo assim, a classificação da espécie do presente estudo se deu através de Teste de PCR, realizado com *primers* específicos para *C. gloeosporioides* onde as características moleculares indicaram a presença de *C. gloeosporioides* em *R. mangle*, *L. racemosa* e *A. schaueriana*, se tratando do primeiro relato da doença em espécies de mangue no Estado do Rio de Janeiro.

Diante da variabilidade encontrada em fungos de mesma espécie, incorporados em espécies de plantas diferentes, o estudo seguiu com a perspectiva de conhecer a resistência de cada espécie de mangue aos diferentes isolados, ou, a severidade com que cada isolado de *C. gloeosporioides* atinge as diferentes espécies de mangue.

A primeira espécie a ser testada foi *L. racemosa*, seguido de *R. mangle* e *A. schaueriana*.

Após inocular o isolado de *L. racemosa* em *R. mangle*, em *A. schaueriana* e na sua própria folha sadia, assim como observado por Andrade et al. (2007), foi possível visualizar pequenas manchas de coloração marrom no início, seguidas de manchas pretas e deprimidas, envoltas por um halo de tecido aquoso, com suave diferença de cores entre a extremidade e o centro da lesão. Os diferentes níveis de severidade do patógeno podem ser observados na variação de diâmetro e na intensidade das lesões em um mesmo período de tempo (Figura 8).



Figura 8. Agressividade de *Colletotrichum* como resultado da inoculação do isolado de *L. racemosa*: (A) Lesão em *A. Schaueriana*, (B) Lesão em *L. racemosa* provocada por *C. gloeosporioides*, (C) Lesão em *R. mangle*.

O teste de patogenicidade deu positivo nas três espécies, ou seja, tanto *A. schaueriana* quanto *R. mangle* são suscetíveis a variabilidade genética de *C. gloeosporioides* encontrada em *L. racemosa* no início do experimento, sendo *A. schaueriana* mais resistente ao ataque e

L. racemosa mais suscetível ao próprio isolado. Procedeu-se com o re-isolamento cumprindo o Postulado de Kock

A segunda etapa teve início duas semanas após a primeira, foi o tempo suficiente para a obtenção dos resultados anteriores. A espécie testada foi *R. mangle*, repetindo os procedimentos (Figura 9).



Figura 9. Agressividade de *Colletotrichum* como resultado da inoculação do isolado de *R. mangle*: (A) Lesão em *R. mangle*, (B) Lesão em *L. racemosa* provocada por *C. gloeosporioides*, (C) Lesão em *A. schaueriana*

O teste de patogenicidade foi positivo para o isolado de *R. mangle* nas duas espécies, sendo os sintomas diferenciados.

A agressividade dos sintomas foi maior em *R. mangle*, pois o diâmetro da lesão foi maior, além disso destaca-se as estruturas frutificativas do fungo no centro da lesão, mostrando a maior susceptibilidade da espécie para o próprio isolado. Por outro lado, *L. racemosa*, apresentou-se quase isenta de sintomas, exceto pelas estruturas frutificativas no entorno do tecido lesionado e *A. schaueriana* apresentou-se intermediária comparada as outras.

Novamente foi feito o re-isolamento de cada uma das folhas, seguindo os cuidados fitossanitários, concluindo o Postulado de Kock.

A última etapa consistiu na inoculação do isolado de *A. schaueriana* nas três espécies seguindo as mesmas técnicas (Figura 10). Seis dias após a inoculação obteve-se:



Figura 10. Agressividade de *Colletotrichum* como resultado da inoculação do isolado de *A. schaueriana*: Lesão em *R. mangle* provocada por *C. gloeosporioides* (A) Lesão em *Rhizophora mangle*, (B) Lesão em *Laguncularia racemosa* provocada por *C. gloeosporioides*, (C) Lesão em *A. schaueriana*

Na última etapa pode-se observar menor agressividade do fungo em *L. racemosa* após seis dias de inoculação, enquanto grande parte da folha de *R. mangle* foi tomada por uma grande mancha necrosada. O Manguê Preto apesar de apresentar sintomas, possui uma certa resistência se apresentando intermediário.

Através da Tabela 1, constatou-se que *R. mangle* foi mais suscetível aos isolados de *C. gloeosporioides* seguido por *L. racemosa*. e *A. schaueriana*. Foi possível observar que dependendo do isolado fúngico, as espécies de mangue utilizadas apresentaram diferença na suscetibilidade.

Tabela 1. Severidade de *C. gloeosporioides* em espécies de mangue

Isolado de <i>Colletotrichum</i>	<i>R. mangle</i>	<i>L. racemosa</i>	<i>A. schaueriana</i>
<i>L. racemosa</i>	5	5	1
<i>R. mangle</i>	5	1	2
<i>A. schaueriana</i>	5	1	3
Controle (só BDA)	0	0	0

Araújo et al (2016) testaram a patogenicidade e a agressividade de isolados de *C. gloeosporioides* em cultivares de pimentas ornamentais também utilizando uma escala de notas, porém comparando diferentes épocas do ano. Em seus resultados os três isolados de *C. gloeosporioides* foram patogênicos às três variedades de pimenta ornamental avaliadas, com diferentes níveis de agressividade entre as variedades indicando a variabilidade genética entre os isolados de *C. gloeosporioides*. Dados esses semelhantes aos obtidos com os isolados de *Colletotrichum* oriundos das espécies de mangue.

5. CONCLUSÕES

O trabalho realizado concluiu que há a presença de *Colletotrichum*, em *R. mangle*, *L. racemosa* e *A. schaueriana*, ou seja, todas as espécies são suscetíveis à Antracnose. Entretanto, as características morfoculturais apresentaram variabilidade que pode ser explicada pela existência de diferentes raças fisiológicas em uma mesma espécie.

O Teste de PCR constatou que o fungo encontrado pertence à espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, sendo este responsável pelos sintomas encontrados nas três variedades se tratando do primeiro relato de Antracnose em espécies de mangue no Estado do Rio de Janeiro.

O Teste de Patogenicidade provou a virulência do patógeno nos mangues.

Tanto a inoculação por repetições, quanto a escala de notas permitiram avaliar o grau de severidade da doença, na qual o Mangue Preto apresentou maior resistência aos isolados de *C. gloeosporioides* comparado ao Vermelho e ao Branco e o Mangue Vermelho maior suscetibilidade comparado ao Branco e ao Preto.

A comparação das diferentes áreas de estudo e o manejo empregado não apresentaram relação direta na prevenção da doença isso mostra a importância de novos estudos para elaboração de medidas de controle a fim de se evitar a disseminação do patógeno no campo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, V.L.S.; GOMES, J.V.; BARROS, H.M.; NAVAES, A. Produção de mudas de Mangue Vermelho (*Rhizophora mangle*) e Mangue Branco (*Laguncularia racemosa*) na tentativa de conservação dos manguezais em comunidades carentes do litoral norte do Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 1., 2002, João Pessoa. **Anais eletrônicos ...** João Pessoa: UFPB, 2002. Disponível em: <http://www.prac.ufpb.br/anais/Icbeu_anais/anais/meioambiente/racemosa.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2016.
- ALONGI, D.M. Present state and future of the world's mangrove forests. **Environmental conservation**, v. 29, n 03, p. 331-349, 2002.
- ANDRADE, E. M.; UESUGI, C.H.; UENO, B.; FERREIRA, M.A.S.V. Caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 21-31, 2007.
- ANDREU, M.G.; FRIEDMAN, M.H.; McKENZIE, M.; QUINTANA, H.V. *Laguncularia racemosa*, White Mangrove. In: **School of Forest Resources and Conservation**. UF/IFAS Extension . Anais... Flórida: University of Florida, 2016. p. 1-3.
- ARAÚJO, N.A.F.; VIEIRA, J.D.M.; MOURA, M.R.; PESSOA, W.R.L.S.; BARGUIL, B.M. Pathogenicity and aggressiveness of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates in ornamental pepper. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 321-326, 2016.
- ARAÚJO, P.V.N. Texto publicado no site do **Grupo de Estudos de Ecologia e Fisiologia de Animais Aquáticos**. 2011. Disponível em: <<http://www.geefaa.com/manguezal.php>>. Acesso em: 09 out. 2016.
- BARBOSA, Luiz Mauro. **Políticas Públicas para a Restauração Ecológica e Conservação da Biodiversidade**, 2013. São Paulo.
- BATISTA, T.F.C.; OLIVEIRA, F.C.; TABOSA, S.A.S.; NUNES, M.A.L. Ocorrência de antracnose em frutos de açaí, *Euterpe oleracea*, em Muaná, Pará. **Fitopatologia brasileira**. Brasília, v. 32, n. 4, 2007.
- BERGAMANN, G.H.; FAVERI, L., PEREIRA, K., PACHOLOK, M., SCHNEIDER, F.A. 2016. **Reprodução do ciclo PCR (Polimerase Chain Reaction) através do desenvolvimento de um termociclador**. Anais... Curitiba: Centro Universitário Autônomo do Brasil – UniBrasil, 2016. p. 1-7.
- CARDOSO, J.E.; VIANA, F.M.P.; FREIRE, F.C.O.; MARTINS, M.V.V. Doenças do cajueiro. **Agronegócio Caju—Práticas e Inovações**, p. 217-238, 2013.
- CARVALHO, D.F.; SILVA, L.D.B.; FOLEGATTI, M.V.; COSTA, J.R.; CRUZ, F.A. Avaliação da evapotranspiração de referência na região de Seropédica-RJ, utilizando lisímetro de pesagem. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.14, n.2, p.108-116, 2006.

COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 406 - 412, 2004.

CUNHA-LIGNON, M. **Dinâmica do manguezal no Sistema de Cananéia-Iguape, Estado de São Paulo–Brasil**. 2001. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de oceanografia biológica) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

FERNANDES, L.S. **Levantamento de fungos em mudas produzidas em viveiro florestal**. 2011. 34 f. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

FONSECA, S.M; ROCHA, M.T. **O MDL e as florestas de Manguezal**. Trabalho Científico Gestão Socioambiental VII SEMEAD. São Paulo, 13 p. 2001.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G.; SANTOS, A.F. **Estratégia de Manejo de Doenças em Viveiros Florestais**. Colombo, PR. Embrapa Florestas. Ministério da Agricultura. Circular Técnica 47. 2001.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2., p.671- 672.

LIMA, A.D. ESTUDOS FITOGEOGRÁFICOS DE PERNAMBUCO. In: **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, 4., 2007, Recife. Anais eletrônicos... Disponível em: <<http://www.journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/47/44>>. Acesso em: 06 nov. 2016

MAIA, L. P.; LACERDA, L.D.; MONTEIRO, L. H. U.; SOUZA, G. M. E. **Atlas dos manguezais do nordeste do Brasil: avaliação das áreas de manguezais dos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco**. v. 1. Fortaleza: SEMACE, 2006. 125 p.

MELO, J.G.S. **Registro das dinâmicas espaciais dos manguezais no baixo curso do Capibaribe**. 2014. 126 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Urbano) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 3, p. 170-179, 2006.

MENEZES, M. Doenças do Cajueiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, v. 2, 3. ed. São Paulo: Ceres, p. 194-199. 1997.

MUNIZ, M.F.B.; POLETO, I.; LIPPERT, D.B. **Doenças em espécies arbóreas no sul do Brasil: manual de identificação**, 1. ed. Jundiauí: Paco Editorial, p. 88, 2016.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F. Doenças do Abacateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, v. 2, 3. ed. São Paulo: Ceres, p. 11-18. 1997.

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R.L.R. Doenças do Maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, v. 2, 3. ed. São Paulo: Ceres, p. 489-498. 1997.

POLETO, I.; LUPATINI, M.; MUNIZ, M.F.B.; ANTONIOLLI, Z.I. Caracterização e patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. causadores de podridão-de-raízes aa erva-mate. **Floresta**, Curitiba: v. 42, n. 1, p. 95-104, 2012.

PRADO, A.; GOMES, C.C.; LIBRAN, F.; OROCCHIO, F. Variações na morfologia de sustentação em *Rhizophora mangle* (*Rhizophoraceae*) em diferentes condições de inundação do solo. In: MACHADO, G.; PRADO, P.I.K.L.; MARTINI, A.Z. Livro do curso de campo “**Ecologia da Mata Atlântica**”. 7. ed. 2013. Universidade de São Paulo, SP.

RAMOS E SILVA, C.A.; SILVA, A.P.; OLIVEIRA, S.R. Concentration, stock and transport rate of heavy metals in a tropical red mangrove, Natal, Brazil. *Marine Chemistry*, v. 99, n. 01, p. 2-11, 2006

REEF, R.; FELLER, I.C.; LOVELOCK, C.E. **Nutrition of mangroves**. *Tree Physiology*, v. 30, n. 09, p. 1148-1160, 2010.

REZENDE, J.A.M.; FANCELLI, M.L. Doenças do Mamoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, v. 2, 3. ed. São Paulo: Ceres, p. 453- 463. 1997.

ROSSETTO, C.J. **Doenças da Mangueira - Antracnose**. 2006. Disponível em: <<http://infobios.com/artigos/AntracnoseManga/Antracnose.htm>>. Acesso em: 15 de nov. de 2016.

SANTOS, A., TESMANN, D., VIDA, J., & SANTANA, D. Circular Técnica Embrapa n°146: Manejo Fitossanitário em Viveiros de Palmeiras para Palmito. Colombo, PR, Novembro. 2007.

SANTOS, S.C.; FERREIRA, F.S.; DAMIÃO, A.O.; DAMIÃO, A.O.; BARROS, T.F.; ROSSI-ALVA, J.C.; FERNANDEZ, L.G. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke, Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 01, p. 124-129, 2010.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Grupo de ecossistemas: manguezal, marisma e apicum**. São Paulo: Brasil, 119 p. 1999.

SILVA, J.P.G.; SILVA, R.K.S.; LIMA, R.B.A.; SILVA, V.F.; FELICIANO, A.L.P. Caracterização dendrológica de *Rhizophora Mangle* L., RECIFE-PE. In: **JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO - JEPEX**, 13., 2013, Recife. Anais eletrônicos... Recife: UFRPE, 2013. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R1340-2.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2016.

SILVA, M.B.D.S. **Estudo fitoquímico e biológico de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. f. (Mangue branco)**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em biotecnologia de produtos bioativos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SOUZA, F.A. Identificação molecular e caracterização da diversidade de espécies de fungos micorrízicos arbusculares do gênero *Gigaspora* por PCR-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). **Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2005.

TORRADO, V.P.; OTERO, X.L.; FERREIRA, T.; JUNIOR, V.S.; BICEGO, M.; GONZALEZ, M.T.G.; MACIAS, F. Solos de mangue: Características, Gênese e Impactos Antrópicos. **Edafología**, v. 12, n. 3, p. 199-244, 2005.

VANNUCCI, M. **Os Manguezais e Nós: Uma Síntese de Percepções**. 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003. 60 p.