

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA REGIÃO TOCANTINA DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS NATURAIS E TECNOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - LICENCIATURA

JÚLIA SILVA NEPOMUCENO

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ASSOCIAÇÃO EXTRATO DE *Monotagma plurispicatum* (Körn) K. Schum. E *Trichoderma polysporum* (Link) Rifai NO CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* W. L. Gordon

IMPERATRIZ - MA

2024

JÚLIA SILVA NEPOMUCENO

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ASSOCIAÇÃO EXTRATO DE *Monotagma plurispicatum* (Körn) K. Schum. E *Trichoderma polysporum* (Link) Rifai NO CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* W. L. Gordon

Trabalho de Conclusão de Curso Apresentado Ao Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL, Como Requisito parcial para Conclusão do Curso de Ciências Biológicas - Licenciatura.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ivaneide de Oliveira Nascimento.

IMPERATRIZ - MA

2024

N441a

Nepomuceno, Júlia Silva

Avaliação in vitro da associação extrato de *Monotagma plurispicatum* (Körn) K. Schum. E *Trichoderma polysporum* (Link) rifai no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* W. L. Gordon / Júlia Silva Nepomuceno – Imperatriz, MA, 2024.

40 f. il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL, Imperatriz, MA, 2024.

1. Controle biológico. 2. Botânica. 3. *Trichoderma polysporum*. 4. *Fusarium oxysporum* spp. I. Título.

CDU 581

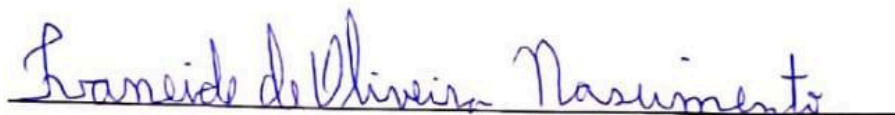
CRB- MA 13/729

JÚLIA SILVA NEPOMUCENO

AVALIAÇÃO IN VITRO DA ASSOCIAÇÃO EXTRATO DE *Monotagma plurispicatum* (Körn) K. Schum. E *Trichoderma polysporum* (Link) Rifai NO CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* W. L. Gordon

Aprovada em: 15/01/24

Banca Examinadora:



Prof(a). Dr(a). Ivaneide de Oliveira Nascimento, Orientadora

Doutora em Agroecologia

CCENT/UEMASUL *Campus* Imperatriz

Documento assinado digitalmente

gov.br

ANTONIO EXPEDITO FERREIRA BARROSO DE CARVALHO

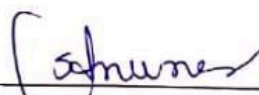
Data: 20/01/2024 13:57:04-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof(a). Ms. Antônio Expedito Ferreira Barroso de Carvalho

Mestre em Ciências Florestais

CCENT/UEMASUL *Campus* Imperatriz



Prof.^a Dr.^a Sheila Elke Araújo Nunes

Doutora em Medicina Tropical e Saúde Pública

CCENT/UEMASUL *Campus* Imperatriz

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Júlio V. Nepomuceno Neto e Elaide Lucena Silva pelo apoio financeiro, amoroso e moral, principalmente a minha mãe, por temer pela minha vida e futuro todos os dias, mas nunca colocar uma pedra sequer no meio do caminho, apenas rampas, eu te amo.

Quero agradecer em especial a minha mãe/orientadora Prof^o Dra Ivaneide de Oliveira Nascimento, por aceitar me orientar nos "45 do segundo tempo" e por todo apoio e auxílio em vários outros projetos.

À todos os integrantes do Laboratório de Microbiologia e Ciências da Saúde por todo companheirismo e alegria constante independente das circunstâncias, mas principalmente a Laiara Carneiro de Sousa, Irwing Carlo e João Vitor pelo acolhimento, fazendo eu me sentir em casa. Agradeço a Gabriel Guzzard e Gildean Macedo pelas dicas de localização, identificação e manipulação da espécie vegetal, além de Petronilio de Araújo pela paciência e auxílio no dia da coleta.

Como já dizia Provérbio Africano: "O rio que esquece onde nasce, seca e morre". Nunca esquecerei de todos os familiares e amigos que me ajudaram de várias formas nessa jornada até aqui.

Por fim, mas não menos importante, agradeço aos professores participantes da banca examinadora, pela disponibilidade, análise e orientação para o melhoramento deste trabalho.

RESUMO

Com a agricultura se tornando um dos pilares da economia brasileira, surge a necessidade do desenvolvimento de técnicas agrícolas mais econômicas e sustentáveis. Alguns exemplos são a utilização de cultivares mais resistentes e controle químico e biológico, que é o uso de produtos naturais ou organismos vivos com ação antagônica à fitopatógenos. Esse trabalho teve por objetivo a avaliação da atividade, *in vitro*, de *Monotagma plurispicatum* no crescimento micelial de *Trichoderma polysporum* visando à sua associação para o biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Folhas de *Monotagma plurispicatum* foram coletadas na Resex do Ciriaco e seu extrato aquoso utilizado nas proporções de 0, 3, 6 e 10% em meio de cultura BDA, com 4 repetições em dois experimentos. O 1º com um disco de 6 mm de diâmetro de *Trichoderma polysporum* ao centro da placa de Petri e o 2º com dois discos, um de *Trichoderma polysporum* e *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* com distância de 3,3 cm entre si. Avaliadas através de medições diárias do maior eixo da colônia, com dados submetidos ao teste Tukey ao nível de 5% de variância. O experimento demonstrou que todas as concentrações com extrato vegetal inibiram o crescimento de *Trichoderma polysporum*, chegando ao final do 2º experimento em tratamento de 10% com maior inibição micelial se comparado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, concluindo que a associação não é viável nas condições testadas.

Palavras-chave: Biocontrole. Fitopatógeno. Antagônico.

ABSTRACT

With agriculture becoming one of the pillars of the Brazilian economy, there is a need to develop more economical and sustainable agricultural techniques. Some examples are the use of more resistant cultivars and chemical and biological control, which is the use of natural products or living organisms with antagonistic action against phytopathogens. This work aimed to evaluate the *in vitro* activity of *Monotagma plurispicatum* on the mycelial growth of *Trichoderma polysporum* with a view to its association for the biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Leaves of *Monotagma plurispicatum* were collected at Resex do Ciriaco and its aqueous extract used in proportions of 0, 3, 6 and 10% in BDA culture medium, with 4 replications in two experiments. The 1st with a 6 mm diameter disc of *Trichoderma polysporum* in the center of the Petri dish and the 2nd with two discs, one of *Trichoderma polysporum* and *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* with a distance of 3.3 cm from each other. Evaluated through daily measurements of the largest axis of the colony, with data submitted to the Tukey test at a level of 5% variance. The experiment demonstrated that all concentrations with plant extract inhibited the growth of *Trichoderma polysporum*, reaching the end of the 2nd experiment in 10% treatment with greater mycelial inhibition compared to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, concluding that the association is not viable under the tested conditions.

Key words: Biocontrol. Phytopathogen. Antagonistic.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Espécie vegetal <i>Monotagma plurispicatum</i> em campo de coleta na Reserva Extrativista do Ciriaco..... | 16 |
| Figura 2 - Folhas de <i>M. plurispicatum</i> trituradas para preparação do extrato bruto..... | 18 |
| Figura 3 - Câmara de fluxo laminar com as placas de Petri e os meios de cultura BDA autoclavados..... | 19 |
| Figura 4 - Placas de Petri com o fungo <i>T. polysporum</i> repicado e devidamente vedadas com plástico filme, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seu tratamento e repetição..... | 19 |
| Figura 5 - Placas de Petri com os fungos <i>T. polysporum</i> e <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i> repicados e devidamente vedadas com plástico filme, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seu tratamento e repetição..... | 21 |
| Figura 6 - Colagem de fotos da medição diária das colônias com o auxílio de um paquímetro..... | 22 |
| Figura 7 - Placas de Petri do experimento em que <i>T. polysporum</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> no 6º dia de medição, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seus tratamentos e repetições..... | 22 |
| Figura 8 - Placas de Petri do experimento em que <i>T. polysporum</i> e <i>F. oxysporum</i> sp. f. <i>passiflorae</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> no 6º dia de medição, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seus tratamentos e repetições..... | 23 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 – Análise do Crescimento Micelial, <i>in vitro</i> , de <i>T. polysporum</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> no primeiro experimento..... | 26 |
| Gráfico 2 – Análise da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial, <i>in vitro</i> , de <i>T. polysporum</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 27 |
| Gráfico 3 – Análise do Índice de Velocidade de Crescimento, <i>in vitro</i> , de <i>T. polysporum</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> .. | 28 |
| Gráfico 4 – Análise do Crescimento Micelial, <i>in vitro</i> , de <i>T. polysporum</i> e <i>F. oxysporum</i> sp. f. <i>passiflorae</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 30 |
| Gráfico 5 – Análise da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial, <i>in vitro</i> , de <i>T. polysporum</i> e <i>F. oxysporum</i> sp. f. <i>passiflorae</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 32 |
| Gráfico 6 – Análise do Índice de Velocidade de Crescimento, <i>in vitro</i> , de <i>T. polysporum</i> e <i>F. oxysporum</i> sp. f. <i>passiflorae</i> em BDA adicionado de extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 33 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Análise da variação de crescimento, PIC e IVCM de *Trichoderma polysporum* em meio de cultura BDA com diferentes concentrações de extrato aquoso foliar de *Monotagma plurispicatum*..... 26
- Tabela 2** – Análise da variação de crescimento, PIC e IVCM de *Trichoderma polysporum* em meio de cultura BDA com diferentes concentrações de extrato aquoso foliar de *Monotagma plurispicatum* e isolado de *Fusarium sp.* 30
- Tabela 3** – Análise da variação de crescimento, PIC e IVCM de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em meio de cultura BDA com diferentes concentrações de extrato aquoso foliar de *Monotagma plurispicatum*..... 33

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 8 |
| 2. OBJETIVOS..... | 9 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 9 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 10 |
| 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA..... | 10 |
| 3.1 Controle biológico..... | 10 |
| 3.2 Princípios ativos..... | 11 |
| 3.3 Descrição botânica de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 12 |
| 3.4 <i>Trichoderma polysporum</i> e sua ação antagônica..... | 12 |
| 3.5 <i>Fusarium oxysporum</i> spp. e a realização de estudos para seu tratamento..... | 14 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 15 |
| 4.1 Área de coleta..... | 15 |
| 4.2 Excursão de campo para coleta da espécie vegetal..... | 15 |
| 4.3 Preparação de extrato vegetal..... | 17 |
| 4.5 Ensaio experimental do extrato vegetal de <i>M. plurispicatum</i> em meio de cultura BDA sob <i>Trichoderma polysporum</i> | 19 |
| 4.6 Ensaio com o extrato vegetal em BDA para crescimento de <i>Trichoderma polysporum</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i> | 20 |
| 5. RESULTADOS..... | 25 |
| 5.1 Avaliação do crescimento micelial de <i>T. polysporum</i> em meio de cultura BDA com extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 25 |
| 5.2 Avaliação do crescimento micelial de <i>T. polysporum</i> e <i>F. oxysporum</i> sp. f. <i>passiflorae</i> em meio de cultura BDA com extrato de <i>Monotagma plurispicatum</i> | 29 |
| 6. DISCUSSÃO..... | 34 |
| 7. CONCLUSÃO..... | 35 |
| REFERÊNCIAS..... | 36 |

1. INTRODUÇÃO

Graças ao desenvolvimento tecnológico e ao empreendedorismo do produtor rural, a agricultura brasileira passou a corresponder por boa parte da produção mundial de alimentos e permitiu o cultivo de culturas mais econômicas e sustentáveis, aumentando assim a produtividade e preservando o uso da terra (Meyer, 2019). Porém, o enfoque do ser humano apenas no interesse econômico propiciou o desenvolvimento de técnicas agrícolas que contribuem para a degradação do meio ambiente, como a utilização de fertilizantes e agrotóxicos (Cidreira-Neto e Rodrigues, 2017).

A preocupação com o meio ambiente só vem à tona quando o descaso ambiental ameaça a existência humana na terra, como a adoção de medidas de controle para o não comprometimento da sustentabilidade dos sistemas de produção que só surgiu a partir do momento em que a expansão da agricultura propiciou desequilíbrios e agravamento de problemas fitossanitários (Cidreira-Neto e Rodrigues, 2017). Uma dessas alternativas foi o manejo integrado de doenças de plantas que é fundamental para a manutenção da estabilidade de produção, cuja implementação ocorre pela adoção conjunta de várias medidas de controle, como a utilização de cultivares resistentes, de sementes com alta qualidade sanitária e fisiológica, de rotação de culturas não hospedeiras, de práticas culturais que desfavoreçam o patógeno, do uso de controle químico e biológico, entre outras (Meyer, 2019).

Neste contexto, a adoção do controle biológico de doenças de plantas apresentou crescimento no Brasil devido a demanda da sociedade por alimentos mais saudáveis e livres de agrotóxicos. Com os fungos apresentando-se como um dos principais fitopatógenos, causando doenças que podem afetar todo o ciclo de vida de uma planta em qualquer parte dela. Sendo, *Curvularia lunata*, *Plasmopara viticola*, *Fusarium spp.* e *Bipolares spp.* os fungos mais citados como causadores dessas doenças (Junior, 2017; Ambrósio *et al.*, 2008). Camargo e Rezende (2005) afirmam que o fungo *F. oxysporum* causa diferentes deficiências na planta, sendo a fusariose uma das principais doenças de áreas agrícolas e permanecem na cultura por um longo tempo, por volta de 25 anos, devido ao fungo produzir estruturas de

resistência, com sua transmissão através de sementes, por partículas de solo arrastadas pelo vento ou água.

Segundo Cook e Baker (1983) o controle biológico pode ser acompanhado de práticas culturais para criar um ambiente favorável para os antagonistas; aumentar a resistência da planta hospedeira ao patógeno; adaptar a planta à antagonistas não patógenos que podem ser inseridos; entre outros. Outra alternativa é a utilização de biopesticidas, que segundo Bettiol (2011) são diferentes tipos de organismos vivos ou produtos naturais, derivados desses organismos que fazem a proteção da planta contra diversas doenças, podendo ser chamados de biofungicidas.

Algumas plantas já apresentam mecanismos de defesa naturais devido seus princípios ativos, com função de proteger as plantas de fitopatógenos. Nesse sentido, destaca-se a importância de pesquisas envolvendo a extração e utilização de extratos vegetais ou óleos essenciais no controle de doenças a partir da exploração de suas propriedades antifúngicas ou pelo seu potencial de indução de resistência (Brand *et al.*, 2007; Venturoso *et al.*, 2011).

Outro importante agente de biocontrole é o fungo *Trichoderma*, amplamente comercializado no Brasil devido seus inúmeros benefícios às plantas, como por exemplo a indução de crescimento e resistência; florescimento de plantas hortícolas; e ação antagônica a fungos e bactérias (Meyer, 2019). Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar *in vitro*, o efeito de *Monotagma plurispicatum* em associação com *Trichoderma polysporum* no controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade, *in vitro*, de *Monotagma plurispicatum* no crescimento micelial de *Trichoderma polysporum* visando à sua associação para o biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar o ensaio de *Monotagma plurispicatum* em meio de cultura, determinando sua ação no crescimento de *Trichoderma polysporum*;
- Avaliar a inibição de crescimento micelial (CM) de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, *in vitro*, a partir do contato com o extrato de *M. plurispicatum* e *T. polysporum*;
- Mensurar o percentual de inibição (PIC) e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Trichoderma polysporum* e *Fusarium* sp. submetidos ao extrato de *Monotagma plurispicatum*.
- Ampliar a possibilidade da criação de produtos de biocontrole agrícola;

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Controle biológico

De acordo com Cook e Barker (1983), controle biológico de doenças em plantas pode ser entendido como a redução da densidade do agente patógeno ou de sua atividade, através de um ou mais organismos naturais, manipulando o ambiente, o hospedeiro ou o antagonista. Cook (1982) determina algumas abordagens usadas no controle biológico como: uso de microrganismos antagonistas para reduzir a população de patógenos, destruindo seu inóculo e reduzindo seu vigor e agressividade; proteger as superfícies da planta com microrganismos, tanto na raiz quanto no solo, barrando a entrada do parasita por meio da competição; ou estimular a resistência interna da planta contra o fitopatógeno.

Segundo Baker e Sinyder (1965) o controle biológico como método de controle de doenças de plantas foi apresentado na Universidade da Califórnia, Berkeley, em 1963. Onde uma das duas propostas apresentadas “Introdução de linhagens selecionadas de agentes de biocontrole” deu um pontapé para pesquisas focadas na seleção de antagonistas eficazes e no desenvolvimento de bioprodutos baseados em linhagens únicas.

Fontes e Valadares-Inglis (2020) determinam ainda que o contato do agente de biocontrole com o fitopatógeno pode ser físico, envolver a síntese de compostos antimicrobianos ou pela competição por espaço, água, luz e nutrientes, podendo também ser indireta, pela indução de resistência da planta hospedeira. Sendo que os agentes de controle de fitopatógenos mais efetivos estudados até o momento utilizam mecanismos distintos, simultaneamente, provocando uma série de mecanismos que agem em conjunto (Howell, 2003).

3.2 Princípios ativos

Apesar das plantas não possuírem muitos mecanismos de defesa, elas apresentam mecanismos químicos suficientes para protegê-las ou torná-las mais resistentes a fitopatógenos. Esse mecanismo de defesa pode ser a liberação de compostos produzidos pelos metabólitos secundários a partir de sinais semioquímicos recebidos (Fernandes *et al.*, 2009; Fontes e Valadares-Inglis, 2020).

Os metabólitos secundários extraídos de plantas podem ser uma variável alternativa para o controle de fitopatógenos, uma vez que podem ser adquiridos em plantas utilizadas no cotidiano das comunidades. Diferindo-se dos agrotóxicos e tornando-se um meio mais econômico, ecológico e sem risco à saúde (Santos *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2015; Fontes, 2012). Na agricultura, o uso de extratos vegetais ou óleos essenciais vem se intensificando (Venturoso *et al.*, 2011) e podendo ser usados em diferentes concentrações como uma alternativa de controle (Machado *et al.* 2012).

Testes fitoquímicos já haviam determinado a presença de fenóis, taninos, ácidos orgânicos e alcalóides na espécie vegetal *Monotagma plurispicatum* (Cruz, 2022). Os compostos fenólicos conferem proteção e alta resistência da planta contra microrganismos e pragas (Rocha *et al.*, 2011). Os taninos são compostos fenólicos de alto peso molecular, com habilidade de formar complexos insolúveis em água, conferindo às frutas e produtos vegetais uma característica adstringente, diminuindo assim a taxa de predação por se tornarem impalatáveis (Rocha *et al.*, 2011; Monteiro *et al.*, 2005; Bruneton, 1991). Alcalóides são metabólitos com características alelopáticas, ou seja, apresentam substâncias químicas capazes de induzir o desenvolvimento e crescimento de sistemas agrícolas e são liberadas pela

planta quando a mesma entra em decomposição (Eljarrat e Barceló, 2001). Ácidos orgânicos podem atuar no metabolismo primário das plantas. Os alcalóides atuam como um armazenador de proteínas e na proteção de plantas (Martins *et al.*, 2003; Lorenzi e Matos, 2008).

3.3 Descrição botânica de *Monotagma plurispicatum*

A espécie *Monotagma plurispicatum* (Korn) pertence à família Marantaceae. Com hábitos de crescimento do tipo herbácea e substrato terrícola. Tendo origem nativa sem endemismo no Brasil. Pode ser encontrada no norte, nordeste, centro-oeste ou sudeste e apresenta domínio geográfico na Amazônia, Caatinga, Mata Atlântica e Pantanal (André, 2020). Aparece na Lista Vermelha de plantas ameaçadas de extinção do estado do Espírito Santo como sendo uma espécie vulnerável no sudeste do Brasil, atualizada em 2017.

Sem tubérculo na raiz, ou bainhas imbricadas; cor da nervura central verde, com inflorescência terminal e pedúnculo maior que 2.5 cm; o número de nós nas inflorescências varia entre 2 a 9 e apresenta brácteas de cor verde expandidas na antese (André, 2020). Apresenta anel entre o pecíolo e o pulvino pubescente na face adaxial e glabro na abaxial; a lâmina foliar é elíptica a ovada com base truncada a cuneada, ápice atenuado, glabra; sinflorescência subtendida por folha caulinar nodada, com cada nó tendo um profilo basal; o fruto cápsula é deiscente, pericarpo esclerotificado com 1 semente por cápsula (Saka, 2017).

3.4 *Trichoderma polysporum* e sua ação antagônica

Trichoderma spp. é um gênero de fungos filamentosos e saprófitas que apresentam muitas espécies antagônicas a outros fungos e bactérias, ou seja, competem por recursos com organismos que muitas vezes podem ser fitopatógenos. Esses benefícios vêm fazendo *Trichoderma* mudar a forma como as doenças em plantas são controladas no Brasil (Melo, 1996).

A forma de interação de um microrganismo no qual ele cria condições desfavoráveis para o outro é denominado antagonismo (Allwood, Ellis e Goodacre, 2008). Os agentes antagonistas podem limitar a atividade do patógeno por

antibiose, parasitismos, competição, predação ou indução de defesas do próprio hospedeiro, sendo essencial a presença de mais de um mecanismo por um antagonista para o aumento do seu sucesso (Isaias *et al.*, 2014).

A produção do antagonista é realizada através do tratamento de sementes por meio da inoculação em grãos. Além de apresentar custo acessível, não apresentam toxicidade a humanos e animais, dispensando reaplicação (Brand *et al.*, 2007) e podendo estimular diretamente o crescimento e florescimento de plantas hortícolas pela produção de substâncias similares a fitohormônios (Barker, 1989; Faria *et al.* 2003). Certas linhagens de *Trichoderma spp.* são capazes de parasitar fungos fitopatógenos habitantes de solo, produzindo antibióticos e enzimas que degradam suas paredes celulares e competindo por recursos naturais da rizosfera (Fontes e Valadares-Inglis, 2020). *T. polysporum* já foi testado em culturas experimentais de melão a partir da microbiolização de sementes no município de Bebedouro, sendo capazes de colonizar as raízes e ajudando na redução da incidência de doenças (Gava e Menezes, 2012).

Muitos agentes de controle biológico direcionam grande parte da sua energia para a realização da chamada antibiose (associação entre dois ou mais organismos com prejuízos ao menos para um dos dois, devido a produção de compostos antimicrobianos). Os compostos incluem antibióticos, fenóis, substâncias voláteis, sideróforos, proteínas, policetídeos e outros (Haggag *et al.*, 2007; Ramírez Granillo *et al.*, 2015).

Algumas espécies de *Trichoderma* são eficientes produtoras de metabólitos secundários, com mais de 100 compostos relatados por pesquisas científicas. Os metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma polysporum* são antraquinonas, da classe dos policetídeos, relacionados a atividades antifúngicas, antibacterianas e antiparasitárias (Meyer, 2019). As antraquinonas provocam a pigmentação esverdeada em *Trichoderma* na presença de luz ultravioleta (Betina *et al.*, 1986; Ghisalberti, 2002) e ativam sua ação antimicrobiana quando entra em contato com *Fomes annosus* e *Fusarium spp.* (Donnelly e Sheridan, 1986; Sivasithamparam e Ghisalberti, 1998).

3.5 *Fusarium oxysporum* spp. e a realização de estudos para seu tratamento

A infecção causada por fungos do gênero *Fusarium* começa pelas raízes, mesmo a planta não apresentando ferimento. O fungo coloniza o sistema vascular causando obstrução dos vasos e o micélio cresce produzindo conídios que são transportados pelas correntes transpiratórias. A infecção pode ser identificada através da parte interna da planta que escurece desde a raiz até os ramos, causando murcha nas partes aéreas e retardamento de brotas. No verão as folhas se tornam amareladas, murcham, secam e se desprendem dos ramos (Valdebenito-Sanhueza e Sônego, 1993).

A fusariose, doença de planta causada por fungos do gênero *Fusarium*, é uma das mais prejudiciais às culturas agrícolas, os estudos para o combate desses fitopatógenos vem aumentando, principalmente com o desenvolvimento de agentes de biocontrole naturais. Ferreira *et al.* (2015) obteve bons resultados no experimento *in vitro*, utilizando resíduos orgânicos e extratos de coco babaçu, eucalipto e mandioca para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, que causa a fusariose do maracujá. Já Fontes (2012) estudou a inibição do fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (causador da fusariose do feijão) *in vitro* a partir do extrato de arruda, alho, alecrim e gengibre, obtendo resultado positivo para as 4 plantas pois inibiram o crescimento micelial do fungo.

Sallam (2019) utilizando técnicas de isolamento e identificação de *Trichoderma spp.*, procurou determinar quais espécies teriam melhor ação no controle biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causador da fusariose do tomate. Os testes foram feitos tanto *in vitro* quanto em campo e determinaram que *Trichoderma spp.* tem ação de controle contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, chegando a uma porcentagem de inibição de até 66,80% no experimento *in vivo* e 80,7% em campo, quando comparado ao tratamento controle. Blaszczyk (2017) examinou a habilidade de 10 espécies de *Trichoderma spp.* no controle de crescimento micelial e produção de micotoxinas de 5 cepas de *Fusarium spp.* em meio de cultura BDA e obteve resultados positivos das 10 espécies na inibição dos patógenos.

Para o controle da murcha vascular de *Stevia rebaudiana*, causada por *F. oxysporum*, um experimento foi desenvolvido em casa de vegetação com a cepa rizosférica *T. asperillum*. Resultando em 90% da incidência da doença nas plantas sem o tratamento e apenas 10% nas tratadas, o que indica a ação antagônica de *T. asperillum*, além da determinação da produção de fitohormônios e enzimas que degradam a parede celular (Díaz-Gutiérrez *et al.*, 2021).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de coleta

A coleta do material vegetal foi realizada na Reserva Extrativista do Ciriaco, localizada ao sul do Maranhão, entre os municípios de Cidelândia e Imperatriz, com uma área de 8.106,63 hectares e localizada no bioma Amazônico. É uma Unidade de Conservação de uso sustentável, criada a partir do Decreto de 17 de junho de 2010, fundada com o objetivo de preservar os recursos naturais e os costumes das famílias dos povoados de Ciriaco, Centro de Olímpio, Alto Bonito, Viração, Rua Nova e Vila Varjão, conta atualmente com 150 famílias cadastradas (Santos, 2022; Santos *et al.*, 2019).

Sendo assim, as plantas da reserva servem como fonte de renda para a comunidade local. Apresentando como principal atividade, o extrativismo do coco babaçu pelas quebradeiras de coco, que utilizam o fruto para produção de diferentes produtos para a renda familiar como o azeite e o óleo de coco, e o carvão feito da casca do fruto. Outras atividades são a agricultura familiar, criação de animais de pequeno porte e a silvicultura. A preservação da floresta local, possibilita a livre passagem dos animais, a disseminação de sementes, a manutenção das matas e o sombreamento do solo com preservação dos rios (Sánchez, 2013).

4.2 Excursão de campo para coleta da espécie vegetal

A coleta das folhas da espécie vegetal ocorreu no mês de novembro de 2023 na Reserva Extrativista Ciriaco (Figura 1). A espécie foi escolhida de acordo com a

ocorrência e abundância no local de coleta, previamente identificadas por meio de um projeto, desenvolvido por uma equipe coordenada pela Prof^a Ivaneide de Oliveira Nascimento. As partes vegetais foram coletadas seguindo as técnicas de Botânica, evitando a retirada das folhas de um único ramo, colhendo as sem marcas ou sinais de deficiência nutricional, como sugerido por Lorenzi e Matos (2008), armazenadas em sacos de papel e conduzidas ao Laboratório de Microbiologia e Saúde da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), colocadas em sacos plásticos e armazenadas no freezer, para preparo dos extratos e avaliação da atividade antifúngica.

Figura 1 - Espécie vegetal *Monotagma plurispicatum* em campo de coleta na Reserva Extrativista do Ciriaco



Fonte: Autora, 2023.

4.3 Preparação de extrato vegetal

Após a coleta, as folhas foram levadas para o Laboratório de Microbiologia e passaram por um processo de lavagem em água corrente (para retirar o excesso de impurezas) e depois com água destilada para higienização e retirada de qualquer resíduo orgânico. Após este processo inicial, foram secas em temperatura ambiente e, em seguida, levadas à estufa a 55°C por um período de 35 horas, conforme indicado por Melo (2004). Posteriormente, foram trituradas (Figura 2) e submersas em solução hidroalcoólica (50% água destilada e 50% álcool etílico absoluto), todo o recipiente foi envolvido com papel alumínio e deixado em local escuro para

maceração que ocorreu em temperatura ambiente por 5 dias para obtenção do extrato hidroalcoólico bruto (Barbosa, 2004). Após os 5 dias, o recipiente foi aberto e o extrato foi coado usando funil e gases, posteriormente, foi colocado em banho-maria para evaporação do álcool.

Figura 2 - Folhas de *M. plurispicatum* trituradas para preparação do extrato bruto



Fonte: Autora, 2023.

4.5 Ensaio experimental com extrato vegetal de *M. plurispicatum* em meio de cultura BDA para análise do crescimento micelial de *Trichoderma polysporum*

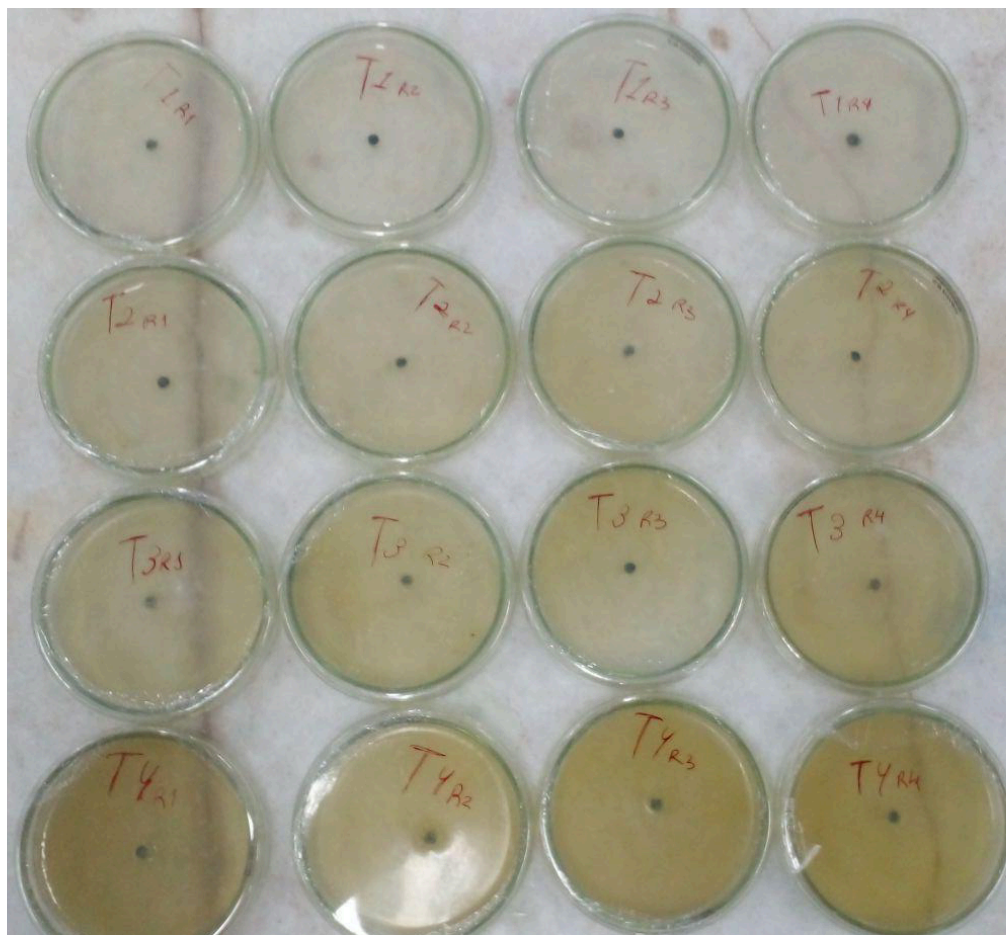
Os ensaios experimentais foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia e Saúde na Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), em novembro de 2023. Foram utilizados quatro tratamentos e quatro repetições, com diferentes dosagens (0%, 3%, 6% e 10%) do extrato vegetal em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Na câmara de fluxo laminar (Figura 3) um disco de 6 mm de diâmetro com sete dias de idade em BDA, contendo micélio de *Trichoderma polysporum* foram repicados para o centro das placas de petri de 9,3 cm de diâmetro com as dosagens de extrato, vedadas com filme plástico e mantidas na estufa BOD em delineamento inteiramente casualizado a 26°C sob fotoperíodo de 12 horas (Figura 4).

Figura 3 - Câmara de fluxo laminar com as placas de petri e os meios de cultura BDA autoclavados



Fonte: Autora, 2023.

Figura 4 - Placas de petri com o fungo *T. polysporum* repicado e devidamente vedadas com plástico filme, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seu tratamento e repetição



Fonte: Autora, 2023.

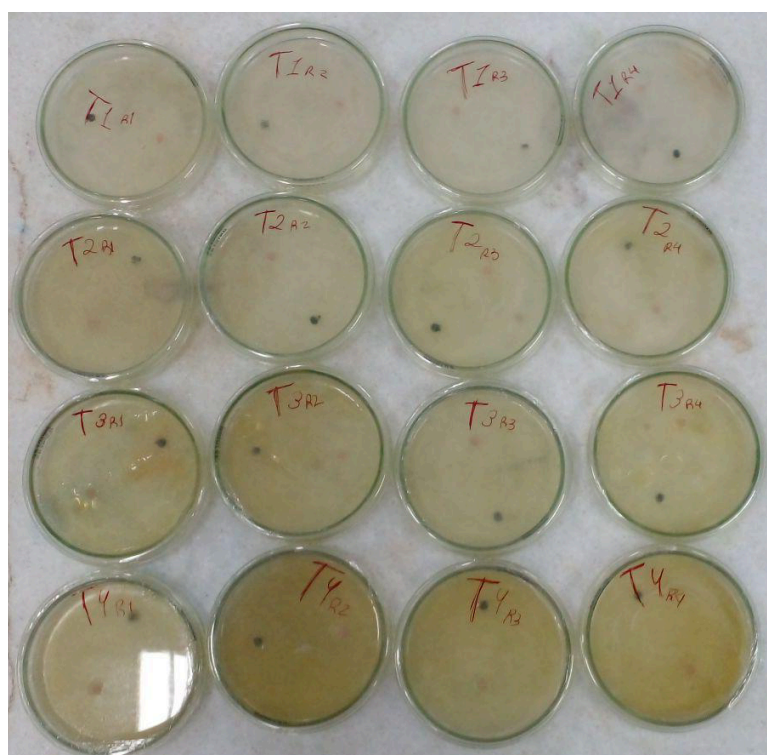
4.6 Ensaio com o extrato vegetal em BDA para análise do crescimento micelial, porcentagem de inibição e índice de velocidade de crescimento micelial de *Trichoderma polysporum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

A segunda parte dos ensaios experimentais procurou determinar a influência que o extrato vegetal exerce sobre os dois fungos em um mesmo ambiente, competindo por recursos. Sendo assim, o ensaio também foi realizado no Laboratório de Microbiologia da UEMASUL, em novembro de 2023 e contou com os mesmos passos metodológicos com pequenas diferenças. A cultura pura de cada patógeno foi obtida a partir de isolados depositados na Micoteca do Laboratório. A testemunha consistiu do meio de cultura sem adição de extrato (tratamento de 0%).

O experimento *in vitro* foi realizado com os mesmos quatro tratamentos do extrato vegetal (0%, 3%, 6% e 10%) e quatro repetições em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Como a placa de Petri utilizada no experimento tinha 9,3

cm de diâmetro na parte interna, dois discos de 6 mm de diâmetro com sete dias de idade em BDA, um contendo micélio de *Trichoderma polysporum* e o outro contendo micélio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* foram repicados para a placa de Petri com distância de 3,3 cm entre si e cada um com distância de 3 cm da borda. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas na estufa BOD a 26°C sob fotoperíodo de 12 horas (Figura 5). Como a medição da testemunha só foi possível até o 3º dia de crescimento pelo fato de o fungo crescer de maneira exponencial e ocupar todo espaço de 9,3 cm da placa a média e o índice de velocidade também foram medidos até o 3º dia em todos os tratamentos.

Figura 5 - Placas de Petri com os fungos *T. polysporum* e *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* repicados em meio de BDA, devidamente vedadas com plástico filme, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seu tratamento e repetição

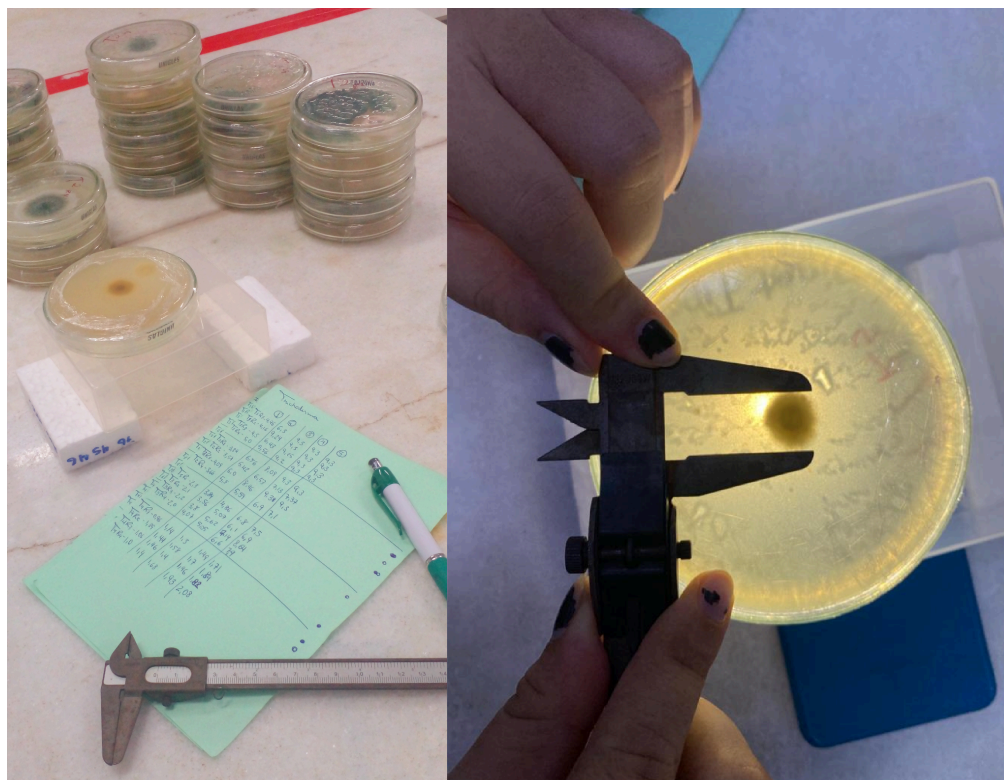


Fonte: Autora, 2023.

A avaliação foi realizada através de medições diárias do maior diâmetro da colônia, iniciando 36 horas após a repicagem do fungo e perdurando por 6(seis) dias

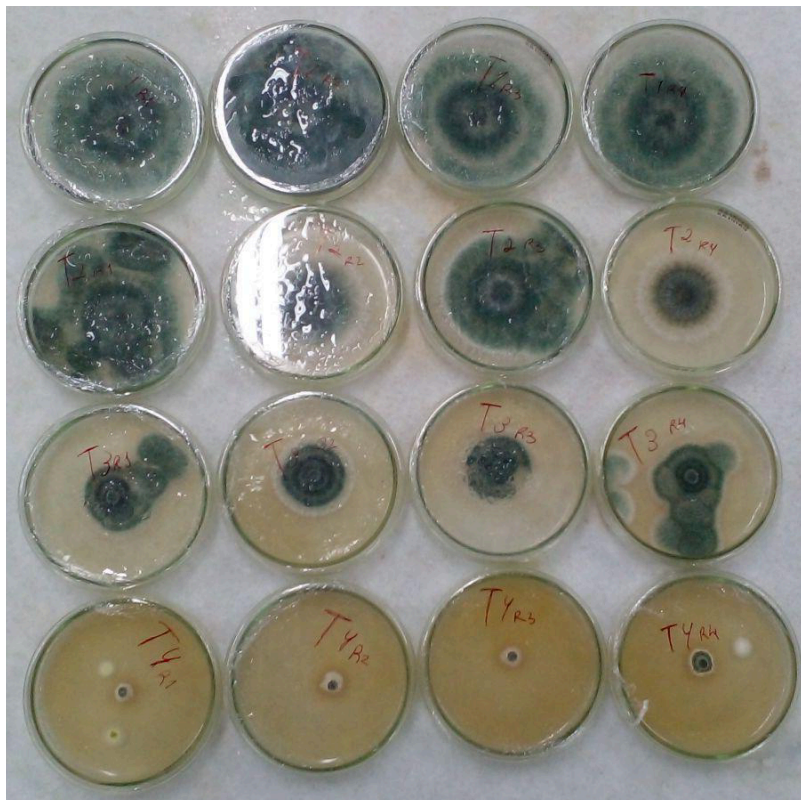
com a ajuda de um paquímetro manual (Figura 6). No segundo experimento, onde os dois fungos foram submetidos ao extrato vegetal, os fungos foram medidos, calculados e submetidos ao teste de variância separadamente.

Figura 6 - Colagem de fotos da medição diária das colônias com o auxílio de um paquímetro



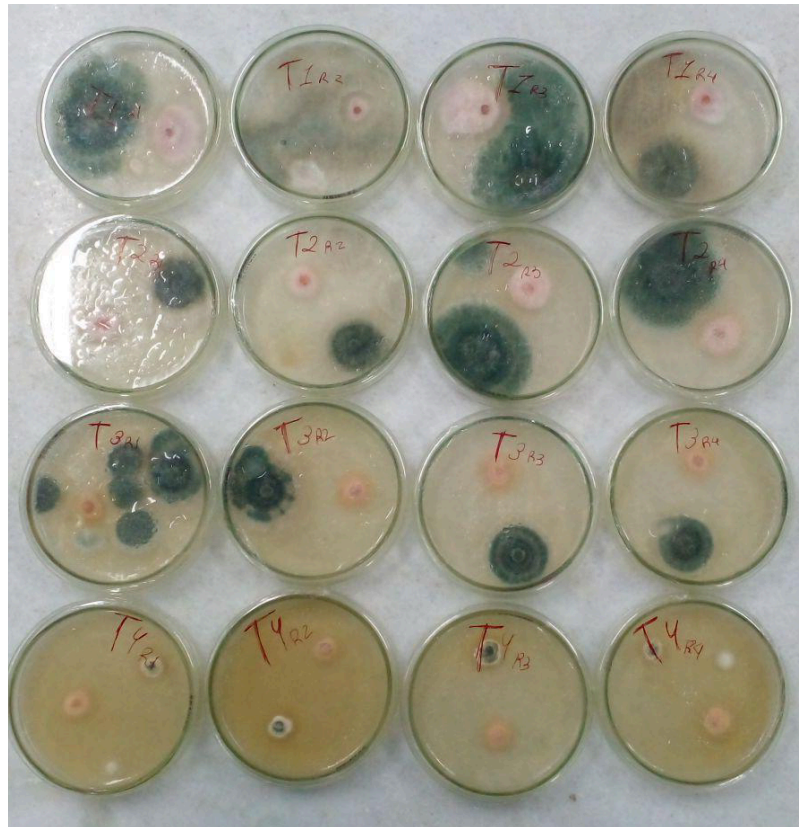
Fonte: Autora, 2023.

Figura 7 - Placas de Petri do experimento em que *T. polysporum* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum* no 6º dia de medição, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seus tratamentos e repetições



Fonte: Autora, 2023.

Figura 8 - Placas de Petri do experimento em que *T. polysporum* e *F. oxysporum* sp. f. *passiflorae* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum* no 6º dia de medição, distribuídas na bancada do laboratório de acordo com seus tratamentos e repetições



Fonte: Autora, 2023.

Foram utilizados três variáveis como critério de análise, sendo elas, a média de Crescimento Micelial (CM):

$$CM = \frac{\sum (D \text{ total})}{N \text{ total}}$$

Onde: CM é o Crescimento Micelial; D total = diâmetro médio da colônia em todos os dias de experimento; N total = número de dias do experimento.

O índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) foi calculado a partir da obtenção dos dados, pela fórmula:

$$IVCM = \frac{\sum (D - D_a)}{N}$$

Onde: IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial; D= diâmetro médio atual da colônia; Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a inoculação.

A Porcentagem de Inibição de Crescimento (PIC) foi calculada através da média das quatro repetições de cada tratamento, utilizando a equação (MENTEN et al., 1979):

$$PIC = \frac{C. \text{ test} - C. \text{ trat}}{C. \text{ test}} \times 100$$

PIC= Percentual de Inibição; C. test = Crescimento da testemunha; C. trat = Crescimento tratamento.

Os dados do CM, PIC e IVCM foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa SISVAR Versão 5.6. No segundo experimento, as variáveis serão calculadas separadamente para cada fungo da placa.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação do crescimento micelial de *T. polysporum* em meio de cultura BDA com extrato de *Monotagma plurispicatum*

Todas as porcentagens do extrato vegetal provocaram inibição micelial de *T. polysporum*, se diferenciando significativamente da testemunha pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância, como mostram as letras que devem ser analisadas pela coluna. Os resultados demonstraram maior velocidade de crescimento na testemunha (Tabela 1, gráfico 3), crescendo em média 1,57 cm ao dia, provocando um crescimento quase exponencial que fez o fungo crescer até o limite da placa em apenas 3 dias de medições. Os tratamentos com 3 e 6% de extrato promoveram uma diferença de velocidade de apenas 0,03 cm, com a menor velocidade se dando no tratamento com 10% de extrato, se diferenciando de todos os outros tratamentos segundo o teste de significância.

Ao final do experimento, *Trichoderma polysporum* submetido a 0% de extrato havia ocupado toda a extensão da placa, com uma média de crescimento de 8,15

cm (tabela 1; gráfico 1), se diferenciando dos tratamentos com 3 e 6% que não apresentaram diferença significativa entre si, e do tratamento com 10% de extrato no qual houve menor crescimento do fungo, com somente 1,69 cm. Conseqüentemente a maior porcentagem de inibição de crescimento foi na concentração de 10% de extrato, chegando a 63,22% e tendo a maior diferença estatística (Tabela 1, gráfico 2).

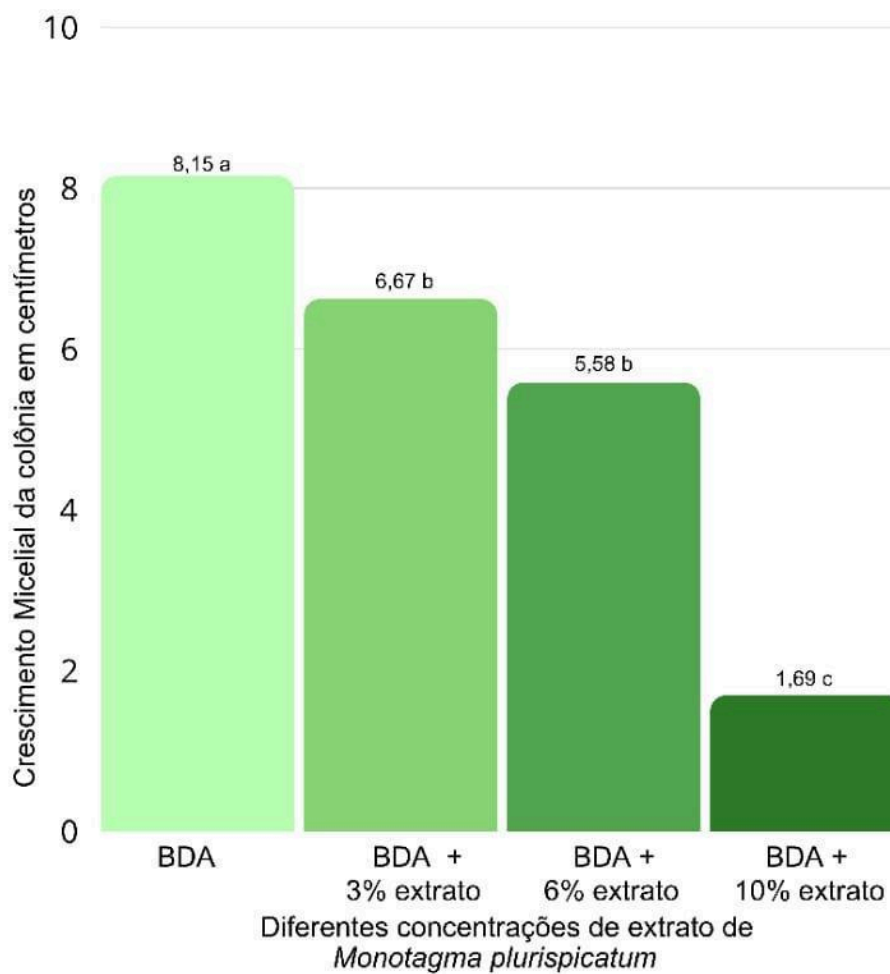
Tabela 1 – Análise da variação de crescimento, PIC e IVCM de *Trichoderma polysporum* em meio de cultura BDA com diferentes concentrações de extrato aquoso foliar de *Monotagma plurispicatum*.

| Tratamento | Cresc. Micelial (cm) | PIC (%) | IVCM (cm) |
|----------------|----------------------|----------|-----------|
| BDA | 8,15 a | 0,0001 b | 1,57 a |
| BDA + 3% ext. | 6,67 b | 18,23 b | 1,02 a |
| BDA + 6% ext. | 5,58 b | 31,32 ab | 0,99 a |
| BDA + 10% ext. | 1,69 c | 63,22 a | 0,13 b |
| CV (%) | 9,6 | 25,25 | 6,45 |
| P-valor | 0,0000 | 0,0007 | 0,0005 |

Fonte: Autora, 2023.

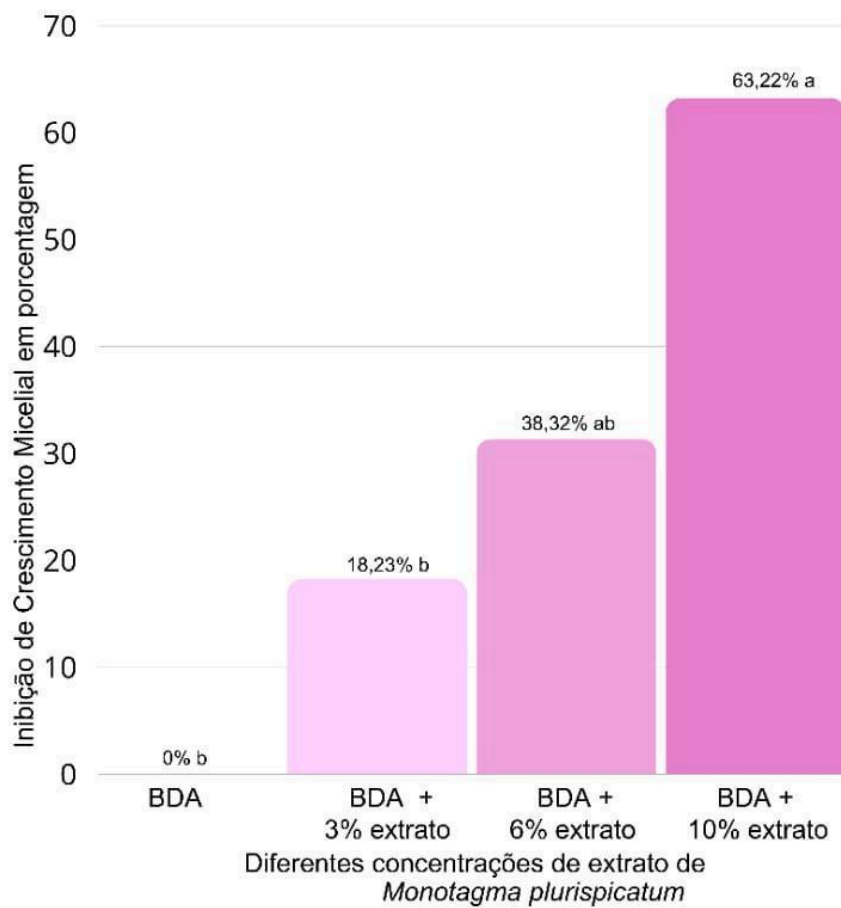
Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *CV = Coeficiente de variação; P = Variância; BDA = Batata + Ágar + Dextrose; ext = extrato vegetal de *Monotagma plurispicatum*; Cresc. Micelial = Média do crescimento micelial do fungo em centímetros; PIC = Porcentagem de inibição de crescimento micelial; IVCM = Índice de velocidade de crescimento micelial;

Gráfico 1 - Análise do Crescimento Micelial, *in vitro*, de *T. polysporum* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum* no primeiro experimento.



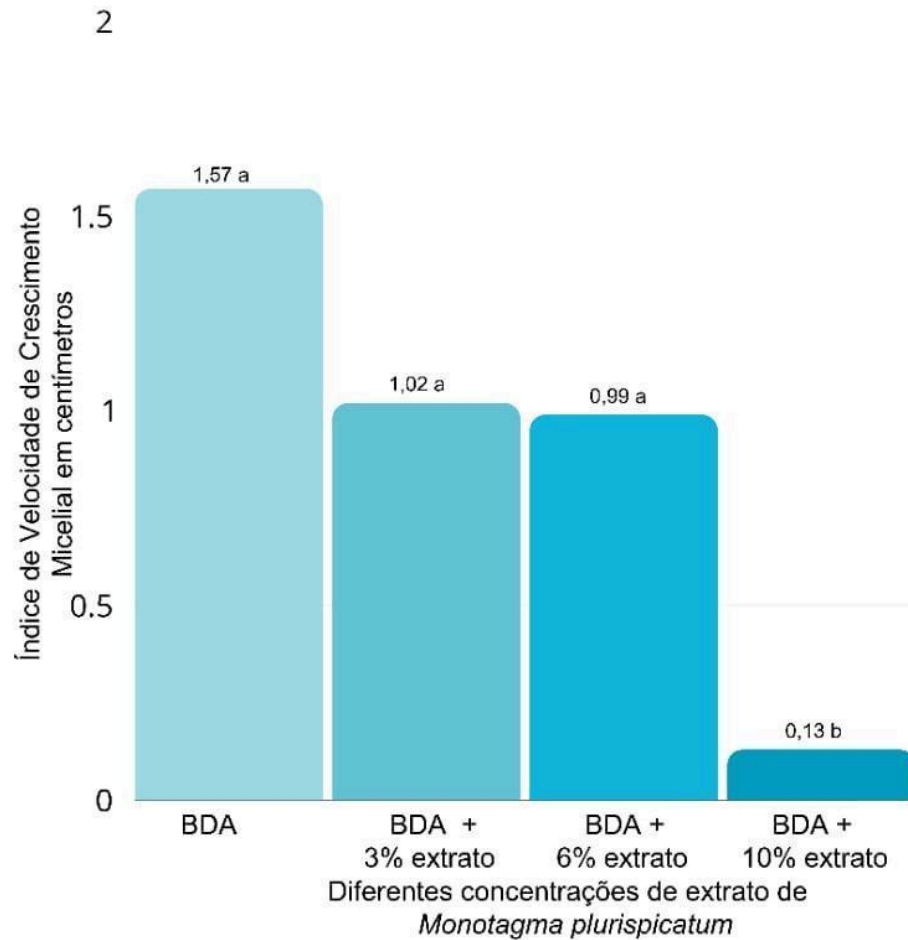
Fonte: Autora, 2023.

Gráfico 2 - Análise da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial, *in vitro*, de *T. polysporum* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum*.



Fonte: Autora, 2023.

Gráfico 3 - Análise do Índice de Velocidade de Crescimento, *in vitro*, de *T. polysporum* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum*.



Fonte: Autora, 2023.

5.2 Avaliação do crescimento micelial de *T. polysporum* e *F. oxysporum* sp. f. *passiflorae* em meio de cultura BDA com extrato de *Monotagma plurispicatum*

A variação da média de crescimento de *T. polysporum* na testemunha, no tratamento com 3% e 6% de extrato de *M. plurispicatum* foi baixa, sendo de 4,96 cm, 4,59 cm e 4,05 cm, respectivamente (tabela 2; gráfico 4). Já no tratamento com 10% do extrato vegetal, o crescimento do fungo apresentou uma queda de 3,42 cm em comparação com a testemunha, chegando a um tamanho menor que *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* que estava na mesma placa (gráfico 4). A diferença de crescimento é perceptível uma vez que, no tratamento testemunha, ao final do experimento, *T. polysporum* já havia ocupado grande parte da placa, com uma diferença de 1,92 cm (gráfico 4) e estava começando a inibir o crescimento de *Fusarium* sp.

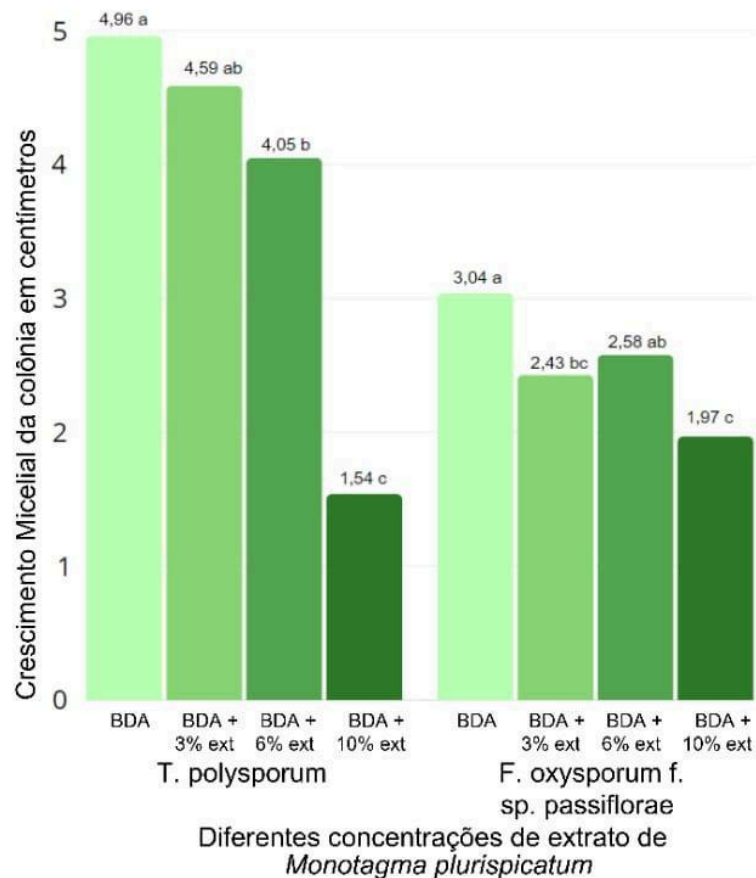
Tabela 2 - Análise da variação de crescimento, PIC e IVCM de *Trichoderma polysporum* em meio de cultura BDA com diferentes concentrações de extrato aquoso foliar de *Monotagma plurispicatum* e isolado de *Fusarium sp.*

| Tratamento | Cresc. Micelial (cm) | PIC (%) | IVCM (cm) |
|----------------|----------------------|----------|-----------|
| BDA | 4,96 a | 0,0001 c | 0,33 ab |
| BDA + 3% ext. | 4,59 ab | 7,42 b | 0,35 ab |
| BDA + 6% ext. | 4,05 b | 18,26 ab | 0,48 a |
| BDA + 10% ext. | 1,54 c | 70,98 a | 0,22 b |
| CV (%) | 2,65 | 14,19 | 2,60 |
| P-valor | 0,0000 | 0,0000 | 0,0131 |

Fonte: Autora, 2023.

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *CV = Coeficiente de variação; P = Variância; BDA = Batata + Ágar + Dextrose; ext = extrato vegetal de *Monotagma plurispicatum*; Cresc. Micelial = Média do crescimento micelial do fungo em centímetros; PIC = Porcentagem de inibição de crescimento micelial; IVCM = Índice de velocidade de crescimento micelial;

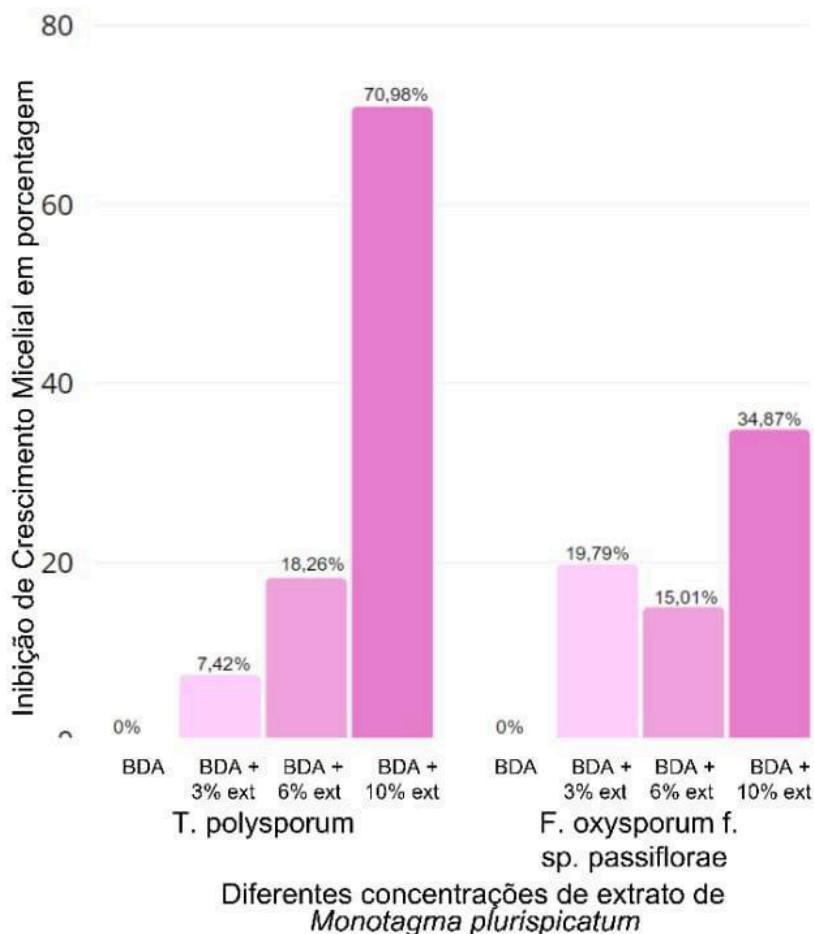
Gráfico 4 - Análise do Crescimento Micelial, *in vitro*, de *T. polysporum* e *F. oxysporum* sp. f. *passiflorae* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum*



Fonte: Autora, 2023.

A inibição de crescimento de *T. polysporum* no tratamento com 10% de extrato foi de 70,96%, e *F. oxysporum f. sp. passiflorae* foi de apenas 34,87%, conferindo uma diferença de 36,09%. Com a inibição de crescimento de *T. polysporum* sendo maior também no tratamento de 6% de extrato, o único tratamento no qual *Fusarium sp.* teve maior inibição foi no de 3% de extrato, com uma diferença de apenas 12,37% (gráfico 5).

Gráfico 5 - Análise da Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial, *in vitro*, de *T. polysporum* e *F. oxysporum* sp. f. *passiflorae* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum*.



Fonte: Autora, 2023.

No teste em que os dois fungos foram submetidos ao tratamento com diferentes porcentagens de extrato vegetal em meio de cultura BDA na mesma placa, o Índice de Velocidade de Crescimento de *T. polysporum* não apresentou diferença estatística entre a testemunha e o tratamento com 3% de extrato, houve um aumento de velocidade no tratamento de 6% e uma queda no de 10% (tabela 2; gráfico 6). Já para *F. oxysporum* sp. f. *passiflorae* a velocidade de crescimento se manteve estável na testemunha e nos 3 tratamentos sem variação estatística e sempre maior que a de *Trichoderma* (tabela 3; gráfico 6).

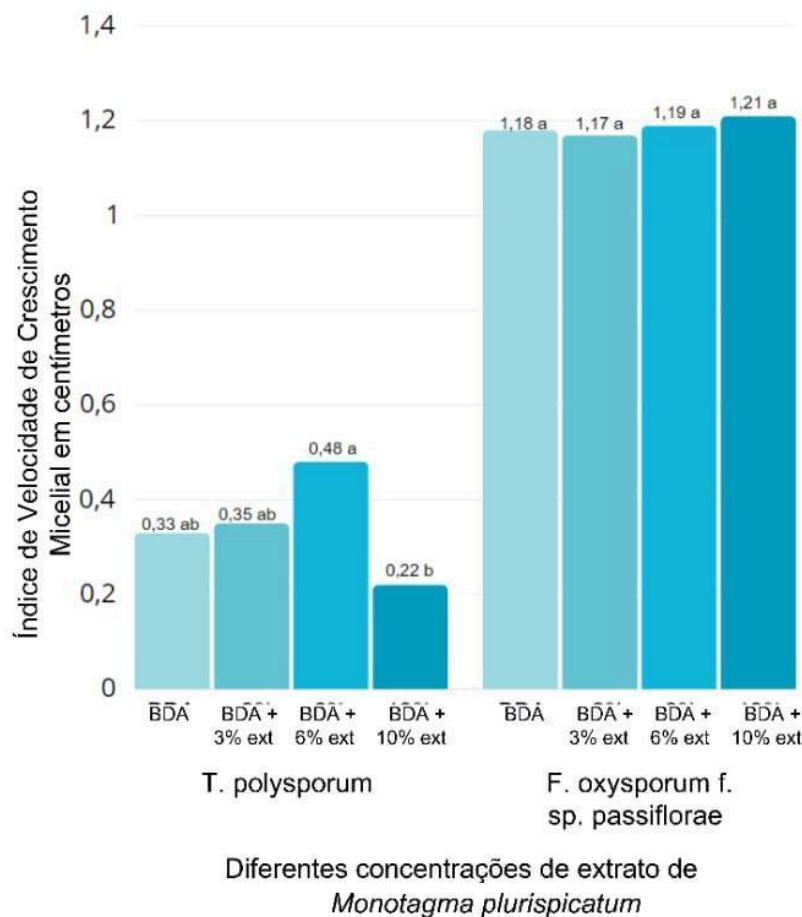
Tabela 3 - Análise da variação de crescimento, PIC e IVCM de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em meio de cultura BDA com diferentes concentrações de extrato aquoso foliar de *Monotagma plurispicatum*

| Tratamento | Cresc. Micelial (cm) | PIC (%) | IVCM (cm) |
|----------------|----------------------|----------|-----------|
| BDA | 3,04 a | 0,0001 a | 1,18 a |
| BDA + 3% ext. | 2,43 bc | 19,79 ab | 1,17 a |
| BDA + 6% ext. | 2,58 ab | 15,01 a | 1,19 a |
| BDA + 10% ext. | 1,97 c | 34,87 b | 1,21 a |
| CV (%) | 2,82 | 24,34 | 5,32 |
| P-valor | 0,0012 | 0,0012 | 0,8854 |

Fonte: Autora, 2023.

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *CV = Coeficiente de variação; P = Variância; BDA = Batata + Ágar + Dextrose; ext = extrato vegetal de *Monotagma plurispicatum*; Cresc. Micelial = Média do crescimento micelial do fungo em centímetros; PIC = Porcentagem de inibição de crescimento micelial; IVCM = Índice de velocidade de crescimento micelial;

Gráfico 6 - Análise do Índice de Velocidade de Crescimento, *in vitro*, de *T. polysporum* e *F. oxysporum* sp. f. *passiflorae* em BDA adicionado de extrato de *Monotagma plurispicatum*.



Fonte: Autora, 2023.

6. DISCUSSÃO

No primeiro experimento *in vitro* em que *Trichoderma polysporum* foi submetido a diferentes concentrações de extrato de *Monotagma plurispicatum* diluído em meio de cultura ágar, batata e dextrose nenhum dos tratamentos tiveram maior crescimento do que na testemunha (8,15 cm), determinando assim que nenhuma porcentagem induz o crescimento da espécie fúngica *in vitro*. O tratamento com 10% de extrato, promoveu crescimento de apenas 1,69 cm, resultado que pode ter explicação pela presença de taninos na espécie vegetal, que conferem à planta complexos insolúveis em água, dificultando a ingestão pelo fungo (Rocha *et al.*, 2011; Monteiro *et al.*, 2005; Bruneton, 1991). Além da influência da temperatura da estufa, de 26°C, que pode ter provocado uma redução no melhor desenvolvimento do fungo já que a temperatura é um dos principais fatores

ambientais de interferência de crescimento fúngico, sendo a temperatura ótima de armazenamento em torno de 35°C (Dhingra *et al.*, 1985).

No segundo experimento, para análise do crescimento micelial de *T polysporum* e *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* em meio de cultura BDA com extrato de *Monotagma plurispicatum*, o *T polysporum* chegou a ocupar grande parte da placa e começou a inibir o crescimento de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* no tratamento de 0% de extrato, sendo uma ação já esperada, visto que a ação antagônica de *Trichoderma spp.* já foi comprovada em diferentes estudos, tanto pelo impedimento da reconstrução da parede celular, vazamento de membrana ou pela desordem metabólica provocada no agente patógeno a partir da produção de compostos microbianos (Fontes e Valadares-Inglis, 2020). Porém, a produção dessa substância pela espécie ou a sintetização da mesma depende de estímulos específicos, muitas vezes não sendo alcançados em condições de laboratório (Zeilinger *et al.*, 2016). Sendo necessário experimentos futuros em casa de vegetação, pois a quantidade e o tipo de ácido produzido também depende das características fermentativas microbianas e das condições do solo (Camargo *et al.*, 1993).

Experimentos *in vitro* desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia e Ciências da Saúde da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão com concentrações de 0, 4, 8 e 10% de extrato de *Monotagma plurispicatum* sobre *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* já demonstraram a eficácia do extrato vegetal na inibição micelial dos fitopatógenos (Cruz, 2022), porém, a associação entre a espécie *Trichoderma polysporum* com o extrato de *Monotagma plurispicatum* para a inibição de *Fusarium sp.* não é viável devido a um possível aumento no crescimento do fitopatógeno.

7. CONCLUSÃO

As concentrações de 3, 6 e 10 % de extrato de *Monotagma plurispicatum* em meio de cultura BDA promoveram inibição do crescimento micelial de *Trichoderma polysporum* em comparação com a testemunha. O Crescimento Micelial e o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial foram menores em 10% de extrato. No experimento em que os dois fungos cresceram na mesma placa, houve maior porcentagem de inibição de *T. polysporum*, com menor Crescimento Micelial,

chegando ao fim do experimento menor que *F. oxysporum f. sp. passiflorae*. Concluindo assim que a associação entre extrato de *M. plurisporum* e *T. polysporum* trabalhada nas condições desta pesquisa não é viável para inibição micelial de *F. oxysporum f. sp. passiflorae*, necessitando do desenvolvimento de outras pesquisas em casa de vegetação ou laboratório, em condições ambientais mais favoráveis para o fungo como temperaturas mais elevadas e maior espaço de crescimento.

REFERÊNCIAS

ALLWOOD, J. William; ELLIS, David I.; GOODACRE, Royston. Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant–host interactions. **Physiologia plantarum**, v. 132, n. 2, p. 117-135, 2008.

AMBRÓSIO, M. M. D. Q. *et al.* Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. **Summa phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 354-358, 2008.

ANDRÉ, T. *Monotagma in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB9368>>. Acesso em: 27 dez. 2023.

BARKER, Ralph. Improved Trichoderma spp. for promoting crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v. 7, n. 2, p. 34-38, 1989.

BAKER, K. F.; SNYDER, W. C. Ecology of soil-borne plant pathogens. Prelude to biological control. **Ecology of soil-borne plant pathogens. Prelude to biological control**, 1965.

BARBOSA, W. L. R., *et al.* Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, 2004.

BETINA, V. *et al.* Anthraquinone pigments from a conidiating mutant of Trichoderma viride. **Experientia**, v. 42, p. 196-197, 1986.

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-284, 2011.

BŁASZCZYK, Lidia *et al.* Suppressive effect of Trichoderma spp. on toxigenic Fusarium species. **Polish Journal of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 85, 2017.

BRAND, Simone Cristiane *et al.* EXTRATO DE MAYTENUS ILICIFOLIA NÃO INIBE TRICHODERMA SP. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, 2007.

BRUNETON, J. *et al.* **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza: Acribia, 1991.

CAMARGO, Flávio A. de O.; SANTOS, Gabriel de A.; ROSSIELLO, Roberto OP. Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 9, p. 1011-1018, 1993.

CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. **São Paulo: Agronômica Ceres**, v. 2, 2005.

CIDREIRA-NETO, Ivo; RODRIGUES, Gilberto Gonçalves. Relação homem-natureza e os limites para o desenvolvimento sustentável. **Revista Movimentos Sociais e Dinâmicas Espaciais**, v. 6, n. 2, p. 142-156, 2017.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. (Ed.). **The nature and practice of biological control of plant pathogen**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539 p.

COOK, R. J. Progress toward biological control of plant pathogens, with special reference to take-all of wheat. 1982.

CRUZ, G. G. S. da. **Coleta, caracterização fitoquímica de espécies vegetais da reserva extrativista ciriaco e avaliação *in vitro* de atividade antifúngica sobre *Fusarium spp.*** TCC (Graduação) Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão. Imperatriz, MA, 2022.

DÍAZ-GUTIÉRREZ, Carol *et al.* Trichoderma asperellum as a preventive and curative agent to control Fusarium wilt in Stevia rebaudiana. **Biological Control**, v. 155, p. 104537, 2021.

DHINGRA, Onkar D. *et al.* **Basic plant pathology methods**. CRC Press, Inc., 1985.

DONNELLY, D. M.; SHERIDAN, M. H. Anthraquinones from Trichoderma polysporum. **Phytochemistry**, v. 25, n. 10, p. 2303-2304, 1986.

ELJARRAT, E.; BARCELO, D. Sample handling and analysis of allelochemical compounds in plants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 10, p. 584-590, 2001.

FARIA, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M. C. de F. E.; NETO, D. C. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, 2003.

FERNANDES, C. de F. *et al.* Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos. 2009.

FERREIRA, R. B.; Rodrigues, A. A. C.; Moraes, F. H. R.; Silva, E. K. C.; Nascimento, I. O. Resíduos orgânicos no controle de Fusarium oxysporum f. sp. passiflorae em maracujazeiro amarelo (Passiflora edulis f. flavicarpa). **Acta biol. Colomb**, v. 20, n. 3, p. 111-120, 2015.

FONTES, A. C. L. **Variabilidade genética e avaliação da inibição dos extratos de plantas medicinais sobre isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli.** 2012. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

FONTES, E. M. G; VALADARES-INGLIS, Maria Cleria. Controle Biológico de Pragas da Agricultura. 2020.

GAVA, Carlos Alberto Tuão; MENEZES, Michelly Elen Leal. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, p. 633-640, 2012.

GHISALBERTI, Emilio L. Secondary metabolites with antinematodal activity. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 26, p. 425-506, 2002.

HAGGAG, Wafaa Mohamed et al. Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 7-12, 2007.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

ISAIAS, Carolina Oliveira *et al.* Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 34-41, 2014.

JUNIOR, Gaspar Moreira Braga et al. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 7, n. 3, p. 45-51, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. 2. ed. São Paulo: Plantarum, 2008. p. 22-25.

MACHADO, Daniele Franco Martins *et al.* *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MELO, E. D. C.; RADUNZ, L. L.; DE ALVARENGA, R. C. Influência do processo de secagem na qualidade de plantas medicinais. **Engenharia na Agricultura**, v. 12, n. 4, p. 307-315, 2004.

MELO, IS de. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão anual de patologia de plantas**, v. 4, n. 1, p. 261-295, 1996.

MENTEN, J. O. M. *et al.* Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. in vitro. **Fitopatologia Brasileira**, v.1, n.2, p.57-66, 1979.

MEYER, M. C. *et al.* *Trichoderma*: uso na agricultura. 2019.

- MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.
- RAMÍREZ GRANILLO, A. *et al.* Antibiosis interaction of *Staphylococcus aureus* on *Aspergillus fumigatus* assessed in vitro by mixed biofilm formation. **BMC microbiology**, v. 15, p. 1-15, 2015.
- ROCHA, W. S. *et al.* Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 1215-1221, 2011.
- SALLAM, Nashwa MA; ERAKY, Amal MI; SALLAM, Ahmed. Effect of *Trichoderma* spp. on *Fusarium* wilt disease of tomato. **Molecular Biology Reports**, v. 46, p. 4463-4470, 2019.
- SANCHES, Luis Enrique. Avaliação d e impacto ambiental. **Conceitos e métodos. São Paulo. Oficina de Textos**, 2008.
- SANTOS, A. **Estudo Morfoanatômico de órgãos vegetativos e reprodutivos, sob condições ambientais da reserva extrativista do Ciriaco no município de CIDELÂNDIA- MA.** Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, 2022.
- DOS SANTOS, Lucélia Neves; BERALDO, Keile Aparecida; RODRIGUES, Waldecy. Gerenciamento de projetos na Reserva Extrativista do Ciriaco/MA: desempenho e participação. **Revista Brasileira de Desenvolvimento Regional**, v. 6, n. 3, p. 93-110, 2019.
- SANTOS, P. L. D. *et al.* Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 2562-2576, 2013.
- SAKA, Mariana Naomi. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Marantaceae. **Rodriguésia**, v. 68, p. 987-990, 2017.
- SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. **Trichoderma and Gliocladium basic biology taxonomy and genetics**, v. 1, p. 139-191, 1998.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; SÔNEGO, O. R. Descrição e recomendações de manejo da fusariose da videira (*Fusarium oxysporum* F. sp. herbemontis). 1993.
- VENTUROSOSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.1, p.18-23, 2011.
- ZEILINGER, Susanne *et al.* Secondary metabolism in *Trichoderma*—chemistry meets genomics. **Fungal biology reviews**, v. 30, n. 2, p. 74-90, 2016.