

Uso de sangra d'água na inibição de crescimento de *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*

Uses of sangra d'agua to inhibit growth of Sclerotium rolfsii and Macrophomina phaseolina

Bruno Paiva¹, Gilsayne de Araujo Bitencourt², Stephany dos Santos³, Felipe André Sganzerla Graichen⁴

RESUMO: Os fungos *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina* são patógenos radiculares, pouco específicos que causam doenças em um número grande de plantas. O manejo destas doenças é difícil devido a produção de estruturas resilientes que garantem sua sobrevivência por longo tempo. A sangra d'água (*Croton urucurana*) apresenta atividade alelopática com potencial de ser utilizada como substrato na compostagem e na redução da intensidade de doenças radiculares. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a inibição do crescimento de *S. rolfsii* e *M. phaseolina* com o uso do extrato aquoso de sangra d'água e o efeito do composto de sangra d'água sobre a podridão de escleródio em tomateiro. O efeito inibitório do extrato aquoso de sangra d'água sobre o crescimento dos fungos foi avaliado pela adição de diferentes doses ao meio de cultura em que os fungos foram crescidos. Apenas a maior concentração (30 g de folhas.100 mL⁻¹) inibiu o crescimento de *S. rolfsii*. Não foi observado efeito inibitório sobre o crescimento de *M. phaseolina* em nenhuma das doses. Outro experimento foi realizado com composto orgânico de folhas de sangra d'água incorporado ao substrato para a produção de mudas de tomateiro. Aos 21 dias, após a semeadura, foi realizada a inoculação do *S. rolfsii*. Foram avaliadas a massa seca e a massa verde da parte aérea e da raiz, assim como a população de *S. rolfsii* no substrato. A incorporação do composto orgânico teve efeito na redução da população de *S. rolfsii* no substrato, no entanto, o composto não reduziu a mortalidade das plantas.

Palavras-chave: Compostagem; Extrato vegetal; Podridão cinzenta; Podridão-de-escleródio; *Solanum lycopersicum* L.

ABSTRACT: The fungi *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina* are soilborne pathogens that cause disease in many plants. The management of these diseases is difficult due to the production of resistance structures that guarantee their survival over long periods of time. Sangra d'água (*Croton urucurana*) presents allelopathic activity with the potential to be used as a substrate in composting and in reducing the intensity of root diseases. The objective of this work was to evaluate the inhibition of growth of *S. rolfsii* with the use of an aqueous extract of sangra d'água and the effect of the compost of sangra d'água on southern blight of tomato. The inhibitory effect of an aqueous extract of sangra d'água on fungal growth was evaluated by adding different doses to the culture medium in which the fungi were cultivated. Only the highest concentration (30 g of leaves.100 mL⁻¹) inhibited the growth of *S. rolfsii*. No inhibitory effect on the growth of *M. phaseolina* was observed at any of the doses. Another experiment was carried out with organic compost from sangra d'água leaves incorporated into the substrate for the production of tomato seedlings. At 21 days after sowing, inoculation of *S. rolfsii* was performed. The dry and green mass of shoots and roots and the population of *S. rolfsii* in the substrate were evaluated. The incorporation of the organic compost has an effect on reducing the population of *S. rolfsii* in the substrate; however, the compost did not include the mortality of the plants.

Keywords: Charcoal rot; Composting; Plant extract; *Solanum lycopersicum* L.; Southern blight.

Autor correspondente: Felipe André Sganzerla Graichen

E-mail: felipeandre@uem.br

Recebido em: 2024-02-06

Aceito em: 2024-07-01

¹ Mestre em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Aquidauana (MS), Brasil.

² Doutora em Ciências pela USP. Docente temporária do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Coxim (MS), Brasil.

³ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Aquidauana (MS), Brasil.

⁴ Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Docente Permanente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Aquidauana (MS), Brasil.

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura com grande importância para a agricultura nacional, representando 53 mil ha cultivados no ano de 2023 e uma produção média acima de 4 milhões de toneladas nos últimos 5 anos (Bissacotti; Londero; Costabeber, 2021). Apesar dos grandes investimentos realizados, os problemas fitossanitários representam uma ameaça à produtividade e podem provocar grandes prejuízos aos produtores. Entre os patógenos relatados para o tomateiro, os patógenos radiculares representam uma grande ameaça, pois podem causar inúmeras doenças, tais como podridões radiculares, *damping-off* e murcha das plantas. Estes patógenos têm como fatores agravantes a falta de especificidade por hospedeiro, o desenvolvimento de estruturas de sobrevivência no solo, baixa eficácia de controle com a pulverização de fungicidas e o alto risco ambiental do uso de fungicidas fumegantes. Dentre as doenças do tomateiro, a podridão de escleródio e a podridão cinzenta são especialmente importantes.

A podridão de escleródio, causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc., é uma doença com grande potencial de dano na cultura do tomateiro causando o apodrecimento das raízes, murcha, tombamento e morte da planta. A doença pode acarretar redução de 70% da produção anualmente (Kator; Daniel Oche; Yula Hosea, 2015). A contaminação do solo por *S. rolfsii* tem inviabilizado o uso de áreas produtivas, pois o patógeno infecta os órgãos subterrâneos e aéreos das plantas e possui grande capacidade de sobrevivência no solo (Nogueira *et al.*, 2019). Além da capacidade de sobreviver saprofiticamente, este fungo produz estruturas de resistência denominadas escleródios (Punja, 1985), dos quais podem permanecer viáveis no solo por um período de até nove meses (Marcuzzo; Schuller, 2014), mesmo em condições adversas do ambiente.

De maneira semelhante, a podridão cinzenta do tomateiro, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, também não apresenta especificidade por hospedeiro (Tančić Živanov *et al.*, 2019). Esta doença ocorre com maior intensidade em plantas que estão com déficit hídrico e temperaturas mais elevadas (28 a 35°C) (Lodha; Mawar, 2020). Em plantas jovens, o fungo causa cancrios escuros abaixo da região cotiledonar, enquanto que, em plantas adultas, ocasiona menor desenvolvimento, amarelecimento das folhas e murcha. No interior das hastes infectadas são visualizados pequenos escleródios, que sobrevivem no solo por longo período, e picnídios escuros (Hyder *et al.*, 2018; Marquez *et al.*, 2021).

O manejo destes patógenos radiculares é difícil. Algumas práticas, como rotação/sucessão de culturas, utilização de fertilizantes amoniacais (Mori, 2015), solarização do solo (Tomazeli *et al.*, 2019) e uso de controle biológico (Blanco; Barbosa; Graichen, 2021; Martínez-Salgado *et al.*, 2021), auxiliam no manejo. Estas práticas são comumente utilizadas no manejo, porém podem ser eficazes para estes patógenos quando utilizadas de forma isoladas.

A utilização de plantas alelopáticas pode ser interessante na elaboração do composto por apresentar efeitos de inibição do crescimento fúngico. A espécie *Croton urucurana* Baill, popularmente conhecida como Sangra d'água, é uma espécie arbórea nativa do Brasil, que possui atividade alelopática, atribuída a uma combinação de monoterpenos e sesquiterpenos provenientes do óleo da casca (Lopes Alves *et al.*, 2020), do caule (Cândido-Bacani *et al.*, 2015) e das folhas (Ali Al-Hakami *et al.*, 2022; Oliani *et al.*, 2021). Estes compostos apresentam efeito inibitórios do crescimento de bactérias (Morales-Ubaldo *et al.*, 2020), fungos dermatófitos (Gurgel *et al.*, 2005), fungos fitopatogênicos (Portillo *et al.*, 2001) e até mesmo cupins (Almeida *et al.*, 2016).

Além do uso de estratos extraídos diretamente das plantas, uma das formas de se explorar o potencial inibitório é pela confecção de substratos composto por partes da planta, e, posteriormente, incorporá-lo ao solo. Coventry *et al.* (2005) demonstraram que a incorporação de compostos a base de

cebola, brássicas e cenoura apresentaram efeito de supressividade sobre a podridão branca do alho. De forma semelhante, compostos elaborados com mistura de resíduos de tomate, escarola, alcachofra, serragem e funcho apresentam efeito supressivo dos fungos radiculares *Sclerotinia minor* e *Rhizoctonia solani* (Pane *et al.*, 2013)

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de extrato aquoso de folhas e substrato a base de compostagem de folhas de *Croton urucurama* sobre o desenvolvimento de patógenos radiculares na cultura do tomateiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos em que se avaliaram: i) o efeito inibitório do extrato de sangra d'água sobre o crescimento de *Sclerotium rolfsii*, ii) sobre *Macrophomina phaseolina* e iii) o efeito de um substrato obtido pela compostagem de folhas de sangra d'água na inibição da podridão de escleródio em mudas de tomateiro.

2.1 EFEITO INIBITÓRIO DE EXTRATO DE SANGRA D'ÁGUA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *SCLEROTIUM ROLFSII* E *MACROPHOMINA PHASEOLINA*

O isolado de *S. rolfsii* foi obtido de raízes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), coletados em área experimental da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana. Os escleródios foram desinfestados superficialmente em álcool 70% por 30 s, em hipoclorito de sódio (5%) por 3 min e enxaguados em água destilada esterilizada. Em seguida, foram transferidos para placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar + 300 ppm de sulfato de estreptomicina) e levados para câmara de crescimento (fotoperíodo 12 h a $27 \pm 1^\circ\text{C}$), durante 7 dias. Após esse período, os escleródios foram transferidos para tubos tipo eppendorf e armazenados em geladeira a temperatura de 4°C .

O isolado de *M. phaseolina* foi obtido de raízes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) coletados em área experimental da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana. Após purificação, o isolado foi armazenado em papel filtro desidratado em geladeira a 4°C . Para realização dos testes, foram retirados discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro de colônias de ambos os fungos, crescidas durante 4 dias, em meio de cultura BDA à temperatura de 25°C .

Para elaboração do extrato aquoso, foram coletadas folhas verdes de Sangra d'água (*Croton urucurana*), secas em estufa e posteriormente moídas em moinho. Em seguida, utilizou-se 25 g de folhas moídas para 250 mL de água destilada e autoclavada, preparando-se uma solução na relação peso/volume utilizada por Arcanjo *et al.* (2021).

O extrato foi mantido em BOD por 48 horas, a uma temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Após, foi realizada a filtração para separação do meio líquido e de partes vegetais. Posteriormente, realizou-se o processo de esterilização, utilizando o sistema de filtração em membrana PES de $0,22 \mu\text{m}$ (Kasvi). Após a esterilização, o extrato foi adicionado ao meio de cultura BDA, esterilizado em 5 doses, de modo que equivalesse a 0,00; 3,75; 7,50; 15,00 e 30,00 g de folhas para 100 mL de meio BDA.

Foram preparados meio de cultura de BDA (200 g batata + 20 g dextrose + 15 g agar em 1 L de água), e, em seguida, vertidos em placas de petri, com dimensões de 90 x 15 mm. Foram adicionados 20 mL de meio contendo o extrato de sangra d'água nas concentrações determinadas. Após essa etapa, um disco de micélio dos fungos foi inserido no centro de cada placa.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial, no delineamento inteiramente casualizado (5 x 7), consistindo de cinco doses, sete dias de crescimento e cinco repetições. As placas foram incubadas em câmara de crescimento (fotoperíodo 12 h a 27 ± 1 °C). Foram realizados dois experimentos independentes para avaliar o efeito inibidor sobre cada um dos fitopatógenos.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada diariamente até que as colônias atingissem aproximadamente $\frac{3}{4}$ da superfície do meio de cultura, aos sete dias. Para essa avaliação, foram realizadas medições do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais.

A taxa de crescimento micelial de *S. rolfsii* e *M. phaseolina* foi mensurada conforme Benicio *et al.* (2003), onde os dados foram plotados para obtenção de uma equação de regressão linear simples ($y = a + bx$), sendo (x) os dias de incubação, (y) o diâmetro final da colônia, (a) o diâmetro inicial da colônia e (b) a taxa de crescimento micelial, determinada pelo coeficiente de regressão.

2.2 EFEITO DO SUBSTRATO COMPOSTO COM SANGRA D'ÁGUA NA SUPRESSIVIDADE DE PODRIDÃO DE ESCLERÓDIO

O experimento in vivo foi conduzido em duas etapas: a primeira constituiu-se na compostagem de resíduos sólidos vegetais (RV) de folhas verdes e secas de *C. urucurana*, colhidos em área de preservação permanente. E a segunda, com o uso do composto incorporado ao substrato utilizado para o crescimento inicial de mudas de tomateiro (*S. lycopersicum*).

Para realização da compostagem, coletou-se solo da área utilizada como horta, no Campus da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Unidade Universitária de Aquidauana (UEMS-UUA). Foi realizada a análise química do solo antes e depois da compostagem, no laboratório Agrosience (Tabela 1).

Tabela 1. Análise dos atributos químicos do solo antes e depois da compostagem com extrato de Sangra d'água

Nutrientes	Antes da compostagem	Após a compostagem
P (mg/dm ³)	57,00	121,18
MO (g/dm ³)	28,97	62,43
K	0,27	1,43
Ca	6,94	16,32
Mg	2,13	10,45
Na	-	0,09
Ca + Mg (cmolc/dm ³)	9,07	26,77
Fe	86,82	92,45
Mn	33,21	39,15
Zn (mg/dm ³)	2,32	3,14
Cu	0,75	0,91
B	0,57	0,63
Al	-	-
H	2,42	3,35
Al + H +	2,42	3,35
S	9,34	28,29
T	11,76	31,64
V%	79,42	89,41

2.3 PREPARO DA COMPOSTEIRA

O sistema de compostagem foi realizado utilizando caixas plásticas de 30 L e as operações de revolvimento e reposição da umidade foram realizadas manualmente. Foi utilizada a proporção de 2:10, sendo 20 g de folhas de *C. urucurana* para cada 100 g de solo. A irrigação e o revolvimento de cada caixa foram realizados após 7, 14, 21 e 28 dias a instalação, durante a fase de oxidação. A temperatura foi medida com termômetro digital, antes da irrigação e do revolvimento do solo dentro da caixa, tendo médias entre 45 e 55 °C. O tempo total de compostagem foi de 150 dias, apresentando o composto curado, conforme Kiehl (2004), ou seja, pronto para o uso cerca de 120 – 150 dias após o início das operações.

2.4 PRODUÇÃO DE INÓCULO DE *SCLEROTIUM ROLFSII*

O inóculo de *S. rolf sii* foi produzido em grãos de arroz segundo Paiva *et al.* (2020). Os grãos de arroz foram imersos em água destilada, durante 2 horas. Em seguida, drenou-se a água destilada e os grãos de arroz foram autoclavados. Posteriormente, inoculou-se 5 fragmentos de micélio em frascos, contendo 100 g de arroz, incubando-os durante 7 dias em câmara de crescimento (fotoperíodo 12 h a $27 \pm 1^\circ\text{C}$).

2.5 PRODUÇÃO DAS MUDAS E INOCULAÇÃO DO PATÓGENO

Foram semeados tomateiros diretamente em vasos de 2 L, preenchidos com substrato Bioplant®. Cada vaso recebeu 200 g do composto do resíduo vegetal, sendo misturados com o 1,3 L de substrato. As plantas foram mantidas em viveiro coberto com sombrite de 50%, irrigadas manualmente duas vezes ao dia. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições cada: (i): substrato + hospedeiro, (ii): substrato + hospedeiro + composto + patógeno, (iii): substrato + hospedeiro + composto, (iv): substrato + hospedeiro + patógeno, semelhante ao apresentado por (Coventry *et al.*, 2005).

A inoculação foi realizada aos 21 dias após a semeadura (DAS), utilizando 8 g de arroz colonizado por L^{-1} de substrato. O arroz foi incorporado sobre a superfície do substrato. Após a inoculação, as mudas foram irrigadas uma vez ao dia, e as avaliações da intensidade da murcha de escleródio foram realizadas diariamente.

Foi realizado a massa seca parte área (MSPA) e raiz (MSR). Para a determinação do peso seco, as mudas foram armazenadas em saco de papel e secas em estufa de circulação de ar, à temperatura de $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, durante 48 horas, para posterior pesagem em balança analítica de precisão de 0,001 g.

O desenvolvimento do fungo no substrato foi avaliado através da quantidade de unidades formadoras de colônia.kg⁻¹ de substrato. Para isso, foram utilizados 50 g do substrato. As amostras foram secas ao ar e peneiradas em peneiras com abertura de 2000, 1000 e 500 μm . O substrato retido na menor peneira foi distribuído uniformemente sobre uma camada de papel toalha estéril, em uma bandeja plástica retangular com dimensões de 34 x 24 x 5 cm, e umedecido com 12,5 mL de solução de metanol a 1%. As bandejas foram vedadas com filme plástico transparente, para reduzir a perda de água. Após 2 dias de incubação em escuro contínuo e à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, foram contadas as colônias de *S. rolf sii* desenvolvidas na superfície do substrato (Rodríguez-Kabana, 1980).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do experimento de crescimento micelial foram submetidos à análise de variância considerando um experimento no delineamento fatorial com parcelas subdivididas no tempo. Como

houve interação entre os fatores, foram realizadas regressões lineares da área da colônia, considerando o tempo (DAI) como variável independente para cada uma das doses testadas. Os coeficientes angulares das equações (b), considerados como estimadores da taxa de crescimento das colônias, e a área da colônia aos 7 DAI foram comparados pelo teste SNK.

Os valores das massas das plantas não apresentaram normalidade dos resíduos, portanto, foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e os ranks foram comparados pelo teste de Dunn. A intensidade dos sintomas da podridão de escleródio e os valores de UFC foram avaliados apenas nos tratamentos em que foi inoculado o fungo *S. rolfsii*, portanto, foram comparados pelo teste t. As análises dos dados foram realizadas por meio do *software* estatístico SAS (9.2. SAS Institute, Cary, NC).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização de óleos essenciais, extratos e até mesmo substratos à base de compostos de plantas são estratégias sustentáveis que auxiliam no manejo de patógenos radiculares. Alguns trabalhos já citam o uso de óleo essenciais de cidreira, citronela e melissa, assim como extratos hidroalcolólicos e hidroacetônicos apresentam inibição do crescimento micelial dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *S. rolfsii* (Queiroz *et al.*, 2020). Da mesma forma, os dados apresentados neste trabalho indicam que o uso de extrato aquoso de sangra d'água reduziu o crescimento micelial de *S. rolfsii*, apresentando potencial para o uso como fungicida natural. Por outro lado, não foi observado efeito sobre o crescimento de *M. phaseolina*.

Houve interação significativa entre os dias de avaliação e as doses de extrato de *C. urucurana* sobre o crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* ($P < 0,001$). A redução do crescimento micelial foi observado posteriormente ao terceiro dia de inoculação (Figura 1A). A utilização de extrato de *C. urucurana*, na dose de 30 g de folhas.100 mL⁻¹ de meio BDA, proporcionou uma área da colônia igual a zero até o terceiro DAI, enquanto o tratamento sem a adição do extrato de Sangra d'água apresentou uma área da colônia próximo a 9 cm². No quarto DAI, foi possível observar que nos tratamentos com maiores quantidades de extrato houve menor crescimento da área da colônia. Aos sete DAI, a maior dose de extrato obteve a menor média de área da colônia em relação aos demais tratamento utilizados (Figura 1A).

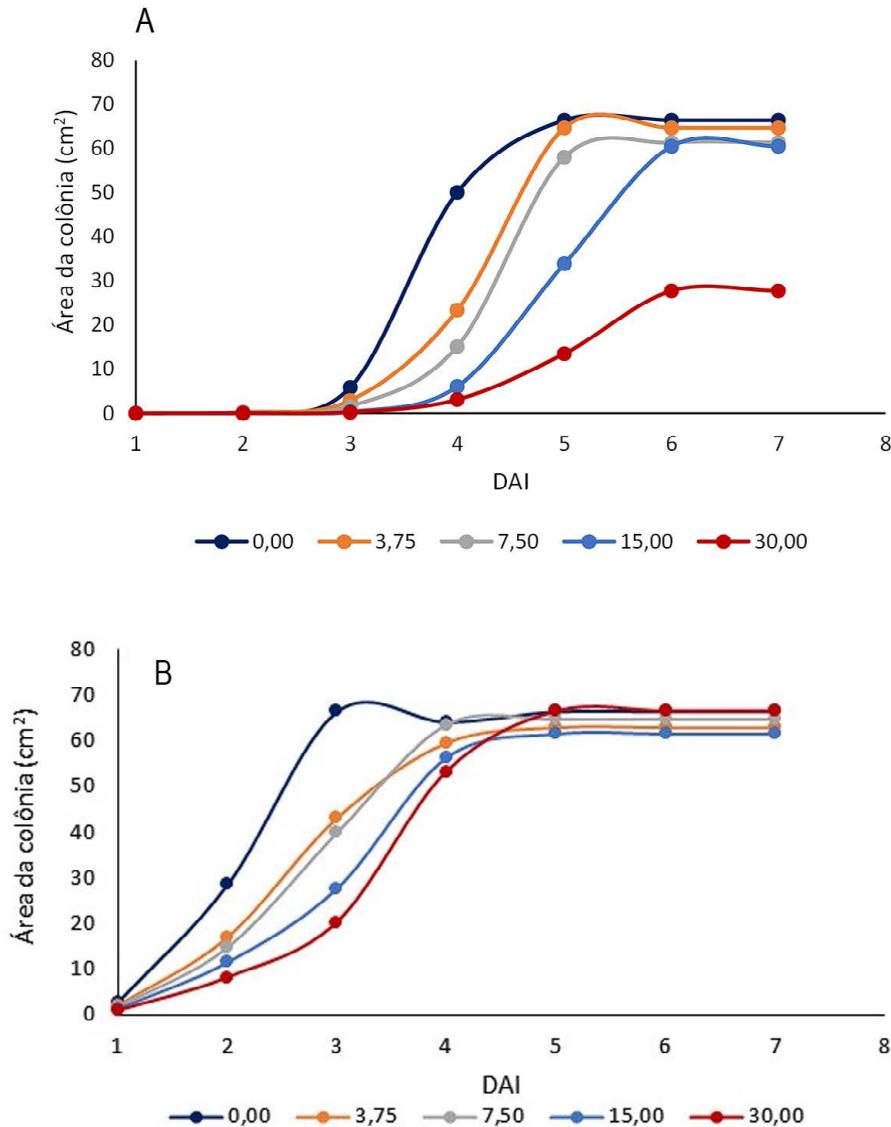


Figura 1. Crescimento da área da colônia de (A) *Sclerotium rolfsii* e (B) *Macrophomina phaseolina* quando cultivados em meio de cultura BDA contendo diferentes doses de extrato aquoso de sanga d'água (g de folhas.100 mL⁻¹). DAI: dias após a incubação.

As doses de extrato de *C. urucurana* apresentaram efeito significativo na redução da área da colônia de *S. rolfsii* ($P < 0,0001$). Ao aumentar as doses, observou-se a redução da área da colônia. O tratamento com a dose de 30 g de folhas.100 mL⁻¹ de meio BDA, apresentou a menor área da colônia (27,79 cm²), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, enquanto o tratamento sem a adição de extrato de Sangra d'água apresentou maior área da colônia (66,44 cm²), aos 7 dias após a inoculação (Tabela 2).

O uso do extrato de *C. urucurana* proporcionou a redução da taxa de crescimento das colônias *S. rolfsii* (Tabela 2). As colônias crescidas em meio sem a adição de extrato apresentaram taxa de crescimento de 14,03 cm².dia⁻¹, não diferindo estatisticamente das crescidas com adição de 3,75 g. A dose de 30 g.100 mL⁻¹ apresentou menor taxa de crescimento, de apenas 5,45 cm².dia⁻¹ diferindo estatisticamente das demais doses testadas.

Tabela 2. Área da colônia de *Sclerotium rolfsii* cultivado durante 7 dias, em meio de cultura BDA, acrescido de extrato aquoso de sangra d'água (*Croton. urucurana*)

Concentração do extrato (g de folhas.100 mL ⁻¹)	Equação linear	R ²	Área da colônia (cm ²)*		TCC (b) (cm ² .dia ⁻¹)	
0,00	Área= -19,55 + 14,03 x	83,6	66,44	b	14,03	d
3,75	Área= -23,35 + 13,75 x	84,4	64,72	b	13,75	dc
7,50	Área= -23,56 + 12,98 x	83,1	61,34	b	12,98	c
15,00	Área= -24,93 + 12,02 x	82,1	60,51	b	12,02	b
30,00	Área= -11,35 + 5,45 x	81,0	27,79	a	5,45	a
F calc dose	158,2				171,3	
F calc dai	1579,0				--	
F calc dai*dose	52,2				--	
CVdai (%)=	12,0				5,2	
CVdose (%)=	18,0				---	

* Área da colônia aos 7 dias após a inoculação do fungo; TCC: taxa de crescimento da colônia; Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Student-Newman-Keuls.

Houve interação significativa entre as doses do extrato de *C. urucurana* e DAI sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina*. A utilização do extrato de *C. urucurana*, na dose de 30 g.100 mL⁻¹ de meio BDA, apresentou uma área de colônia próxima a 10 cm², no segundo DAI, enquanto o tratamento sem a adição do extrato de Sangra d'água apresentou uma área da colônia próximo a 30 cm² (Figura 1B). No terceiro DAI o mesmo tratamento apresentou uma área de colônia próxima a 20 cm², enquanto o tratamento sem a adição do extrato obteve uma área da colônia próxima a 66,47 cm². A partir de 5 DAI, foi possível observar que nenhum dos tratamentos proporcionou redução no crescimento micelial, atingindo uma área da colônia próximo de 66 cm² em todos os tratamentos, sem apresentar diferença estatística entre eles (Tabela 3).

Houve diferença significativa na taxa de crescimento das colônias de *M. phaseolina*, sendo o maior valor observado com a adição do extrato de 30 g. de folhas, no entanto estas diferenças não corresponderam a diferenças no tamanho da colônia aos 7 DAI. Estes dados evidenciam que a utilização do extrato aquoso de sangra d'água não tem efeito sobre o crescimento de *M. phaseolina*, em função disso o efeito do substrato a base de composto de folhas de *C. urucurana* não foi avaliado sobre este fungo, apenas sobre *S. rolfsii*.

A utilização do composto apresentou maior quantidade de nutrientes minerais e matéria orgânica quando comparado ao solo (Tabela 1). Estas características proporcionaram melhor desenvolvimento das plantas (Tabela 4).

Tabela 3. Área da colônia de *Macrophomina phaseolina* cultivado durante 7 dias, em meio de cultura BDA, acrescido de extrato aquoso de sangra d'água (*Croton. urucurana*)

Concentração do extrato (g de folhas.100 mL ⁻¹)	Equação linear	R ²	Área da colônia (cm ²)*		TCC (b) (cm ² .dia ⁻¹)	
0.00	Área= 13.63 + 9.5099 x	63,1	66.48	a	9,51	D
3.75	Área= 2.34 + 10.5314 x	80,2	63,06	a	10,53	C
7.50	Área= 0.08 + 11.2115 x	79,8	64,77	a	11,21	B

15.00	Área= $-4.78 + 11.2674 x$	84,8	61,66	a	11,27	B
30.00	Área= $-11.09 + 12.8570x$	86,4	66,47	a	12,86	A
F calc dose	56,6				68,4	
F calc dai	3216,61				---	
F calc dose*dai	40,4				---	
CVdai (%)=	8,2				2,9	
Cvdose (%)	5,1				---	

* Área da colônia aos 7 dias após a inoculação do fungo; TCC: taxa de crescimento da colônia; Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Student-Newman-Keuls.

O uso do composto de sangra d'água proporcionou as maiores médias de massa seca e verde da parte aérea ($P < 0,0001$) do tomateiro (Tabela 4). O uso do composto, junto ao substrato, apresentou as maiores médias de massa seca e verde de raiz dos tratamentos ($P < 0,0001$). Não houve diferença significativa nas variáveis de massas entre as plantas inoculadas com *S. rolfsii*, cultivadas apenas com substrato comercial e substrato + composto de sangra d'água.

Tabela 4. Massa seca e verde da parte aérea e raiz de plantas de tomateiro cultivada com substrato a base de composto de sangra d'água e inoculadas com *Sclerotium rolfsii*

Tratamento	MVPA		MSPA		MVR		MSR	
	g.planta ⁻¹							
Substr + Composto	10,14	a	0,78	a	0,21	a	0,04	A
Substrato	5,45	b	0,37	b	0,25	a	0,04	A
Substr + Composto + <i>S. rolfsii</i>	1,20	c	0,28	c	0,03	b	0,02	B
Substr + <i>S. rolfsii</i>	1,06	c	0,20	c	0,02	b	0,01	B
χ^2	61,85		358,75		529,45		384,93	
P	<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001	

Tratamentos: substrato comercial adicionado ou não com composto de folhas de sangra d'água. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Dunn 5%. χ^2 : valor de qui-quadrado obtido pelo teste de Kruskal-Wallis.

O aumento de massa seca e verde da parte aérea foram maiores com o uso do composto orgânico, tal fato pode ser explicado em razão da maior quantidade de nutrientes minerais, devido a compostagem realizada. Durante o processo da compostagem, ocorre a liberação de nutrientes como nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) (PIRES; FERRÃO, 2017).

Os sintomas de murcha nas plantas de tomateiro foi observado a partir de 1 DAI com *S. rolfsii* quando as plantas foram cultivadas somente com o substrato comercial. Entretanto, a utilização do composto proporcionou o atraso no surgimento dos sintomas (Figura 2A). Aos 7 DAI a diferença entre os tratamentos com e sem uso do composto apresentou diferença estatística ($P < 0,001$) (Figura 2B).

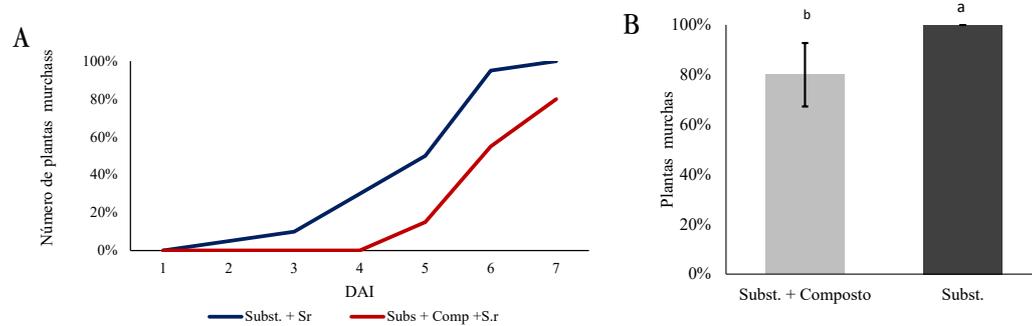


Figura 2. (A) Progresso da murcha de esclerócio em tomateiro. (B) Porcentagem de plantas murchas aos 7 dias após a inoculação (DAI) com ou sem composto de sangra d'água adicionado ao substrato. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste t ($P < 0,001$). As barras indicam o erro padrão da média.

O uso do composto fez com que 80% das plantas apresentassem sintomas de murcha, enquanto 100% das plantas sem adição do composto apresentaram sintomas de murcha. Posteriormente, observou-se a seca e morte das plantas. Todas elas, independentemente do uso ou não do composto, morreram (Figura 3A).

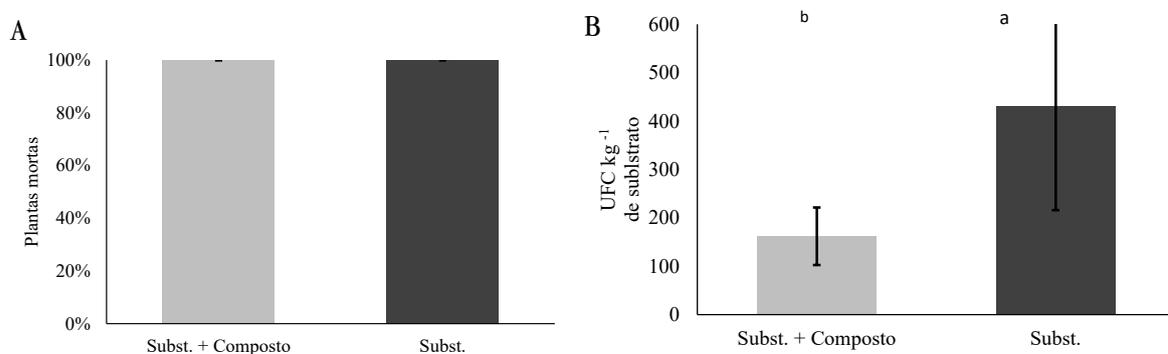


Figura 3. (A) Porcentagem morte de plantas por podridão de esclerócio (*Sclerotium rolfsii*) aos 9 dias após a inoculação em substrato e mistura de substrato e composto de sangra d'água. Diferença não significativa pelo teste t ($P = 1,00$). (B) Unidades formadoras de colônia (UFC) de *Sclerotium rolfsii* desenvolvidas em substrato e mistura de substrato e composto de sangra d'água. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ($P = 0,0276$). As barras indicam o erro padrão da média.

O uso do composto de *C. urucurana* foi capaz de reduzir o progresso da doença e o número de plantas murchas, embora o uso do composto não tenha sido capaz de inibir a morte das plantas. Da mesma forma, o uso de extrato de pimentas cumari e malagueta no controle de *Rhizoctonia solani* e *S. rolfsii*, em ensaio in vivo, indicou a redução do progresso da doença, durante as primeiras 72 horas. Posteriormente, teve seu efeito reduzido, indicando a necessidade de reaplicação do produto (Fonseca *et al.*, 2020). Em outro patossistema, Ventrino *et al.* (2016) observaram que o extrato do composto de castanheira inibiu o crescimento micelial de *Sclerotinia minor* e *Rhizoctonia solani* em 77% e 92%, respectivamente. Neste mesmo trabalho, os autores relatam que comparado ao uso de substrato puro, a adição de composto de castanheira reduziu significativamente a incidência de *S.* em 70% e de *R. solani* em 51% em plantas de tomateiro (Ventrino *et al.*, 2016).

Os valores de massa seca e verde da parte aérea e raiz, não apresentam diferença estatística, entretanto os tratamentos substrato + hospedeiro + composto + patógeno e substrato + hospedeiro + patógeno diferem em relação a unidades formadoras de colônia (UFC.Kg⁻¹ de solo) encontrada ($P < 0,0276$).

O uso do composto propiciou a redução de unidades formadoras de colônias de *S. rolfsii*, apresentando valores menores que 200 UFC.Kg⁻¹ de solo, enquanto a utilização somente do substrato apresentou valores em torno de 430 UFC.Kg⁻¹ de solo (Figura 3B).

Uma das dificuldades do manejo de *S. rolfsii* é a produção de escleródios como estruturas de sobrevivência. Benson e Ownley (2006) citam que um escleródio por Kg de solo pode causar grandes perdas em uma lavoura, além disso, este fungo pode causar doenças em um número muito grande de hospedeiros. Os dados apresentados indicam que a sangra d'água reduz a população de fungo no solo, pois ocasionou redução na quantidade de unidades formadoras de colônia, comparando com o tratamento que não utilizou o composto orgânico. O uso de extrato da parte aérea da planta melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) apresentou, em teste in vivo, diminuição da severidade de doença ocasionada por *S. rolfsii* em 74% (Faria; Bueno; Papa, 2009).

O uso de extratos de plantas pode apresentar efeito inibitório do crescimento micelial (Marcano; Vargas; Pire, 2005; Pires; Ferrão, 2017), e em condições in vivo se comportar de forma diferente, não reduzindo e/ou inibindo o crescimento do fungo. Entretanto, o uso da sangra d'água proporcionou redução do crescimento micelial, com o uso da maior dose de extrato, e da formação de escleródios de *S. rolfsii* com o uso do composto orgânico.

O manejo integrado para o controle da podridão de escleródio deve incluir o uso de variedades resistentes, quando disponíveis, adubação nitrogenada balanceada, controle biológico e a incorporação de composto de sangra d'água, que pode atuar como uma ferramenta auxiliar na redução da população do fungo no solo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de extrato de sangra d'água na dose 30 g de folhas.100 mL⁻¹ de meio BDA reduz o crescimento micelial da área da colônia de *Sclerotium rolfsii*.

A adição de extrato de sangra d'água não reduz o crescimento do fungo *Macrophomina phaseolina*.

O composto orgânico obtido com as folhas de *Croton urucurana* reduz a população de *S. rolfsii* no substrato.

O uso do composto de *Croton urucurana* não foi eficiente para reduzir a intensidade da podridão de esclerócio em tomateiro.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – código 001.

REFERÊNCIAS

ALI AL-HAKAMI, I.; RAWEH, S.; EL-SHAIBANY, A.; HUMAID, A.; ELAASSER, M. A review of biological activities of genus *Croton*. *PSM Microbiology*, Pakistan, v. 7, n. 1, p. 12–18, 2022. Disponível em: <https://journals.pmpublishers.org/index.php/microbiol>.

ALMEIDA, M. L. dos S.; OLIVEIRA, A. S.; CARVALHO, G. S.; DA SILVA, L. S.; SILVA, L. B.; DOS SANTOS, E. C. B.; CASARIN, F. E. Toxicity of *Croton urucurana* against the subterranean termite *Heterotermes sulcatus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **J. Entomol.**, Faisalābād, v. 13, n. 1–2, p. 48–54, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3923/je.2016.48.54>

BENICIO, V.; ARAÚJO, E.; SOUTO, F. M. de; BENICIO, M. J.; FELISMINO, D. C. Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. **Fitopatol. Bras.**, Brasília - DF, v. 28, n. 2, p. 180–183, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582003000200011>

BENSON, D. M.; OWNLEY, B. H. Laboratory exercise with soilborne plant pathogens. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, A.; WINDHAM, M. (org.). **Plant pathology: concepts and laboratory exercises**. 2. ed. Bosa Roca, Taylor & Francis Inc, 2006. p. 235–251.

BISSACOTTI, A. P.; LONDERO, P. M. G.; COSTABEBER, I. H. Tomate: botânica, produção, composição nutricional e benefícios à saúde. **Cad. Ciê. Tecnol.**, Brasília - DF, v. 38, n. 2, p. 26643, 2021. DOI: <https://doi.org/10.35977/0104-1096.cct2021.v38.26643>

BLANCO, N. H. M.; BARBOSA, D. F. R.; GRAICHEN, F. A. S. Antagonistic microorganisms and nitrogen fertilization in control of tomato southern blight. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo - SP, v. 88, p. 1–9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000502019>

CÂNDIDO-BACANI, P. D. M.; FIGUEIREDO, P. D. O.; MATOS, M. D. F. C.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Cytotoxic orbitide from the latex of *Croton urucurana*. **J. Nat. Prod.**, Gorakhpur, v. 78, n. 11, p. 2754–2760, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00724>

COVENTRY, E.; NOBLE, R.; MEAD, A.; WHIPPS, J. M. Suppression of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in different soils using vegetable wastes. **Eur. J. Plant Pathol.**, Dordrecht, v. 111, n. 2, p. 101–112, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-004-1420-0>

FARIA, F. A.; BUENO, C. J.; PAPA, M. D. F. S. Atividade fungitóxica de *Momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Acta Sci., Agron.**, Maringá - PR, v. 31, n. 3, p. 383–389, 2009. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.364>

FONSECA, A. S.; FERNANDES, C. de F.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; ROCHA, R. B.; FREIRE, T. C.; SANGI, S. C.; BASTOS, J. S. F.; ALVES, R. C. Extratos vegetais do gênero *Capsicum* com potencial atividade antifúngica contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, Aracaju - SE, v. 11, n. 1, p. 89–98, 2020. DOI: <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0010>

GURGEL, L. A.; SIDRIM, J. J. C.; MARTINS, D. T.; FILHO, V. C.; RAO, V. S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 97, n. 2, p. 409–412, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.033>

HYDER, S.; GONDAL, A. S.; AHMED, R.; SAHI, S. T.; REHMAN, A.; HANNAN, A. First Report of Charcoal Rot in Tomato Caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. From Pakistan. **Plant Dis.**, Saint Paul - MN, v. 102, n. 7, p. 1459, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1663-PDN>

KATOR, L.; DANIEL OCHE, O.; YULA HOSEA, Z. Incidence and severity of *Sclerotium rolfsii* disease on tomato farms in Chile Island (Makurdi), Benue State, Nigeria. **IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science Ver. II**, Ghaziabad, v. 8, n. 11, p. 2319–2372, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.9790/2380-0811297103>

- LODHA, S.; MAWAR, R. Population dynamics of *Macrophomina phaseolina* in relation to disease management: A review. **J. Phytopathol.**, Berlin, v. 168, n. 1, p. 1–17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12854>
- LOPES ALVES, J. J.; DIAS, M. I.; BARREIRA, J. C. M.; BARROS, L.; RESENDE, O.; RIBEIRO AGUIAR, A. C.; FERREIRA, I. C. F. R. Phenolic profile of *Croton urucurana* Baill. leaves, stems and bark: pairwise influence of drying temperature and extraction solvent. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 9, p. 2032, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25092032>
- MARCANO, D. A. de; VARGAS, N.; PIRE, A. Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. **Ver. Fac. Agron.**, Caracas, v. 22, n. 4, p. 315–324, 2005.
- MARCUZZO, L. L.; SCHULLER, A. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. **Summa Phytopathol.**, Botucatu – SP, v. 40, n. 3, p. 281–283, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/1951>
- MARQUEZ, N.; GIACHERO, M. L.; DECLERCK, S.; DUCASSE, D. A. *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control. **Front. Plant Sci.**, Lausanne, v. 12, n. 634397, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634397>
- MARTÍNEZ-SALGADO, S. J.; ANDRADE-HOYOS, P.; PARRAGUIRRE LEZAMA, C.; RIVERA-TAPIA, A.; LUNA-CRUZ, A.; ROMERO-ARENAS, O. Biological control of charcoal rot in peanut crop through strains of trichoderma spp., in Puebla, Mexico. **Plants**, v. 10, n. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10122630>
- MORALES-UBALDO, A.; HERNÁNDEZ-ALVARADO, J.; VALLADARES-CARRANZA, B.; VELÁZQUEZ-ORDOÑEZ, V.; DELGADILLO-RUIZ, L.; ROSENFELD-MIRANDA, C.; RIVERO-PÉREZ, N.; ZARAGOZA-BASTIDA, A. Antibacterial activity of the *Croton draco* hidroalcoholic extract on bacteria of sanitary importance. **Abanico Veterinario**, Tepic, v. 10, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21929/abavet2020.2>
- MORI, M. Efeito do pH e de diferentes fontes de N na supressão de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana - MS, 2015.
- NOGUEIRA, G. A.; SILVA, S. G. A.; LINHARES, C. M. S.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; NUNES, G. H. S. Métodos de inoculação de *Fusarium solani* e *Sclerotium rolfsii* em meloeiro. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 45, n. 1, p. 59–63, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/187147>
- OLIANI, J.; FERREIRA, M. J. P.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Leaf flavonoids from *Croton urucurana* and *C. floribundus* (Euphorbiaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, Oxford, v. 94, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104217>
- PAIVA, B.; GRAICHEN, F. A. S.; DIAS, A. R.; FERNANDES, F. M. Podridão de esclerótio em espécies florestais. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta - MT, v. 18, n. 2, p. 104–110, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5327/rcaa.v18i2.3727>
- PANE, C.; PICCOLO, A.; SPACCINI, R.; CELANO, G.; VILLECCO, D.; ZACCARDELLI, M. Agricultural waste-based composts exhibiting suppressivity to diseases caused by the phytopathogenic soil-borne fungi *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. **App. Soil Ecol.**, Amsterdam, v. 65, p. 43–51, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.01.002>

- PIRES, I. C. G.; FERRÃO, G. E. Compostagem no Brasil sob a perspectiva da legislação ambiental. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, São Luís, v. 9, n. 01, p. 1–18, 2017.
- PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **J. Ethnopharmac.**, Lausanne, v. 76, n. 1, p. 93–98, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00214-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00214-8)
- PUNJA, Z. K. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. **Ann. Rev. Phytopathol.**, Palo Alto - CA, v. 23, n. 1, p. 97–127, 1985. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.py.23.090185.000525>
- QUEIROZ, T. N.; PASCUALI, L. C.; SILVA, A. C. P.; PORTO, A. G.; CARVALHO, J. W. P. Extratos e óleos essenciais como alternativa no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* isolados de soja (*Glycine max* L.). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá - PR, v. 13, n. 2, p. 737–753, 2020. DOI: <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2020v13n2p737-753>
- RODRIGUEZ-KABANA, R. A method for estimating numbers of viable sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. **Phytopathology**, Saint Paul - MN, v. 70, n. 9, p. 917–919, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-70-917>
- TANČIĆ ŽIVANOV, S.; DEDIĆ, B.; DIMITRIJEVIĆ, A.; DUŠANIĆ, N.; JOCIĆ, S.; MIKLIČ, V.; KOVAČEVIĆ, B.; MILADINOVIĆ, D. Analysis of genetic diversity among *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. isolates from Euro-Asian countries. **J. Plant Dis. and Prot.**, Stuttgart, v. 126, n. 6, p. 565–573, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00260-6>
- TOMAZELI, V. N.; SANTOS, I. Dos; MORALES, R. G. F.; FIGUEIREDO, A. S. T. Soil solarization in the control of bean diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. **Brazilian Journal of Agriculture**, Piracicaba - SP, v. 94, n. 1, p. 1–9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.37856/bja.v94i1.184>
- VENTORINO, V.; PARILLO, R.; TESTA, A.; VISCARDI, S.; ESPRESSO, F.; PEPE, O. Chestnut green waste composting for sustainable forest management: microbiota dynamics and impact on plant disease control. **J. of Environ. Manag**, London, v. 166, p. 168–177, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.10.018>