

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

Rosangela da Silva Lima

**MANEJO DA CASCA-PRETA-DO-INHAME COM PRODUTOS VEGETAIS E
BIONEMATICIDA**

Rio Largo, AL
2016

ROSANGELA DA SILVA LIMA

Manejo da casca-preta-do-inhame com produtos vegetais e bionemática

Defesa da Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Proteção de Plantas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz.

Rio Largo, AL

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janaina Xisto de Barros Lima

L732m Lima, Rosangela da Silva.
Manejo da casca-preta-do-inhame com produtos vegetais e bionemática/
Rosangela da Silva Lima. – 2017.
89 f. : il.

Orientadora: Maria de Fátima Silva Muniz.
Tese (doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas.
Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2016.

Inclui bibliografia.

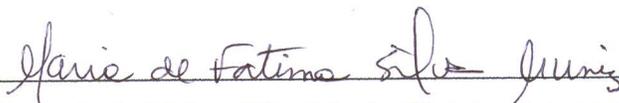
1. Inhame. 2. *Dioscorea* spp. 3. Manipueira. 4. *Bacillus subtilis*. 5. *Scutellonema bradys*. I. Título.

CDU: 632.9:633.685

ROSANGELA DA SILVA LIMA

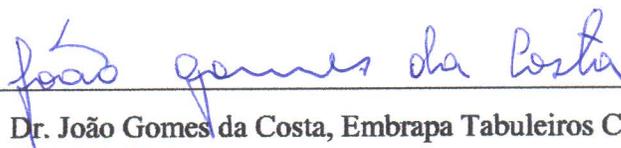
Manejo da casca-preta-do-inhame com produtos vegetais e bionemática

Tese submetida ao corpo docente do
Programa de Pós-Graduação em Proteção de
Plantas da Universidade Federal de Alagoas
e aprovada em 29 de abril de 2016.



Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz, Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)

Banca examinadora:



Dr. João Gomes da Costa, Embrapa Tabuleiros Costeiros
(Examinador externo)



Profa. Dra. Iraídes Perreira Assunção, Universidade Federal de Alagoas
(Examinador interno)



Prof. Dr. Marcelo de Menezes Cruz, Universidade Federal de Alagoas
(Examinador interno)

Aos meus pais, irmãos e amigos;

Com carinho

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo agradeço a Deus, pela vida, bênçãos concedidas e pelas pessoas especiais que colocou em meu caminho para me incentivar, apoiar e ajudar, durante toda jornada.

À Universidade Federal de Alagoas - Centro de Ciências Agrárias, pela oportunidade de realização do curso de Pós-Graduação.

Especialmente à Professora Dra. Maria de Fátima Silva Muniz, pela compreensão, serenidade, dedicação, paciência, confiança, amizade e orientação durante o curso e a realização deste trabalho.

Aos professores, Dra. Iraildes Pereira Assunção, Dr. Marcelo de Menezes Cruz (Centro de Ciências Agrárias/UFAL) e ao Dr. João Gomes da Costa (Embrapa Tabuleiros Costeiros), pela contribuição ao realizar as correções e pelas sugestões deste trabalho.

Ao Dr. João Gomes Costa, Prof. Dr. Alexandre Behling (Universidade Federal do Paraná) e Dra. Maria de Fátima Gonçalves Fernandes (Universidade Federal de Minas Gerais) pela colaboração nas análises estatísticas.

Aos professores do curso de Pós-Graduação do Centro de Ciências Agrárias/UFAL, pelos ensinamentos.

Aos professores do CECA/UFAL, Dra. Iraildes Pereira Assunção e Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima pela compreensão, apoio e confiança e aos professores Dr. Jakes Hallan e Dr. Cícero Calazans pelo apoio e incentivo.

À coordenação e ao colegiado do curso de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade em dar continuidade à minha formação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus pais, à minha família e aos meus amigos pela força, apoio e carinho.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia, Ana Caroline de Melo Moraes, Deyse Ferreira Rocha, Jean Jardel da S. Araújo, Samuel Lima, Alison Van Der Linden, Fátima Queiroz e Lívia Paula pela parceria e contribuição na elaboração deste trabalho.

Aos colegas de curso pelo apoio e convívio sempre agradável.

À doutoranda Kelly Barbosa pela colaboração durante a execução das análises realizadas no laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN-UFAL).

A todos que fazem o Centro de Ciências Agrárias/UFAL, meu muito obrigado pela parceria e contribuição que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

A cultura do inhame (*Dioscorea* spp.) é considerada de importante valor socioeconômico e, que por vários séculos tem seus rizóforos utilizados na alimentação de milhares de pessoas em todo mundo; o que torna a cultura uma atividade geradora de emprego e renda, com grande potencial para agroindustrialização, sobretudo para a Região Nordeste do Brasil. Diante da carência de pesquisas visando o controle da casca-preta-do-inhame, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a potencialidade da manipueira e do bionematicida à base de *Bacillus subtilis* no tratamento de rizóforos-semente de inhame infectados por *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus coffeae* em casa de vegetação e ainda, avaliar a atividade nematicida de extratos aquosos de *Annona* spp. e de *Croton heliotropiifolius* a *S. bradys* e verificar as classes de compostos secundários presentes nesses extratos. Para tanto, experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN), e em casa de vegetação do CECA/UFAL. O primeiro foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com cinco repetições e sete tratamentos: testemunha sem imersão e imersão dos rizóforos-semente em manipueira nas concentrações de 25, 50 e 100% por dois períodos de 9 e 12 horas, seguido do plantio em vasos contendo solo esterilizado. O teor de cianeto na manipueira foi de 3 mg L⁻¹, o qual foi estimado por meio do teste colorimétrico (Quantofix[®] Cyanid-Macherey-Nagel). Aos cinco meses avaliou-se a massa fresca das cascas dos rizóforos e do sistema radicular e a população final de nematoides na casca dos rizóforos, no solo e no sistema radicular das plantas. A brotação dos rizóforos-semente foi de 100% em todos os tratamentos. As concentrações de manipueira nos dois períodos de imersão (25% - 09 horas; 25% e 50% - 12 horas), apresentaram os melhores resultados em relação à testemunha, para as populações finais dos nematoides/g de casca de rizóforos. O segundo experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pelo bionematicida comercial Nemathel[®] (produto à base de *B. subtilis*) nas dosagens de 50, 200 e 250 mL/10L de água, além do nematicida químico Carbofurano (40 mL de Furadan[®] 350 SC/10L de água) como testemunha positiva e sem imersão como testemunha negativa. Os rizóforos foram imersos durante 30 minutos em cada tratamento, posteriormente plantados em vasos contendo solo esterilizado. Aos três meses foi avaliado o percentual de brotação dos rizóforos-semente, e aos cinco meses foi avaliada a massa fresca das cascas de rizóforos e a população final de nematoides nesse material vegetal. Observou-se um percentual de 100% de brotação dos rizóforos-semente. O tratamento dos rizóforos-semente com o bionematicida não apresentou potencial como agente de biocontrole de *S. bradys* e *P. coffeae* nas concentrações testadas. Na terceira etapa, foram testados em três ensaios, extratos de folhas de velame (*C. heliotropiifolius*), soncoya (*A. purpurea*), araticum-do-brejo (*A. glabra*), pinha (*A. squamosa*) e biribá (*A. mucosa*); extrato de caule de velame; extrato de casca do caule de soncoya, nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100 %. Em cavidades de placas de Kline foram colocados 200 µL de extrato e 20 nematoides e após 24 horas os espécimes que permaneceram imóveis foram quantificados e transferidos para água destilada, sendo considerados mortos aqueles que não recuperaram o movimento após 24 horas de incubação. A triagem fitoquímica dos extratos foi realizada pela metodologia da prospecção preliminar, realizando testes para identificação de metabólitos. O extrato de caule de velame não apresentou efeito nematicida sobre *S. bradys*, enquanto os demais causaram imobilidade e mortalidade. A prospecção química demonstrou a presença de taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis, catequinas, flavononas, triterpenóides e saponinas.

Palavras-chave: Manipueira. *Bacillus subtilis*. *Scutellonema bradys*. *Pratylenchus* sp. Extratos aquosos.

ABSTRACT

Yam (*Dioscorea* spp.) is considered as a valuable socio-economic crop which has fed thousands of human beings around the world for many centuries with its tubers; thus awarding this crop as source for employment and incomes and a high potential for agro-industrialization, especially in the Brazilian Northeastern region. Facing the lack of research aiming the control of the dry rot disease, the objective of the present work was to evaluate the potential of cassava wastewater and a *Bacillus subtilis* based bio-nematicide to control the infection of yam seed tubers by *Scutellonema bradys* and *Pratylenchus coffeae* in greenhouse conditions, as well as to evaluate the nematicidal activity of aqueous extracts from *Annona* spp. and *Croton heliotropiifolius* against *S. bradys*, verifying the classes of secondary compounds present in these extracts. The experiments were performed in the Laboratory of Phytopathology and the Laboratory of Research in Natural Resources, and in greenhouse at Federal University of Alagoas, Brazil. The first experiment was set-up in a completely random factorial design with five replicates and seven treatments: control without immersion and immersion of seed tubers in cassava wastewater at concentration of 25, 50 and 100% for two periods of 9 and 12 hours, before planting in pots containing sterilized soil. The cyanide content in cassava wastewater was of 3 mg L⁻¹, determined by colorimetric method (Quantofix[®] Cyanid-Macherey-Nagel). After five months the fresh weight of tuber peel and radicular systems were evaluated, as well as the final population of nematodes in the tuber peels, in the soil and in the plant radicular system. All seed tubers germinated independently of the treatment. Cassava wastewater concentrations of 25% and 25 and 50%, for immersion periods of 09 and 12 hours, respectively, showed significant results for final population of nematodes/g of tuber peels when compared to control. The second experiment was set-up in completely random design with five treatments and four replicates. Treatments were constituted by the commercial bio-nematicide Nemathel[®] (based on *B. subtilis*) at the dosages of 50, 200 and 250 mL/10L of water, in addition to the chemical nematicide Carbofuran (40 mL of Furadan[®] 350 SC/10L of water) as a positive control and without immersion as a negative control. Tubers were immersed 30 minutes for each treatment, then planted in pots containing sterilized soil. After three months the germination of seed tubers was evaluated. The fresh weight of tuber peels and the final population of nematodes in the tuber peel were evaluated five months after planting. One-hundred percent of seed tubers germinated. Treatment of seed tubers with bio-nematicide showed no potential for the bio-control of *S. bradys* and *P. coffeae* at the concentrations tested. In the third experiment, three assays were performed to test leaf extracts from: *Croton heliotropiifolius*, soncoya (*Annona purpurea*), swamp apple (*Annona glabra*), sugar apple (*Annona squamosa*) and wild sugar-apple (*Annona mucosa*); in addition to stem extracts from *C. heliotropiifolius*; and tree bark extract from soncoya at concentrations of 0, 25, 50, 75 and 100 %. To test the extracts, 200 µL of each extract and 20 nematodes were placed in the cavities of Kline plates. Twenty-four hours later nematode specimens remaining motionless were quantified and transferred to distilled water, those which did not recover motility after 24 hours of incubation were considered as dead. Chemical screening of the extracts was performed by the preliminary prospection method, performing tests to identify metabolites. The extracts from *C. heliotropiifolius* stem had no nematicidal effect on *S. bradys*, while all other extracts caused immobility and mortality of nematodes. Chemical screening showed the presence of flobafenic tannins, flavones, flavonoids, xanthones, flavononols, catechins, flavones, triterpenoids and saponins.

Keywords: Cassava wastewater. *Bacillus subtilis*. *Scutellonema bradys*. *Pratylenchus* sp. Aqueous extracts.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Teste colorimétrico empregado para estimar o teor de cianeto da manipueira utilizada no experimento.....	58
Figura 2	Massa fresca do sistema radicular (A) e número de nematoides/g de casca de rizóforo (B) após o tratamento do material de propagação com diferentes concentrações de manipueira e tempos de imersão.....	63
Figura 3	Placa de vidro do tipo Kline.....	77
Figura 4	Imobilidade (NI) e mortalidade (NM) de <i>Scutellonema bradys</i> em resposta a diferentes concentrações (0, 25, 59, 75 e 100%) de extratos aquosos oriundos de folhas.....	82
Figura 5	Imobilidade e mortalidade de <i>Scutellonema bradys</i> em resposta a diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) do extrato aquoso obtido de casca do caule de soncoya.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características química da manipueira.....	57
Tabela 2	Valores médios \pm desvio padrão de população inicial de <i>Scutellonema bradys</i> e de <i>Pratylenchus coffeae</i> em 1 g de casca de rizóforos-semente de inhame; massa fresca das cascas dos rizóforos; população final de nematoides em 100 cm ³ de solo; nematoides/g de raízes, após o tratamento dos rizóforos-semente com três concentrações de manipueira e dois períodos de imersão.....	62
Tabela 3	População inicial (Pi) de <i>Scutellonema bradys</i> e de <i>Pratylenchus coffeae</i> em rizóforos-semente de inhame; massa fresca das cascas dos rizóforos; população final de nematoides da casca dos rizóforos, cinco meses após a imersão dos rizóforos-semente em diferentes doses do bionematicida Nemathel [®] . Rio Largo - AL, 2016.....	66
Tabela 4	Coloração ilustrativa para a presença dos constituintes químicos antocianina e antocianidina, flavonas, flavonois e xantonas, chalconas e auronas, flavononóis.....	79
Tabela 5	Coloração ilustrativa para a presença dos constituintes químicos leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas.....	79
Tabela 6	Síntese da análise de variância para imobilidade e mortalidade de espécimes de <i>Scutellonema bradys</i> , empregando diferentes extratos vegetais foliares e concentrações.....	81
Tabela 7	Imobilidade e mortalidade de espécimes de <i>Scutellonema bradys</i> após 24 horas de exposição a extratos aquosos obtidos de folhas de cinco espécies vegetais, seguido de incubação em água.....	81
Tabela 8	Síntese da análise de variância para imobilidade e mortalidade de espécimes de <i>Scutellonema bradys</i> em diferentes concentrações do extrato de casca do caule de soncoya (<i>Annona purpurea</i>).....	81
Tabela 9	Resultados da prospecção química dos extratos aquosos de diferentes partes das plantas de velame (<i>Croton heliotropiifolius</i>), araticum-do-brejo (<i>Annona glabra</i>), soncoya (<i>A. purpurea</i>), pinha (<i>A. squamosa</i>) e biribá (<i>A. mucosa</i>).....	85

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Aspectos gerais sobre a cultura do inhame	15
2.2 Agentes etiológicos da casca-preta-do-inhame	16
2.2.1 <i>Scutellonema bradys</i> (nematóide do inhame).....	18
2.2.2 <i>Pratylenchus</i> spp. (Nematóides-das-lesões-radiculares).....	19
2.3 Medidas de controle	20
2.3.1 Controle químico.....	21
2.3.2 Método físico.....	22
2.3.2.1 Tratamento térmico.....	22
2.3.3 Métodos culturais.....	22
2.3.3.1 Rotação e sucessão de culturas.....	23
2.3.3.2 Materiais orgânicos e adubação mineral.....	24
2.3.3.2.1 Resíduos animais e vegetais.....	25
2.3.3.2.2 Resíduo agroindustrial: manipueira.....	26
2.3.4 Controle biológico.....	28
2.3.4.1 Utilização de <i>Bacillus subtilis</i> no controle de nematoides.....	28
2.3.5 Extratos vegetais.....	29
2.3.5.1 Descrição botânica e aspecto fitoquímico das espécies vegetais.....	31
2.3.5.1.1 Gênero <i>Croton</i> L.	31
2.3.5.1.1.1 <i>Croton heliotropiifolius</i>	32
2.3.5.1.2 Gênero <i>Annona</i> L.	33
2.3.5.1.2.1 <i>Annona squamosa</i>	33
2.3.5.1.2.2 <i>Annona mucosa</i>	34
2.3.5.1.2.3 <i>Annona purpurea</i>	35
2.3.5.1.2.4 <i>Annona glabra</i>	36
REFERÊNCIAS	37
3 Tratamento de rizóforos-semente de inhame infectados por <i>Scutellonema bradys</i> e <i>Pratylenchus coffeae</i> com manipueira e bionemático	53
RESUMO	53
ABSTRACT	54
3.1 INTRODUÇÃO	55

3.2 MATERIAL E MÉTODOS	56
3.2.1 Experimento 1.....	56
3.2.1.1 Local de execução do experimento.....	56
3.2.1.2 Obtenção de rizóforos-semente.....	56
3.2.1.3 Extração, identificação e determinação da população inicial de nematoides	57
3.2.1.4 Obtenção e determinação do teor de cianeto e análise físico-química da manipueira.....	57
3.2.1.5 Tratamento de rizóforos-semente com manipueira.....	58
3.2.2 Experimento 2.....	59
3.2.2.1 Local de execução do experimento.....	59
3.2.2.2 Obtenção de rizóforos-semente.....	59
3.2.2.3 Extração, identificação e determinação da população inicial de nematoides	59
3.2.2.4 Tratamento dos rizóforos-semente com Nematel [®]	59
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
3.3.1 Experimento 1.....	60
3.3.2 Experimento 2.....	64
3.4 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
4 Extratos aquosos de <i>Annona</i> spp. e <i>Croton heliotropiifolius</i> sobre <i>Scutellonema bradys</i> e prospecção química dos compostos	72
RESUMO	72
ABSTRACT	73
4.1 INTRODUÇÃO	74
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	75
4.2.1 Local do experimento.....	75
4.2.2 Local de coleta e processamento das partes das plantas utilizadas no experimento.....	75
4.2.3 Obtenção dos extratos aquosos.....	76
4.2.4 Obtenção dos juvenis e adultos de <i>Scutellonema bradys</i> para os testes <i>in vitro</i>	76
4.2.5 Ensaio <i>in vitro</i> para a avaliação da atividade nematicida de extratos aquosos sobre a imobilidade e mortalidade de <i>Scutellonema bradys</i>	76
4.2.6 Prospecção química dos extratos aquosos.....	78

4.2.6.1 Testes para fenóis, taninos pirogálicos e taninos flobatênicos.....	78
4.2.6.2 Teste para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flavanonóis.....	78
4.2.6.3 Teste para leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas.....	79
4.2.6.4 Testes para flavonois, flavanonas, flavanonóis e xantonas.....	80
4.2.6.5 Teste para esteroides, triterpenoides e saponinas.....	80
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
4.3.1 Testes <i>in vitro</i>	80
4.3.2 Prospecção química dos extratos aquosos.....	83
4.4 CONCLUSÕES.....	86
REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO GERAL

O inhame (*Dioscorea* spp.) é uma planta herbácea, trepadeira, de ciclo anual ou perene, produtora de tubérculos nutritivos, de alto valor energético e com percentagem baixa de gordura (ALVES; GROSSMANN, 2002). Seus rizóforos são ricos em carboidratos, principalmente amido, e fonte de vitaminas do complexo B, A e C, são estimulantes do apetite e excelente depurador do sangue (OLIVEIRA, 2012). Algumas das suas espécies possuem substâncias que são usadas na produção de contraceptivos oral e hormônios sexuais (BAIMEY, 2006). Devido a estas e a outras características, a cultura do inhame é considerada de importante valor socioeconômico e, por vários séculos tem seus rizóforos utilizados, sobretudo na alimentação de milhares de pessoas em todo mundo, o que torna a cultura uma atividade geradora de emprego e renda, com grande potencial para agroindustrialização (SANTOS et al., 2012).

O cultivo do inhame encontra-se distribuído em regiões tropicais (PEDRALLI, 2002), principalmente na Ásia, África, México, Caribe, e na América do Sul sendo o Brasil o maior produtor, com seus principais campos de cultivo localizados na região nordeste (IBGE, 2011) onde a cultura representa um agronegócio em expansão (SANTOS, 2002). O Estado de Alagoas, em particular, ocupa o quinto lugar na produção de inhame (IBGE, 2010), sendo que mais de 50% dos campos de produção estão localizados no Vale do Paraíba, representado por 8% do território alagoano, compreendido pelos municípios de Viçosa, Paulo Jacinto, Chã Preta, Quebrangulo, Pindoba, Atalaia e Mar Vermelho, correspondendo a uma área de 2.167 km² de terras produtivas (NOBRE, 2012).

Entretanto, apesar de ser inteiramente adaptado às condições edafo-climáticas dessas regiões, e de simples manejo, o inhame, tem seu cultivo constantemente afetado pela incidência e severidade de doenças bióticas e abióticas, fatores considerados limitantes à sua produção, que pode levar a uma redução da produtividade e do valor unitário dos rizóforos destinados ao comércio interno e à exportação (MOURA, 2016).

Em meio às doenças bióticas, encontra-se a casca-preta ou podridão-seca, considerada um grande problema fitossanitário para a cultura, por se tratar de uma doença de alta incidência e severidade, que influencia negativamente o valor comercial do produto. A doença é causada pelos nematoides *Scutellonema bradys* Steiner & Le Hew, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Stekhoven e *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Stekhoven (MOURA; MOURA, 1989; MOURA; MONTEIRO, 1995; SOARES et al., 2006).

Em Alagoas, a enfermidade é causada pela associação entre essas três espécies, e encontra-se amplamente distribuída nas principais áreas produtoras de inhame, com valores de incidência de até 85% (MUNIZ et al., 2012).

Uma vez presente em um campo de cultivo, a erradicação do patógeno é praticamente impossível. No entanto, quando presentes devem ser utilizados métodos de controle, visando à redução das populações a níveis toleráveis (CAMPOS et al., 1998).

O controle da casca-preta torna-se complexo, uma vez que na literatura brasileira pouco se sabe a respeito do controle de nematoides na cultura. Uma prática de manejo adotada para o controle da doença é baseada no uso de técnicas de exclusão, com a utilização de rizóforos-semente sadios, plantados em áreas livres de nematoides. Mas, devido à dificuldade em adquirir material de propagação sadio, torna-se uma prática inviável (MOURA, 2006).

Diante da carência de pesquisas visando o controle da casca-preta-do-inhame, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a potencialidade da manipueira e do bionematicida comercial (Nemathel[®]) no tratamento de rizóforos de inhame infectadas por *S. bradys* e *P. coffeae* em casa de vegetação; e ainda, avaliar a potencialidade nematicida de extratos aquosos de espécies de plantas, sobre *S. bradys* em ensaios *in vitro*, bem como verificar as classes de compostos secundários presentes nos extratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais sobre a cultura do inhame

O inhame pertence à classe das monocotiledôneas, à família Dioscoreaceae e ao gênero *Dioscorea* que compreende mais 600 espécies provenientes do continente Africano, Asiático ou Americano, destinadas à atividade agrícola (SANTOS, 1996). Dessas espécies, cerca de 150 a 200 ocorrem no Brasil, sendo apenas *D. cayennensis* Lam., *D. rotundata* Poir., *D. alata* L., *D. trifida* L. e *D. esculenta* (Lour.) Burk., utilizadas no consumo humano por produzirem tubérculos nutritivos (LEBOT, 2009). Outras espécies são utilizadas na obtenção de substâncias naturais, chamadas sapogeninas e esteroides, as quais são a base para a fabricação de anticoncepcionais orais, hormônios sexuais e cortisona, utilizadas como tratamento médico (MOURA, 2016).

A cultura do inhame apresenta desempenho satisfatório quando cultivada nas condições edafoclimáticas das regiões tropicais, desenvolvendo-se satisfatoriamente nos ecossistemas brasileiros, sobretudo, no Nordeste, região caracterizada pelo clima quente e seco, variando de solo fértil a pouco fértil, constituindo uma opção agrícola de grande potencial para ampliar o consumo no mercado interno e atender à demanda do mercado externo. Em geral, a cultura se desenvolve bem em regiões com precipitações pluviométricas em torno de 1300 mm anuais, em temperaturas de 24 a 30 °C e umidade relativa do ar variando de 60 a 90%. Seu cultivo deve ser realizado em solos com textura arenosa até os de textura argilosa-média, profundos e bem drenados, arejados e férteis, ricos em matéria orgânica, com pH de 5,5 a 6,5 (SANTOS et al., 2012).

A propagação da planta é feita de forma vegetativa, com rizóforos-semente cortados em pedaços de aproximadamente 200 g, plantados em camalhões com 0,50 m de altura e espaçamento de 1,20 m entre camalhões e 0,40 m entre plantas. A maioria dos produtores da região nordeste utiliza adubo orgânico na fertilização da cultura e sistema de tutoramento em varas para a condução das plantas (SANTOS, 1996).

Durante o seu ciclo, a planta produz dois tipos de rizóforos; os comerciais, colhidos entre sete a nove meses, ou precocemente, cinco a sete meses após o plantio, e a produção de rizóforos-semente, três meses após a retirada dos rizóforos comerciais (OLIVEIRA et al., 2011). Para a produção em larga escala, a espécie recomendada para a região nordeste é a *D. cayennensis* (inhame cv. Da Costa), sendo a espécie *D. alata* (inhame cv. São Tomé) cultivada em menor escala, mas nos últimos anos, a área plantada com esta cultivar vem

umentando, em função da indisponibilidade de sementes de boa qualidade de *D. cayennensis* e do seu alto preço no mercado (SANTOS et al. 2012).

Com relação à produção de rizóforos e raízes, a cultura do inhame é classificada, como a quarta mais importante do mundo, ficando atrás somente da cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e batata-doce (*Ipomoea batatas* L.). A produção mundial da cultura em 2013 foi de aproximadamente 63 milhões de toneladas de rizóforos, estando a Nigéria em primeiro lugar com uma produção de 40,5 milhões de toneladas, e o Brasil ocupando a décima segunda posição com uma produção de 245 mil toneladas (FAO, 2016). Dentre as regiões brasileiras, a Nordeste, destaca-se como a maior produtora, com 38,2 mil toneladas de tubérculos de inhame, sendo os estados da Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia e Maranhão os principais produtores desta região (BRITO et al., 2011). Alagoas apresenta área colhida de 1.979 hectares e uma produção de 21.227 t, com rendimento médio de 10.726 kg ha⁻¹ (IBGE, 2010).

Devida a sua variada utilização, a cultura do inhame vem crescendo e ganhando espaço com plena aceitação no mercado nordestino e internacional. Há ocorrência de plantios comerciais no Agreste e Sertão do Nordeste, sob regime de irrigação, com destino ao mercado europeu (SIQUEIRA, 2009). Para a agricultura familiar do Nordeste brasileiro é uma cultura de subsistência e de grande importância social e econômica, pois, trata-se de uma atividade que apresenta potencial significativo de desenvolvimento, contribui para alimentação, beneficiando dessa forma as populações carentes, além de ser fonte de renda para pequenos e médios produtores da região (SANTOS; MACÊDO, 2002).

2.2 Agentes etiológicos da casca-preta-do-inhame

Os fitonematoides são vermes microscópicos, parasitas obrigatórios de plantas que se alimentam de células vivas, principalmente de seus órgãos subterrâneos, bem como se adaptaram a parasitar órgãos aéreos como caules, folhas, frutos e sementes (AGRIOS, 2005). A maioria é habitante de solo que em determinadas densidades populacionais, causam diversas alterações nas plantas, muitas vezes com severas perdas na produtividade das culturas (SUASSUNA et al., 2008). São de difícil controle, facilmente disseminados, e parasitam praticamente todas as culturas de importância econômica (FABRE, 2011). Na cultura do inhame, esses patógenos chegam a ocasionar perdas, que em alguns casos, atingem até a 90% da produção, resultando em prejuízos econômicos para o produtor e elevação dos preços para o consumidor (GARRIDO et al., 2004).

A casca-preta-do-inhame é denominada na literatura inglesa de “dry rot of yams” por se tratar de podridão do tipo seca, e devido à coloração dos tecidos afetados. Aos quatro meses de desenvolvimento, os primeiros sintomas da doença são discretos e de difícil observação nos rizóforos comerciais. Nessa fase inicial são observados pequenos pontos de coloração amarela na parte interna, abaixo da cutícula; onde os fitonematoídeos, agentes causais da doença, se encontram em todos os estádios evolutivos, não havendo ainda necrose de tecidos (MOURA, 2006).

A importância da casca-preta é agravada pela constante disseminação do patógeno no Nordeste brasileiro, através da comercialização de rizóforos-semente contaminados, pela baixa resistência dos rizóforos infectados ao transporte e armazenamento e, sobretudo pelas dificuldades inerentes ao controle (MOURA, 2006). Os altos índices populacionais do parasita no solo, que se formam a cada três anos consecutivos de cultivo numa mesma área, obrigam os agricultores a mudarem os locais de plantio, pois penetrando também nas raízes de alimentação, o nematoídeo induz significativas reduções no peso dos rizóforos (MOURA, 2016).

A casca-preta foi diagnosticada pela primeira vez na Jamaica, quando Steiner (1931) identificou como agente causal da doença, o nematoídeo *Hoplolaimus* sp. Posteriormente, Steiner; LeHew (1933) descreveram *H. bradys* como agente causal. E por fim, Andrassy (1958) transferiu a espécie *H. bradys* para o gênero *Scutellonema* que já havia sido identificado na Nigéria por West (1934) *apud* Acosta; Ayala (1975) que descreveu os sintomas e denominou a doença de podridão-seca.

No Brasil, a casca-preta foi observada pela primeira vez, em material coletado no Estado de Pernambuco. Nesse mesmo período foi descrita uma nova espécie de nematoídeo como agente etiológico da doença, a espécie *S. dioscoreae* (LORDELLO, 1959). Os autores Moura; Teixeira (1980) atribuíram a causa da doença ao conhecido “nematoídeo do inhame”, *S. bradys*, por não encontrarem populações de *S. dioscoreae*, espécie identificada anteriormente por Lordello em 1959.

Por muito tempo, a casca-preta foi atribuída a um único fitonematoídeo, *S. bradys*. Até que, uma nova espécie foi constatada pela primeira vez em rizóforos de inhame, procedentes do Estado da Paraíba. A espécie *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & S. Stekhoven, 1941, foi observada causando sintomas leves, porém semelhantes aos da casca-preta causada por *S. bradys* (MOURA; MOURA, 1989). Em 1995, *P. coffeae* foi registrado provocando sintomas severos da enfermidade (MOURA; MONTEIRO, 1995).

Acosta; Ayala (1975), afirmam que na África, a ocorrência desses dois nematoides causando a mesma doença é fato comum. Como comprovado por Moura; Pedregosa; Guimarães (2001), na região Nordeste do Brasil, ocorrem essas duas espécies, com predominância de *P. coffeae*. Fato que também já foi confirmado por Muniz (2012) no Estado de Alagoas.

2.2.1 *Scutellonema bradys* (nematóide do inhame)

O nematóide *Scutellonema bradys* é endoparasita migrador, pertence à classe Chromadorea, subclasse Secernentea, ordem Tylenchida, subordem Tylenchina, superfamília Tylenchoidea e família Hoplolaimidae. Oriundo da África Ocidental, este nematóide se espalhou para outras áreas do inhame crescente na América do Sul e Caribe (FERRAZ; BROWN, 2002).

O gênero *Scutellonema* é caracterizado pela presença de escutelos ou fasmídeos alargados, os quais são opostos e situados próximo ao ânus, e pela sobreposição dorsal e ventral do intestino pelo esôfago (GERMANI et al., 1985). É um nematóide de formato vermiforme, apresenta estilete robusto e bem desenvolvido. Segundo Moura; Teixeira (1980) existe um dimorfismo sexual em *S. bradys* com relação ao formato do disco labial, as fêmeas apresentaram essa estrutura com o formato oval, enquanto que nos machos, o formato é quadrado ou ligeiramente hexagonal. Em relação ao seu tamanho, os machos medem aproximadamente 0,9 mm de comprimento, enquanto as fêmeas chegam a medir 1,2 mm. Elas apresentam ainda, cauda arredondada e vulva no meio do corpo (KWOSEH; PLOWRIGHT; BRIDGE, 2002).

O ciclo biológico do *S. bradys* é tipicamente, constituído por ovo, quatro estádios juvenis e a forma adulta (FERRAZ, 1995). Reproduzem-se por anfimixia, deste modo, com presença de machos nas populações. Seu ciclo de vida é concluído em 21 dias e, em condições favoráveis, pode chegar a aumentar a sua população de forma acentuada (KWOSEH; PLOWRIGHT; BRIDGE, 2002). Adesiyan (1977) afirma que a população de *S. bradys* aumenta de 5 a 8 vezes em túberas de *D. cayenensis* durante o seu período de armazenamento, uma vez que os nematoides continuam se alimentando e se reproduzindo. A partir desse momento, os fitonematoides invadem rapidamente os tecidos e as manchas amareladas se tornam marrons e progride para uma necrose superficial de cor negra, que se aprofunda de 2 a 3 cm ao longo da circunferência periférica do tubérculo (KWOSEH; PLOWRIGHT; BRIDGE, 2002).

O estágio de sobrevivência de *S. bradys* não é conhecido, porém, suas populações se mantêm mesmo na ausência de inhame, possivelmente em outras plantas hospedeiras (BRIDGE; COYNE; KWOSEH, 2005). Ferraz (1995) afirma que a infecção pode ter início a partir de exemplares que possam estar presentes no solo, no entanto, a disseminação mais comum acontece por meio de material propagativo infestado com o fitonematoide.

2.2.2 *Pratylenchus* spp. (Nematoides-das-lesões-radiculares)

O nematoide *Pratylenchus* spp. é um endoparasita migrador, pertence à classe Chromadorea, subclasse Secernentea, ordem Tylenchida, subordem Tylenchina, superfamília Tylenchoidea, família Pratylenchidae, gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (FERRAZ; BROWN, 2002).

O gênero *Pratylenchus* é considerado o segundo grupo de fitonematoide mais importante para a agricultura mundial, conhecido por possuir diversas espécies, de ampla distribuição geográfica, capazes de causarem perdas de importância econômica nas culturas, tanto em países de clima tropical como temperado (CASTILLO; VOVLAS, 2007). As espécies consideradas de maior importância econômica para a agricultura são *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. penetrans* (Cobb) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, *P. scribneri* Steiner in Sherbakoff & Stanley, *P. vulnus* Allen & Jensen e *P. zae* Graham (SASSER; FRECKEMAN, 1987).

No Brasil, *Pratylenchus* também é considerado o segundo gênero em agrupar as espécies de maior importância para a agricultura, perdendo lugar apenas para o gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, conhecido como nematoides causadores de galhas (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

Para a cultura do inhame apenas as espécies *P. brachyurus* e *P. coffeae* são consideradas de importância. Essas duas espécies se alimentam e se multiplicam do córtex das raízes causando necroses, principalmente nas radículas, diminuindo a absorção e o transporte de água e nutrientes, com consequente redução no desenvolvimento e produtividade da cultura (ABAWI; CHEN, 1998), sintomas similares são causados por *S. bradys*.

De acordo com Acosta; Ayala (1975) uma população de 600 espécimes de *P. coffeae* por planta pode causar danos significativos, como necroses e rachaduras profundas no rizóforo; enquanto que uma população composta por 1.000 nematoides dessa mesma espécie pode causar deterioração completa e redução na qualidade comercial dos rizóforos. Ao serem conservadas entre as temperaturas de 12 a 13 °C, o número de espécimes nos rizóforos

permanece baixo, pois, nestas temperaturas ocorre inibição da reprodução e das demais funções fisiológicas do patógeno (THOMPSON; BEEM; PERKINS, 1973).

O ciclo de vida dos nematoides-das-lesões-radiculares ocorre entre quatro e seis semanas sob condições favoráveis. Sua reprodução pode ser por anfimixia, como ocorre para *P. coffeae* ou partenogenética, em espécies sem presença de machos, conforme observado em *P. brachyurus* (FERRAZ; BROWN, 2002).

Para diagnosticar e distinguir as espécies do gênero *Pratylenchus* são observadas a presença ou ausência de machos, características morfológicas como forma dos nódulos do estilete, forma da espermateca e forma do término da cauda, e características morfométricas como tamanho do corpo, número de anéis labiais, tamanho do estilete e posição da vulva (CASTILLO; VOVLAS, 2007).

As espécies de *Pratylenchus* podem sobreviver, no campo, tanto na cultura do inhame, como em outras plantas hospedeiras. São disseminadas principalmente, por meio de material de propagação; como também através de solo infestado aderido em máquinas agrícolas, ferramentas, calçados e em patas de animais (BRIDGE; COYNE; KWOSEH, 2005). Asmus (2007) afirma que é possível encontrar, em média 1.210 nematoides por 100 ml de solo nos implementos agrícolas, como grades, arados e discos. Nos pneus podem ser encontrados de 26 a 633 nematoides por 100 ml de solo. Isso evidencia a importância da limpeza dos implementos de uma área para outra.

2.3 Medidas de controle

As medidas de controle têm como objetivo reduzir a população de nematoides a níveis abaixo do limiar de dano econômico. Porém, o manejo de fitonematoides não é tarefa fácil, principalmente pelas limitações apresentadas pela maioria dos métodos (NEVES et al., 2008). Outra grande barreira é a dificuldade de se ter uma única medida de controle que seja totalmente eficiente na redução de populações de nematoides.

De modo geral, a primeira medida que deve ser tomada para controle de fitonematoides, é a prevenção de sua entrada em áreas de cultivos ainda não infestadas, evitando assim, sua disseminação. Moura (2005) afirma que esta medida preventiva está se tornando cada vez mais difícil devido à dificuldade de se obter material de propagação sadio. Além disso, Almeida (2009) relata que o plantio consecutivo de outras plantas hospedeiras é uma prática comum entre os produtores de inhame e que essa atitude favorece a permanência dos nematoides na área de cultivo.

Os métodos químico e físico são estratégias de manejo que visam amenizar os danos provocados pelos nematoides do inhame, *S. bradys* e *Pratylenchus* sp., no entanto, esses métodos apresenta algumas restrições quanto a sua aplicação. Os nematicidas fumigantes e sistêmicos não são indicados para a cultura do inhame no Brasil por motivos toxicológicos e econômicos; enquanto que o controle físico, como o tratamento hidrotérmico dos rizóforos-semente, não apresentam praticidade para os pequenos produtores (GARRIDO, 2005; MOURA, 2016).

Outros métodos de controle como o cultural (com plantas antagônicas), o uso de extratos vegetais e de matéria orgânica de origem animal ou vegetal, têm se mostrado eficazes na redução da população de nematoides em inhame (BABATOLA; OYEDUNMADE, 1992; AKHTAR; MAHMOOD, 1997; WIDMER; MITKOWSKI; ABAWI, 2002; WANG et al., 2002).

2.3.1 Controle químico

No Brasil, existe pelo menos uma lista de 26 nematicidas registrados pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento, porém, não existem produtos certificados para o cultivo do inhame (AGROFIT, 2016). Apesar dessa realidade, e do seu uso ser considerado prejudicial ao meio ambiente e oneroso para a cultura do inhame; alguns produtos químicos que geralmente são usados visando o controle de fitonematoides em outras culturas têm sido testados na cultura do inhame, visando o controle dos nematoides causadores da casca-preta. Contudo poucos desses produtos têm se mostrado eficientes.

Moura et al. (2005) observaram a ineficiência do Carbofurano ao avaliar o seu efeito no tratamento do solo sobre a produção de rizóforos comerciais e sementes de inhame-da-Costa e sobre as densidades populacionais de fitonematoides associados à cultura. Foi observado que não houve efeito positivo do nematicida na produção qualitativa e quantitativa dos rizóforos comerciais e sementes, como também não foi constatado efeito nematicida.

Em pesquisas executadas em outros países, a utilização de nematicidas na cultura do inhame mostrou eficiência dos produtos testados. Como comprovado pelos autores Badra; Caveness (1979) que observaram um aumento expressivo no rendimento da cultura do inhame, ao tratar rizóforos de *D. alata* infectados com *S. bradys* em soluções aquosas contendo 1.000 ppm de ingrediente ativo dos nematicidas dicloropropeno-dicloropropano, carbofurano e oxamyl, por um período de 30 minutos.

Adesiyan; Badra (1982) ao aplicarem os nematicidas miral, carbofurano, aldicarb e oxamyl, na dosagem de 2 kg i.a. ha⁻¹, como tratamento em pós-plantio, verificaram redução na população de *S. bradys* no solo e aumento expressivo no rendimento da cultura.

Hutton (1998) ao testar hipoclorito de sódio (1.250 ppm) e etanol a 10%, em *D. cayenensis*, confirmou que o hipoclorito de sódio foi mais eficiente em reduzir o desenvolvimento da podridão-seca ocasionada por *P. coffeae*.

2.3.2 Método físico

2.3.2.1 Tratamento térmico

O tratamento térmico é um método que consiste em combinar tempo e temperatura que sejam letais aos fitonematoides. Apesar de os resultados mostrarem alguma eficiência, são poucos os trabalhos desenvolvidos utilizando o tratamento hidrotérmico de rizóforosamente infectados pelos nematoides da casca-preta-do-inhame. Segundo Moura; Coelho; Pio Ribeiro (1978), esse método alternativo é pouco utilizado por apresentar restrições. Os altos custos dos equipamentos e a dificuldade em manter constante a temperatura são os fatores que limitam o emprego da técnica em larga escala pelos agricultores (BRIDGE; COYNE; KWOSEH, 2005).

Adesiyan; Adeniji (1976), afirmam que a partir do tratamento com água quente (50°C por 40 minutos), foi possível eliminar populações de *S. bradys* de rizóforos de *D. cayenensis*. Em outra pesquisa, Adeniji (1977) averiguou que o tratamento em temperaturas que variaram de 50 a 55°C por 40 minutos suprimiu *S. bradys* de rizóforos de *D. alata*.

Coates-Beckford; Brathwait (1977) também verificaram que as populações de *P. coffeae* foram significativamente reduzidas dos rizóforos de *D. rotundata*, quando o tratamento foi efetuado em água quente a 51°C por 30 minutos.

2.3.3 Métodos Culturais

De maneira geral os métodos culturais visam diminuir o estresse nas plantas, ao adotar as estratégias como rotação de culturas, adubação ou fertirrigação, inundação, plantas antagonicas e matéria orgânica. Tais métodos favorecem o manejo integrado de pragas e doenças, pois evitam a elevação da população dos patógenos por meio da manutenção do vigor das plantas (RITZINGER; FANCELLI, 2006). Dentre essas estratégias de manejo,

apenas a rotação ou sucessão de culturas, adubação mineral, uso de plantas antagônicas e matéria orgânica tem sido aplicada na cultura do inhame para o controle de *S. bradys* e *P. coffeae* (SANTANA et al., 2003; SILVA et al., 2014; MORAIS et al., 2016).

2.3.3.1 Rotação e sucessão de culturas

Método de manejo mais antigo e mais difundido na atualidade, a rotação de culturas é considerada pela maioria dos produtores como um processo acessível que visa diminuir o nível populacional dos nematoides com o cultivo de plantas não hospedeiras em áreas infestadas por fitonematoides sem agredir o meio ambiente, sendo recomendado para o manejo do patógeno em culturas anuais ou perenes de ciclo curto (HALBRENDT; LAMONDIA, 2004).

O primeiro passo para o planejamento adequado do sistema de rotação de culturas é a identificação correta das espécies de nematoides na área de cultivo. A escolha das plantas a serem adotadas na rotação dependerá do resultado do levantamento nematológico da área, visto que uma mesma planta pode apresentar comportamento diferenciado diante de espécies ou raças distintas de nematoides (HALBRENDT; LAMONDIA, 2004).

Plantios alternados de culturas hospedeiras e não hospedeiras em áreas infestada por nematoides tornam sua ocupação racional e econômica, sendo assim possível reduzir a densidade populacional do nematoide abaixo do nível de danos na cultura comercial de maior valor. Até mesmo para espécies de nematoides que possuem ampla gama de hospedeiros, como o gênero *Pratylenchus* existem plantas altamente desfavoráveis, que podem ser usadas em rotações como plantas não hospedeiras (FREITAS; OLIVEIRA; FERRAZ, 2001).

Na Nigéria, Adesiyan (1976) desenvolveu em casa de vegetação um estudo com diferentes plantas hospedeiras quanto à suscetibilidade a *S. bradys*. Foi observado pelo autor que apenas o milho (*Zea mays* L.) não se comportou como planta hospedeira desse nematoide.

No Brasil, Carmo (2009) estudou a hospedabilidade de 48 espécies de plantas a *S. bradys*, em casa de vegetação. Dentre as espécies estudadas apenas 12 foram infectadas por este nematoide. O caupi (*Vigna unguiculata* L.) Walp, a batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) e *Crotalaria juncea* L. foram consideradas como más hospedeiras de *S. bradys*. A mandioca e o milho se comportaram como não hospedeiras do referido nematoide o que indica a possibilidade de adoção destas culturas na rotação de culturas.

Em uma pesquisa de rotação de cultura em áreas de inhame-da-Costa, utilizando-se cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) e *C. juncea* foi observado que estas espécies vegetais são más

hospedeiras de *P. coffeae*, podendo ser utilizadas para controle da casca-preta (SANTANA et al., 2003).

Em condição de campo, Garrido et al. (2008) testaram a hospedabilidade das cultivares de mandioca ‘Cigana’ e ‘Talo Roxo’ ao nematoide *S. bradys*. Constataram que essas plantas não são hospedeiras e, que possivelmente, a hospedabilidade da mandioca a *S. bradys* depende da cultivar avaliada.

Dentre as espécies vegetais testadas por Silva et al. (2014) em esquema de sucessão de cultivos, mandioca *C. spectabilis* Roth, batata-doce, capim-braquiária (*Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick.) e capim-de-corte (*Pennisetum purpureum* Schum) não propiciaram a multiplicação de *P. coffeae* e *S. bradys*, apresentando $FR < 1$, para ambas as espécies. Porém, no segundo ano, com o plantio do inhame em toda a área experimental, apenas nos tratamentos constituídos pelo plantio prévio de *C. juncea*, *C. spectabilis*, *C. ochroleuca* G. Don, fava (*Phaseolus lunatus* L.) e mandioca, foram registrados os menores valores de incidência da doença, refletindo no aumento significativo da produção de rizóforos saudáveis.

2.3.3.2 Materiais orgânicos e adubação mineral

A adição de matéria orgânica de origem animal ou vegetal ao solo tem como finalidade promover o crescimento de micro-organismos antagonistas e predadores que venham a contribuir para a redução das populações de fitonematoides (AKHTAR; MAHMOOD, 1997; WIDMER; MITKOWSKI; ABAWI, 2002). Além de servirem de fonte de nutrientes, promovem o aumento da capacidade de armazenamento de água no solo, melhorando assim o crescimento das plantas (BRIDGE, 1996).

A matéria orgânica afeta populações de fitonematoides através de vários mecanismos de ação. Dentre eles são listados a liberação de compostos nematicidas pré-existentes nos materiais orgânicos; a produção de compostos nematicidas, como amônia e ácido acético, propiônico e butírico; a introdução de micro-organismos antagonistas; o aumento da tolerância ou resistência das plantas ao ataque de patógenos e as alterações nas propriedades físicas do solo (OKA, 2010).

Segundo Ferraz et al. (2010) as principais fontes de matéria orgânica utilizadas no manejo de nematoides são: torta de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.), nim (*Azadirachta indica* A. Juss), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), mostarda (*Sinapis* spp.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), soja (*Glycine max* L.), linho (*Linum usitatissimum* L.), dentre outras; biomassa vegetal de mucuna (*Mucuna* spp.), repolho (*Brassica oleracea* L.),

folhas de nim, alfafa (*Medicago sativa* L.), crotalária e outros; resíduos agroindustriais da industrialização de chá (*Camellia sinensis* L.), algodão, mandioca, torta de cana-de-açúcar, palha de café (*Coffea arabica* L.) e de arroz (*Oryza sativa* L.), casca de amendoim, celulose e pó de serra; resíduos animais (esterco de frango e bovino, rejeitos da limpeza de peixes, farinha de ossos e quitina); lixo urbano (detritos e resíduos do tratamento de esgotos). Contudo, são limitadas as informações sobre o uso de materiais orgânicos no manejo de fitonematoides que afetam a cultura do inhame (SANTOS et al., 2009 a; OSEI et al., 2013).

A aplicação de fertilizantes é outra prática indicada. Na Nigéria, verificou-se que adubações bem equilibradas de N, P e K contribuíram significativamente para a redução no número de nematoides nos rizóforos de *D. alata*. Entretanto, o uso de nitrogênio isoladamente conduziu ao aumento na população de nematoides e de túberas infectadas em *D. rotundata* (ADESIYAN; ADENIJI, 1976).

2.3.3.2.1 Resíduos animais e vegetais

Na Nigéria, Adesiyani; Adeniji (1976) utilizaram esterco de gado antes do plantio de inhame, na dosagem de 1.886 kg/ha, e observaram uma redução significativa na população de *S. bradys*, como também um aumento na produção dos rizóforos.

No nordeste do Brasil, Santos et al. (2009 a), observaram que a incidência da casca-preta foi de 36,35% quando fizeram aplicação do esterco bovino no primeiro ano de cultivo na cultura do inhame. Em outro estudo, Santos et al. (2010) avaliaram a incidência de pragas e doenças no cultivo de *D. alata* adubado com duas fontes de matéria orgânica (esterco bovino e compostagem). Os autores concluíram que ambos os tratamentos ocasionaram uma baixa incidência da casca-preta causada por nematoide *S. bradys*. Segundo Dias et al., 1999; Dias; Ferraz (2001) a eficácia na supressão desses nematoides, provavelmente é devido ao ácido húmico e à matéria húmica presentes no esterco bovino e no esterco de galinha, que são liberados durante sua incorporação na área de cultivo. Por outro lado, Morais (2014) constatou que a incorporação ao solo dos materiais orgânicos (esterco bovino, torta de mamona e pó de coco) no momento do plantio do inhame, não reduziu a incidência da casca-preta. Entretanto o esterco de galinha promoveu redução da população de *P. coffeae* nos rizóforos avaliados.

2.3.3.2.2 Resíduo agroindustrial: manipueira

A manipueira é um resíduo líquido de odor forte e ácido, de aspecto leitoso e de coloração amarelada, obtido durante a prensagem das raízes da mandioca ralada para a produção de fécula ou farinha (PONTE, 2001). Durante esse processamento é gerado um grande volume de resíduo líquido, que chega a uma média de 300 litros de manipueira por tonelada extraída das raízes para a produção de farinha, e mais de 600 litros para a produção de fécula (FIORETTO; SANTOS; BICUDO, 1997).

Segundo Camilli (2007) esse resíduo é geralmente descartado diretamente nos corpos hídricos e/ou no próprio ambiente ao redor da indústria ou casa de farinha onde são produzidos. E quando seu descarte é realizado sem nenhum tratamento prévio, pode trazer graves danos ambientais, devido a dois tipos de impactos: alteração da capacidade de autodepuração, devido à elevada carga orgânica; e à eutrofização do meio, pelo excesso de nutrientes (SANTOS, 2008).

A composição química da manipueira é muito variável e depende de fatores como: variedade de mandioca, processo adotado pela indústria, condições edafoclimáticas do local, e da época do ano que foi cultivada (FIORETTO, 2001). No geral, ela é composta por goma (5 a 7%), glicose e outros açúcares, proteínas, células descamadas, teores variados de macro e micronutrientes e glicosídeos cianogênicos (FIORETTO, 1994).

Os glicosídeos cianogênicos são substâncias de defesa encontradas em alguns vegetais, capazes de liberar ácido cianídrico (HCN) através de reações de hidrólise. São exemplos de glicosídeos: a lotaustralina, o β -glicosídeo de acetonacianidrina, o β -glicosídeo de etil-metil-cetona cianidrina e a linamarina, sendo a mais abundante (92 a 98%). Algumas plantas têm a capacidade de sintetizar compostos que liberam ácido cianídrico quando o tecido vegetal é danificado. Na mandioca os glicosídeos cianogênicos encontram-se localizado no interior das células de suas raízes e durante a trituração ocorre a reação de hidrólise e liberação do gás cianeto (CN) e do HCN, tóxico às mais variadas formas de vida, incluindo os nematoides (FIORETTO, 2001; PONTE, 2001).

O cianeto é considerado uma das substâncias mais letais já descobertas. Essa substância atua nas células nervosas individualmente ou reagindo com a hemoglobina dos glóbulos vermelhos e formando a cianohemoblobina, a qual paralisa a cadeia respiratória do indivíduo. Já o ácido cianídrico interfere nas atividades enzimáticas em geral (FIORETTO; BRINHOLI, 1985).

Fioretto (2001) afirma que a quantidade de $0,025 \text{ mg L}^{-1}$ de cianeto é tóxica para peixes e que o limite de CN^- estabelecido em água para consumo humano é de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. No entanto, já foram encontrados teores de 27 a 42 mg L^{-1} de CN^- , em manipueira de fecularias (PONTE, 2001).

Ao mesmo tempo em que a manipueira é considerada um grande agente poluidor, é vista também como uma oportunidade para controle de diversos patógenos, devido ao seu grande potencial de aproveitamento (SANTOS, 2008), podendo apresentar ação nematicida, fungicida, inseticida e herbicida, pela presença de cianeto (PONTE 1981; 1999), como também, na fertirrigação de solos agrícolas em substituição parcial ou total à adubação mineral, assegurada pelos macro e micronutrientes presentes em sua constituição (VIEITES; BRINHOLI, 1994). Como fertilizante, contribui no aumento dos níveis de N e K no solo (PONTE, 1999). Kiehl (1985) acrescenta ainda, que se trata de um bom fertilizante denominado de “organo-mineral líquido”, pois as finas partículas de matéria orgânica presentes na manipueira podem ser facilmente biodegradadas no solo liberando apreciáveis quantidades de nutrientes.

A ação da manipueira como nematicida foi constatada em 1979, a partir de testes realizados em casa de vegetação e envolvendo nematoides do gênero *Meloidogyne* (PONTE; TORRES; FRANCO, 1979). Desde então, a manipueira vem sendo utilizada em pesquisas envolvendo o controle de fitonematoides, apresentando bons resultados.

Ponte et al. (1995) utilizaram cinco dosagens de manipueira, em condições de campo, no tratamento do solo infestado por *Meloidogyne* spp. Foi observado que todos os tratamentos apresentaram ação nematicida reduzindo o ataque dos nematoides às plantas de quiabo.

Alves et al. (2006) obtiveram 100% de controle de *S. bradys in vitro*, com manipueira diluída até 20% de concentração. Resultado similar foi comprovado por Santos (2013) ao estudar o efeito nematostático e nematicida do referido produto sobre a mesma espécie de nematoide, sendo constatado igual índice de mortalidade nas diluições de 20 e 40%. Em outro estudo Carmo (2009) avaliou o efeito da manipueira na população final *S. bradys* em rizóforos de inhame, e constatou que os tratamentos com a manipueira pura por um período de imersão de 21 e 24h, causaram 100% de mortalidade dos nematoides. Apesar da eficiência comprovada foi observado efeito fitotóxico da manipueira sobre as plantas após o cultivo, tanto em casa de vegetação como em sementeira.

2.3.4 Controle biológico

O controle biológico é a redução da população de determinado patógeno por outro organismo vivo, geralmente um micro-organismo, por meio de parasitismo, predação, competição ou antibiose (VENZON; PAULA JÚNIOR; PALLINI, 2005).

Mais de 200 diferentes organismos são considerados inimigos naturais dos fitonematoides, que têm sido encontrados predando-os ou parasitando-os. Alguns são fungos, bactérias, nematoides predadores, ácaros, entre outros (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996), sendo os principais agentes de controle biológico de nematoides os fungos e bactérias, com destaque para as bactérias colonizadoras da rizosfera, denominadas rizobactérias.

As rizobactérias têm se apresentado eficientes como agentes no controle biológico de fitopatógenos (KLOEPPER, 1999). São definidas como aquelas que vivem livremente no solo, capazes de colonizar as raízes na presença da microflora natural (SCHROTH; HANCOCK, 1982).

Os gêneros mais comuns de rizobactérias que atuam no controle de nematoides são *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Streptomyces* e entre os gêneros de nematoides alvos das rizobactérias, encontram-se *Belonolaimus*, *Caenorhabditis*, *Criconemella*, *Globodera*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Panagrellus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus* e *Tylenchorhynchus* (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1999).

Segundo Devrajan; Rajendran (2001), as bactérias possuem capacidade parasita de nematoides muito eficientes a ponto de reduzirem significativamente o nível populacional tanto quanto os nematicidas, por esse motivo é considerada uma das categorias de micro-organismos com maior potencial de controle de fitonematoides.

2.3.4.1 Utilização de *Bacillus subtilis* no controle de nematoides

A espécie *Bacillus subtilis* pertence ao grupo de bactérias gram-positivas, cuja característica é a produção de endósporos resistentes ao calor (NORONHA; MICHEREFF; MARIANO, 1995). O solo é o seu maior reservatório (MELO; AZEVEDO, 2000). Essa espécie de *Bacillus* tem sido utilizada tanto para o controle de patógenos foliares quanto de solo.

Diversos são os modos de ação das rizobactérias sobre os fitonematoides. A ação pode ocorrer tanto de forma direta atuando sobre a redução da eclosão dos juvenis, mobilidade do

nematoide, produção de toxinas, e na alteração dos exsudados radiculares da planta; como de forma indireta atuando na indução de resistência sistêmica e pela modificação dos exsudados radiculares, cujos compostos possuem efeito sobre o estímulo, atração, penetração, eclosão e comportamento dos nematoides, dificultando assim a localização das raízes por parte dos mesmos (SIKORA; HOFFMANN-HERGARTEN, 1992).

Trabalhos com algumas espécies de *Bacillus* têm sido realizados visando o controle de fitonematoides em diferentes culturas. Araújo; Silva; Araújo (2002) ao estudar a influência de *B. subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* Ichinohe em soja chegaram às seguintes conclusões: a presença de *B. subtilis* reduziu a eclosão de juvenis de *H. glycines* estimulados com exsudados de sementes de soja; o tratamento das raízes com a bactéria inibiu a migração de juvenis do nematoide para a planta e reduziu o número de fêmeas na raiz. Os autores ressaltaram ainda que *H. glycines* apresenta dependência de estímulo de exsudatos vegetais para eclosão e orientação dos juvenis, podendo-se afirmar que *B. subtilis* interfere nesse estímulo, prejudicando o desenvolvimento do ciclo do nematoide.

Araújo; Marchesi (2009) estudaram o efeito de *B. subtilis* (PRBS-1) como promotor de crescimento e agente de supressão de *Meloidogyne* spp. no cultivo do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), sob condições de casa de vegetação e comprovaram que o efeito do tratamento biológico sobre a reprodução do nematoide foi mais evidente na redução de massas de ovos na raiz, indicando que a estirpe PRBS-1 promoveu o crescimento do tomateiro e reduziu a reprodução do nematoide.

Resultado diferente foi encontrado por Vaz et al. (2011) quando realizaram a microbiolização das sementes de tomateiros com *B. subtilis*, para controle de *M. javanica* (Treb) Chitwood e *M. incognita*. A microbiolização com a bactéria não reduziu o número de galhas ou de ovos, assim como não influenciou no peso da parte aérea das plantas quando comparado com as testemunhas.

2.3.5 Extratos vegetais

As plantas são fontes de mais de 100.000 substâncias naturais de baixo peso molecular denominadas de metabólitos secundários (COELHO; DE PAULA; ESPÍNDOLA, 2006). Estes são pequenas moléculas orgânicas que interagem diretamente com proteínas e outras macromoléculas (TAIZ; ZIEGER, 2002), e podem atuar como substratos, inibidores ou ativadores alostéricos de uma enzima.

Os metabólitos secundários são sintetizados pelas plantas para desempenharem atividade de atração de polinizadores, adaptação ambiental e fitoproteção, inclusive contra fitonematoides (FERRAZ et al., 2010). Os três grupos mais importantes são os terpenos, os compostos fenólicos e os alcaloides (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). Com efeito nematostático são citados os alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos, glicosídeos cianogênicos, terpenoides, compostos fenólicos e outros.

De acordo com a definição estabelecida pela Anvisa (2009), os extratos vegetais são preparações de consistência líquida, sólida ou intermediária, e podem ser obtidos por percolação, maceração ou outro método adequado e validado, utilizando frequentemente como solvente, o etanol ou a água.

Porém, como qualquer medida de controle, os extratos de plantas apresentam vantagens e desvantagens quanto ao seu emprego. A principal vantagem deve-se à possibilidade de gerar novos compostos quando comparados aos produtos sintéticos, nos quais os patógenos não se tornaram capazes de inativar; apresentam-se menos tóxicos, pelo fato de serem degradados rapidamente pelo ambiente; possuem um amplo modo de ação (FERRAZ; LOPES; AMORA, 2008). Como desvantagens são apresentadas algumas limitações, como a falta de controle de qualidade; baixa estabilidade dos compostos orgânicos presentes nas soluções e o não monitoramento de possíveis substâncias tóxicas presentes nas plantas. Outras limitações são a rápida degradação (por luz e/ou calor); o período curto de viabilidade; a disponibilidade de matéria prima; técnicas de extração e aplicação dos produtos e a falta de regulamentação que estabeleça a sua utilização (POTENZA, 2004).

Contudo, os extratos vegetais apresentam-se como uma alternativa de manejo de pragas e patógenos, que quando associados a outras práticas, pode vir a contribuir para a redução de doses e aplicações de produtos químicos sintéticos (MACHADO; SILVA; OLIVEIRA, 2007). Segundo Gardiano (2009), extrato de plantas com características nematicidas no controle de fitonematoides é considerado mais uma alternativa para pequenos agricultores, podendo ser prático e econômico e sem riscos de contaminação do meio ambiente.

O emprego de extratos aquosos de distintas espécies de plantas tem estimulado pesquisadores de várias partes do mundo e apresentado bons resultados em estudos para o controle de fitonematoides (LOPES et al., 2005, NEVES et al., 2005; CRISTOBÁL-ALEJO et al., 2006). Muitas dessas pesquisas se iniciam com plantas ou combinações delas que já se tenha um conhecimento sobre o seu efeito contra outras doenças e patógenos de plantas (CHITWOOD, 2002). Dentre as espécies com propriedades nematicidas mais estudadas para

a obtenção de extratos e/ou para a extração de óleos destacam-se: *Mucuna prurienses* (L.) D.C. (mucuna preta); *Tagetes* spp. (cravo-de-defunto); *Crotalaria* spp. (sendo *C. juncea* a mais estudada); nim; várias gramíneas; mamona e brássicas (FERRAZ et al., 2010).

Os trabalhos visando o controle da casca-preta com a utilização de extratos vegetais são escassos. Coimbra et al. (2006) avaliaram o efeito nematostático e nematicida de extratos aquosos de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), folhas de mandioca, folhas e sementes de mamão (*Carica papaya* L.), folhas de hortelã (*Mentha piperita* L.) e casca de gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) contra *S. bradys*. Os autores verificaram que as maiores porcentagens de mortalidade do nematoide foram causadas pelos extratos de sementes e folhas do mamoeiro e pelos bulbilhos de alho.

Em outro estudo, Oluwatayo; Asiedu; Adesiyani (2011) investigaram a eficácia dos extratos de nim, taioba (*Colocasia antiquorum* Schott.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e milho, quanto a sua ação tóxica ao nematoide do inhame, *S. bradys*. Os melhores resultados observados foram nas doses de 50.000, 37.500, 25.000 e 12.500 ppm para os respectivos extratos de nim, taioba, gengibre e milho, causando 100% de mortalidade de *S. bradys*.

2.3.5.1 Descrição botânica e aspecto fitoquímico das espécies vegetais

2.3.5.1.1 Gênero *Croton* L.

O gênero *Croton* é considerado o segundo maior e mais diverso da família Euphorbiaceae, possui cerca de 1.200 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, sendo a maioria dos seus representantes de ocorrência nas Américas. O Brasil agrupa o maior número de espécies, cerca de 350 (LIMA; PIRANI, 2008), muitas delas bastante exploradas devido ao seu potencial biológico e/ou fitoterápico.

Estudos fitoquímicos realizados por Torres (2008) com algumas espécies brasileiras, detectaram mais de 109 compostos, pertencentes às mais diversas classes estruturais tais como diterpenos (35,6%), alcaloides (24,8%) flavonoides (12,8%) e triterpenos (11%), caracterizados para alívio de dores. Outras atividades farmacológicas como antiinflamatória, antiulcerogênica, analgésica e anti-hipertensiva, também são atribuídas às espécies do gênero *Croton* (RANDAU, 2001).

2.3.5.1.1.1 *Croton heliotropiifolius*

A espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth, cujo sinônimo é *Croton campestris* St. Hill, popularmente conhecido como “velame”, “velaminho” e “velame-de-cheiro”, é abundante no Nordeste do Brasil, geralmente encontrado, em vegetação de caatinga, embora também ocorra em brejos de altitude, restingas e cerrados (ANGÉLICO, 2011).

O velame é um arbusto piloso com cerca de 1 m de altura, de látex incolor ou laranja quando oxidado. Seus ramos são cilíndricos e verde-acinzentados. Suas folhas são alternas a subopostas no ápice dos ramos; apresentam flores pistiladas, solitárias, curtamente pediceladas ou sésseis; geralmente não apresentam nectários no pecíolo ou quando presentes estes são inconspícuos, globosos e muitas vezes encobertos pelos tricomas. Além disso, ainda é caracterizada pela presença de tricomas estrelado-porrectos adensados nas estruturas vegetativas e reprodutivas (SILVA; SALES; CARNEIRO-TORRES, 2009).

A planta é empregada na medicina popular no tratamento da tosse, gripe, em uso externo contra afecções da pele, úlceras e sífilis (CASTRO; CAVALCANTE, 2010) e ainda, no alívio de mal-estar gástrico, vômitos, diarreia, em banhos para atenuar a febre e dores de estômago (RANDAU, 2001).

Do ponto de vista fitoquímico, são poucas as pesquisas com o *C. heliotropiifolius*. Silva (2006) relata que o velame possui alcaloides (taspanina-alcaloide do tipo aporfírico) e resina. El Babili et al. (1998) isolaram e identificaram três diterpenos-furanos, a partir do extrato de diclorometano da casca da raiz do *C. campestris*.

Silva (2006) identificou 22 constituintes do óleo essencial de folhas de *C. heliotropiifolius*, 7,46% do total foram monoterpenos, enquanto que 86,96% foram sesquiterpenos; e compostos majoritários como β -cariofileno, biciclogermacreno e germacreno-D, com 38,21; 20,90 e 12,36% respectivamente. O autor constatou ainda, a atividade do óleo essencial de folhas do velame contra larvas de *Aedes aegypti* Linn.

Souza et al. (2010), identificaram como componentes majoritários o α -pineno, cânfora, β -pineno e germacreno. Neste mesmo trabalho foi avaliada a atividade antimicrobiana dos óleos e das cascas do *C. heliotropiifolius*, sendo que não foi verificada ação inibitória dos micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

2.3.5.1.2 Gênero *Annona* L.

A família Annonaceae engloba um grande número de gêneros e espécies, sendo a maioria originária de regiões tropicais, com cerca de 2.500 espécies distribuídas em aproximadamente 135 gêneros (CHATROU et al., 2012).

No Brasil já foram reconhecidos 29 gêneros e relatadas 392 espécies (MAAS; RAINER; LOBÃO, 2016). A maioria das espécies dessa família ocorre frequentemente em florestas e com poucos exemplares representantes em áreas abertas (COSTA et al., 2011a,b).

As Annonaceae são popularmente conhecidas pelos seus frutos, vários deles comestíveis, sendo algumas espécies desse gênero bastante apreciadas, como *A. muricata* L. (graviola), *A. crassiflora* (araticum) e *A. squamosa* L. (pinha) (DUTRA et al., 2012). Outras espécies têm sua madeira empregada na carpintaria e suas raízes utilizadas como cortiça *A. glabra* L. (araticum-do-brejo) e *A. classiflora* Mart. (marolo); outras são usadas na medicina popular como *A. spinescens* Mart. (araticum-de-espinho) e *A. foetida* Mart. e ainda como plantas ornamentais (*A. cacans* Warm. e *Xylopia sericea* A. St. - Hil.) (PIO CORRÊA, 1984).

Em relação aos estudos sobre a fitoquímica e atividade biológica, a família Annonaceae se destaca pelos variados tipos de metabólidos secundários. Estudos prévios têm apontado o isolamento de alcaloides, acetogeninas, flavonoides, óleos essenciais, diterpenos e lignoides (COSTA et al., 2011a,b) com importantes atividades biológicas, tais como: citotóxica, antitumoral, pesticida, vermífida, antimicrobiana, imunossupressora, antiemética, inibidora do apetite e antimalárica (SANTOS; PIMENTA; BOAVENTURA, 2007).

2.3.5.1.2.1 *Annona squamosa*

A *Annona squamosa* Linn. é conhecida popularmente como pinha, ata ou fruta-do-conde, tem origem na América tropical e é uma das espécies do gênero *Annona* de maior expressão econômica no Brasil, principalmente em vários estados do Nordeste e Sudeste (DIAS et al., 2004).

É uma planta arbórea de porte baixo (de 4 a 6 m) que apresenta folhas alternas e simples. As flores apresentam-se isoladas ou em inflorescência, com três sépalas ou seis pétalas. Seu fruto caracteriza-se por uma baga composta arredondada (GUSMAN; ARAQUE; GUIJARRO, 1985), de polpa branca, com aroma agradável, muito doce, o que a torna muito importante para o consumo na forma fresca (LIMA; PASTORE; LIMA, 2001).

Além do seu potencial frutífero, a pinheira, tem grande importância na medicina popular, sendo bastante utilizada devido as suas propriedades medicinais com diversas finalidades. De acordo com Cordeiro; Pinto; Ramos (2000), compostos químicos como acetogeninas, diterpenos, óleos essenciais, saponinas e alcaloides são encontrados em diferentes partes da planta de pinha, como raízes, folhas, frutos e sementes, e apresentam propriedades medicinais para diversas enfermidades.

Suas folhas são recomendadas no tratamento de dor de cabeça, diarreia, falta de apetite, reumatismo, anemia e infecções, sendo ainda usadas nos tratamentos de estomatites, nevralgias e cefaléia, como anti-reumática e anti-helmíntica, bem como na forma de cataplasma em furúnculos e úlceras para induzir a supuração (PIO CORRÊA, 1984). Suas sementes são utilizadas no combate à caspa e piolhos (RAMOS, 1992). Sua raiz é bastante efetiva como constipante e contra disenteria (WOMG; KHOO, 1993).

Outra característica atribuída à planta é quanto à sua propriedade inseticida, presente nas folhas, raízes e principalmente nas sementes. Segundo Hernández; Angel (1997), essa propriedade está relacionada à presença de substâncias do tipo acetogeninas (anonina, asimicina, bulatacina, bulatacinona e escuamocina). A eficácia da atividade da anonina como inseticida é devido a sua ação citotóxica que age sobre a cadeia respiratória celular, no primeiro acoplamento energético (LODERSHAUSEN et al., 1991a,b).

2.3.5.1.2.2 *Annona mucosa*

A *Annona mucosa* (Jack.), anteriormente denominada de *Rollinia mucosa* (Jack.) Baill. (Rainer, 2007) e popularmente conhecida como biribá, possui um grande valor econômico associado às suas características medicinais e alimentares (LORENZI, 2002). O biribazeiro é nativo das matas Atlântica e Amazônica, e tem o Brasil como centro de origem, se desenvolve bem em diferentes habitats (SIMÃO, 1998).

É uma árvore que pode alcançar em geral de 6 a 10 m de altura, com folhagem temporária, possuindo copa com 16 a 20 m de diâmetro e tronco com 0,40 a 1,20 m de diâmetro. Apresenta folhas alternas, dísticas, elípticas oblongas, de 12 a 15 cm, por 5 a 7 cm, nas plantas jovens, ápice acuminado e base obtuso-arredondada, com nervuras laterais paralelas (CAVALCANTE, 1972). As flores são isoladas, extra-axilares, formadas por três sépalas e seis pétalas de coloração verde-pálida e cheiro bastante peculiar. Seus frutos têm grande aceitação popular, sendo consumidos *in natura*, quando maduro, apresenta coloração amarela, globoso, composto por diversas partes hexagonais, muito unidas, dando um aspecto

característico; sua polpa varia de esbranquiçada a creme, com muitas sementes de cor escura; possui um odor agradável, podendo pesar até 1,3 kg (LORENZI, 1998). O biribá é uma planta frutífera nativa e que está distribuída por diversas regiões do Brasil (FERREIRA et al., 2010), possui valor associado, uma vez que os frutos têm aceitação popular para consumo *in natura*, além de características medicinais (ESTRADA-REYES et al., 2010).

Do ponto de vista químico e farmacológico, estudos com esta espécie têm revelado a presença de alcaloides, acetogeninas de anonáceas e lignoides, com comprovadas ações antiprotozoário, antimicrobiana e antifúngica (ALALI; LIU; McLAUGHIN et al., 1999; COSTA et al., 2006). Em relação à utilização da planta, relatos populares revelam o emprego de extratos de suas folhas para eliminação de pulgas e outros insetos infestantes de animais domésticos, o que pode indicar grande potencialidade química e farmacológica (SANTOS et al., 2009 b).

2.3.5.1.2.3 *Annona purpurea*

Annona purpurea Mociño & Sessé, é nativa e comum em planícies costeiras do sul do México ao Panamá, Colômbia e Venezuela. No México esta espécie é conhecida como soncoya, uma árvore que apresenta de 6-10 m de altura, de tronco curto (45 cm) de diâmetro, e ramos estendidos, que são de lã enferrujado quando jovens. As folhas decíduas são alternadas e suas flores possuem um perfume forte, que surgem com as novas folhas, são solitárias. O fruto possui formato ovoide ou quase redondo e sua polpa é agradavelmente aromática, de coloração amarelo ou laranja, macio, fibroso, de sabor suave e agradável. As sementes são numerosas, de cor castanho-escuro (MORTON, 1987).

No México, assim como em outros países latinos as partes da planta são usadas na medicina tradicional para curar várias doenças. Neste país o suco da soncoya é indicado como remédio para a febre. A decocção da casca é eficaz contra disenteria e chá da casca interna é administrado em casos de edema e as folhas usadas para tratar a tosse, resfriados e diabetes (GUPTA, 2004; LOPEZ et al., 1999; MORTON, 1987; ROIG, 1988).

Apesar de possuir propriedade medicinal, são escassas as informações sobre os seus compostos ativos e sobre estudos que comprovem o uso dessa espécie no controle de fitopatógenos.

2.3.5.1.2.4 *Annona glabra*

Annona glabra é uma espécie nativa da América tropical e oeste africano, com ampla distribuição geográfica (PINTO, 2005). No Brasil, *A. glabra*, é vulgarmente conhecida como araticum-do-brejo ou araticum-bravo e ocorre desde o Estado da Amazônia até Santa Catarina (BRAGA, 1976). Esta espécie se desenvolve naturalmente em regiões alagadas, pois apresenta adaptações como raízes adventícias, aerênquima nas raízes e na base do caule, frutos flutuantes e sementes que se dispersam pela água (NÚÑEZ-ELISEA et al., 1999).

O araticum-do-brejo é uma planta de porte médio, alcançando entre 3 e 8 m de altura e caule com 10 a 30 cm de diâmetro, com casca grossa e aspecto avermelhado, apresenta copa em forma de “guada-chuva”, com folhas lustrosas, simples e alternas, medindo 7 a 17 cm de comprimento e 3 e 8 cm de largura. Seu fruto tem formato ovoide globoso, de coloração verde brilhante, o qual após a queda torna-se amarelado, com cerca de 5 a 15 cm de diâmetro, apresentam muitas sementes de cor marron-escuro, envolvida em uma polpa creme de cheiro forte e muito saborosa (MAHDEEN, 1990).

Segundo Siebra et al. (2009), estudos sobre a *A. glabra* têm evidenciado numerosos compostos de natureza química diversificada nas mais variadas partes da planta. Sendo os alcaloides, as acetogeninas e os diterpenos, os principais grupos de compostos presentes em extratos preparados de cascas (OLIVEIRA; SANT'ANA; BASTOS, 2002), caules (CHEN et al., 2004), folhas (OLIVEIRA; SANT'ANA; BASTOS, 2002) e frutos (CHANG, 1998; CHEN et al., 2004).

Compostos como acetogeninas, isoladas de folhas, demonstraram propriedade antitumorais e isoladas da casca, atividade antiparasitária, fungicida, pesticida e bactericida (PADMAJA, 1995; LIU; PILARINOU; McLAUGHLIN, 1999; CHIU et al., 2003).

REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; CHEN, J. Concomitant pathogen and pest interactions. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Eds.). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p. 135-158. 1998.

ACOSTA, N.; AYALA, A. Pathogenicity of *Pratylenchus coffeae*, *Scutellonema bradys*, *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* on *Dioscorea rotundata*. **Journal of Nematology**, v. 7, p. 1-6, 1975.

ADENIJI, M. O. Studies on some aspects of control of the yam nematode, *Scutellonema bradys*. **Acta Horticulturae**, v. 53, p. 249-265, 1977.

ADESIYAN, S. O. Host range studies of the yam nematode, *Scutellonema bradys*. **Nematropica**, v. 6, p. 60-63, 1976.

ADESIYAN, S. O. Penetration and multiplication of *Scutellonema bradys* in yams (*Dioscorea* spp.). **Nematologia Mediterranea**, v. 5, p. 313-317, 1977.

ADESIYAN, S. O.; ADENIJI, M. O. Studies on some aspects of yam nematode (*Scutellonema bradys*). **Ghana Journal of Agricultural Science**, v. 9, p. 131-136, 1976.

ADESIYAN, S. O.; BADRA, T. Granular nematicides for control of the yam nematode, *Scutellonema bradys*, and relevant residues in raw tubers. **Journal of Nematology**, v. 14, p. 213-216, 1982.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <<http://www.agrofit.com.br/novoportal>>. 2016. Acesso em: 12 abr. 2016.

AKHTAR, M.; MAHMOOD, I. Impact of organic and management and plant-based products on plant-parasitic and microbivorous nematode communities. **Nematologia Mediterranea**, v. 25, p. 21-23, 1997.

ALALI, F. Q.; LIU, X. X.; McLAUGHIN, J. L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 504, 1999.

ALMEIDA, N. S. **Dinâmica populacional de nematoides patogênicos ao inhame e à mandioca no recôncavo da Bahia**. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Mestrado em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2009.

ALVES, E. C. et al. Efeito tóxico da manipueira sobre *Scutellonema bradys*, causador da "casca-preta" no inhame (*Dioscorea cayennensis*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.74, 2006.

ALVES, R. M. L.; GROSSMANN, M. V. E. Parâmetros de extrusão para produção de "snacks" de farinha de cara (*Dioscorea alata*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 32-38. 2002.

ANDRÁSSY, I. *Hoplolaimus tylenchiformis* Daday, 1905 (syn. *H. coronatus* Cobb, 1923) und die gattungen der unterfamilie Hoplolaiminae Filipjev, 1936. **Nematologica**, v. 3, p. 44-46, 1958.

ANGÉLICO, E. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de *Croton heliotropifolius* Kuntze e *Croton blanchetianus* Baill.** 2011. 86p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos – PB, 2011.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública, nº 63, de 23 de setembro de 2009. D.O.U de 24/09/09. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 set. 2016.

ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1558-1561, 2009.

ARAÚJO, F.F; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. S. F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, v. 32, p.197-203, 2002.

ASMUS, G. L. Soybean nematodes in Brazil: old and new challenges. In: REUNIÓN ANUÁL DE LA ORGANIZACION DE NEMATÓLOGO DE LOS TRÓPICOS AMERICANOS, 34, Villa Carlos Paz. **Anais...** Programa y resúmenes: ONTA, 2007, p. 40-41.

BABATOLA, J. O.; OYEDUNMADE, E. A. Influence of organic manures and urea on nematode pests of *Celosia argentea*. **Nematologia Mediterrânea**, v. 20, p. 237-239, 1992.
BADRA, T.; CAVENESS, F. E. Chemotherapy of *Dioscorea alata* for disinfestation of *Scutellonema bradys*. **Nematropica**, v. 9, p. 135-137, 1979.

BAIMEY, H. K. *Scutellonema bradys* as a pathogen of yam in Benin. 2006, 158f. Doctor of Philosophy. University of Pretoria. Pretoria, 2006.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1976. 540 p.

BRIDGE, J. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. **Annual Review Phytopathology**, v. 34, p. 201-225, 1996.

BRIDGE, J.; COYNE, D. L.; KWOSEH, C. K. Nematode parasites of tropical root and tuber crops (excluding potatoes). In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. 2. ed. Wallingford: CAB International, 2005, p. 221-258.

BRITO, T. T. et al. Composição centesimal de inhame (*Dioscorea* sp.) in natura e minimamente processado. **Scientia Plena**, v. 7, p. 1-7, 2011.

CAMILI, E. A. **Tratamento da manipueira por processo de flotação sem o uso de agentes químicos**. 2007. 78p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 2007.

CAMPOS, V. P.; SOUZA, J. T.; SOUZA, R. M. Controle de fitonematóides por meio de bactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 6, p. 285-327, 1998.

CARMO, D. O. **Gama de plantas hospedeiras e controle do nematoide do inhame, *Scutellonema bradys*, com manipueira**. 2009. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Cruz das Almas, BA, 2009.

CASTILLO, P.; VOVLAS, N. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. Leiden: Brill, 2007, 529p.

CASTRO, A. S.; CAVALCANTE, A. **Flores da caatinga**. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido, 2010. 116p.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1972. 84p. (MPEG. Publicações Avulsas, 17).

CHANG, F. R. Bioactive kaurane diterpenoids from *Annona glabra*. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 437-439, 1998.

CHATROU, L. W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, p. 5-40, 2012.

CHEN, C. H. et al. Annoglabayin, a novel dimeric kaurane diterpenoid, and apoptosis in Hep G2 cells of annomontacin from the fruits of *Annona glabra*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1942-1946, 2004.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.

CHIU, H. F. Bullatacin, a potent antitumor Annonaceous acetogenin, induces apoptosis through a reduction of intracellular pathway cAMP and cGMP levels in human hepatoma 2.2.15 cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, p. 319-327, 2003.

COATES-BECKFORD, P. L.; BRATHWAIT, C. W. D. Comparison of various treatments for the control of *Pratylenchus coffeae* in yam. **Nematropica**, v. 7, p. 20-26, 1977.

COELHO, A. A. M.; DE PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions. **Neotropical Entomology**, v. 35, p. 133-138, 2006.

COIMBRA, J. L. et al. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1209-1211, 2006.

CORDEIRO, M. C. R.; PINTO, A. C. Q.; RAMOS, V. H. V. O cultivo da pinha, fruta-do-conde ou ata no Brasil. Circular Técnica (Embrapa Cerrados), Planaltina, n. 9, p. 1-52, jul. 2000. Disponível em:
<http://www.espacodoagricultor.rj.gov.br/pdf/frutas/O_Cultivo_da_Pinha.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2016.

COSTA, E. V. et al. A pyrimidine-beta-carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 292-294, 2006.

COSTA, E. V. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 34., 2011. Florianópolis, SC. **Anais...** Florianópolis, SC: SBQ, 2011 b.

COSTA, E. V. et al. Trypanocidal activity of oxoaporphine and pyrimidine- β - carboline alkaloids from the branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, p. 9714-9720, 2011 a.

CRISTÓBAL-ALEJO, J. et al. *In vitro* sensitivity of *Meloidogyne incognita* to extracts from native yucatecan plants. **Nematropica**, v. 36, p. 89-97, 2006.

DEVRAJAN, K.; RAJENDRAN, G. Effect of the fungus, *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Sanson on the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne in banana. **Pest management in Horticultural Ecosystems**, v. 7, p. 171-173, 2001.

DIAS, C. R. et al. Efeito de frações de esterco bovino na eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 23, p. 34-39, 1999.

DIAS, C. R.; FERRAZ, S. Efeito de frações biodigeridas de esterco de galinha sobre a eclosão e a mortalidade de juvenis de *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, v. 25, p. 99-101, 2001.

DIAS, N. O. et al. Desempenho vegetativo e reprodutivo da pinheira (*Annona squamosa*, L.) em função de diferentes comprimentos de ramos podados. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 389-91, 2004.

DUTRA, L. M. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 115-118, 2012.

EL BABILI, F. et al. Three furano – diterpenes from the bark of *Croton campestris*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 165 -169, 1998.

ESTRADA-REYES, R. et al. Lignans from leaves of *Rollinia mucosa*. **Zeitschrift für Naturforschung Tübingen**, v. 57, p. 29-32, 2010. Disponível em: <<http://www.cisoja.com.br/index.php?p=noticia&idN=8936>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

FABRE, M. **Manejo permite convivência com nematoides**. Folha de Londrina/Agrolink, 24 jan. 2011. Disponível em: <http://www.cisoja.com.br/index.php?p=noticia&idN=8936>>. Acesso em: 10 nov. 2016.

FAO. Food Agriculture Organization: Faostat Data base. Agricultural production; agriculture & Food trade. Disponível em: < <http://www.fao.org>>. Acesso em: 03 abr. 2016.

FERRAZ, L. C. C. B. Doenças causadas por nematóides em batata-doce, beterraba, gengibre e inhame. **Informe Agropecuário**, v. 17, p. 31-38, 1995.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **An introduction to nematodes: plant nematology**. Sofia – Moscow: Pensoft, 2002. 221p.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. 4. ed. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 277-305.

FERRAZ, S. et al. **Manejo sustentável de fitonematoídes**. Viçosa: UFV, 2010. 245p.

FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; AMORA, D. X. Controle de fitonematoídes com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N.(Ed). **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. Panorama atual e perspectivas na agricultura**. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2008. 308p.

FERREIRA, M. G. R. et al. Emergência e crescimento inicial de plântulas de biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill) (Annonaceae) em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, p. 373-380, 2010.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 241-263, 1999.

FIORETTO, R. A.; SANTOS, J. R.; BICUDO, S. J. Manipueira na fertirrigação: efeito sobre a produção de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Revista Brasileira de Mandioca**, v. 16, p. 149-157, 1997.

FIORETTO, S. A. Uso direto da manipueira em fertirrigação. In: CEREDA, M. P. **Industrialização da mandioca no Brasil**. São Paulo: Paulicéia, 1994. 51-80p.

FIORETTO, R. A. Uso direto da manipueira em fertirrigação. In: CEREDA, M. P (coord): **Manejo, Uso e Tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 4, 2001. p. 67 – 79.

FIORETTO, S. A.; BRINHOLI, O. Possibilidade de controle das plantas invasoras com aplicação de manipueira. **Energia na Agricultura**, v. 2, p. 3-9, 1985.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à Nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 90p. (Cadernos didáticos, 58).

GARDIANO, C. G. A atividade nematicida de extrato aquoso e tinturas vegetais sobre *Meloidogyne javanica* (TREUB 1885) CHITWOOD, 1949. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 551-556, 2009.

GARRIDO, M. S. et al. Levantamento de fitonematóides na cultura do inhame da Costa (*Dioscorea cayenensis*) no recôncavo da Bahia. **Nematologia Brasileira**, v. 28, p. 219-221, 2004.

GARRIDO, M. S. **Manejo agroecológico da cultura do inhame: produtividade, qualidade controle de nematoides e manchas foliares**. 2005. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola de Agronomia. Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, 2005.

GARRIDO, M. S. et al. Nematodes associated with rhizosphere and roots of cassava planted in rotation with yam crops. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p.181-182, 2008.

GERMANI, G. et al. Revision of the genus *Scutellonema bradys* Andrassy, 1958 (Nematoda: Tylenchida). **Revue de Nématologie**, v. 8, p. 289-320, 1985.

GUPTA, M. H. "Investigaciones farmacognósticas sobre la flora panameña". **Anales Real Academia Nacional de Farmacia**, v. 70, p. 839-883, 2004.

GUSMAN, R.; ARAQUE, M.; GUIJARRO, G. Caracterización del anon (*Annona squamosa*) y su industrialización a pequeña escala. **Frutas Tropicales**. Boletim informativo, n. 6, 1985. 23-26p.

HALBRENDT, J. M.; LaMONDIA, J. A. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Nematology – Advances and perspectives**. V. II: Nematode Management and Utilization. Beijing: Tsinghua University Press; Wallingford: CABI Publishing, 2004. 909-930p.

HERNANDÉZ, C. R.; ANGEL, D. N. Anonáceas con propiedades insecticidas. In: SÃO JOSÉ, A. R., SOUZA, I. V. B., MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Eds.). **Anonáceas produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia)**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997. p. 229-239.

HUTTON, D. G. Use of household disinfectants to suppress *Pratylenchus coffeae* and dry rot of yellow yam (*Dioscorea cayenensis*). **Tropical Agriculture**, v. 75, p. 49-52, 1998.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Unidade Estadual - AL: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Unidade Estadual - AL: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Ceres, 1985. 492p.

KLOPPER, J. W. Plant root-bacterial interactions in biological control of soil borne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. **Australasian Plant Pathology**, v. 28, p. 21-26, 1999.

KWOSEH, C.; PLOWRIGHT, R. A.; BRIDGE, J. The yam nematode: *Scutellonema bradys*. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 221-228.

LEBOT, V. **Tropical root and tuber crops: cassava sweet, potato, yams, and aroids**. London: CABI, 2009. 413p.

LIMA, E. D. P.; PASTORE, G. M.; LIMA, C. A. A. L. Extração e atividade da enzima polifenoloxidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa*, L) nos estádios de maturação verde e maduro. **Agropecuária Técnica**, v. 22, p. 33-43, 2001.

LIMA, L. R.; PIRANI, J. R. Revisão taxonômica de *Croton sect. Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s.). **Biota Neotropica**, v. 82, p.177- 231, 2008.

LIU, X. X.; PILARINOU, E.; McLAUGHLIN, J. L. Two novel acetogenins, annoglaxin and 27-hydroxybullatacin, from *Annona glabra*. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 848-852, 1999.

LODERSHAUSEN, M. et al. Annonins: mode of action of acetogenins isolated from *Annona squamosa*. **Pesticide Science**, v. 30, p. 443-445, 1991a.

LODERSHAUSEN, M. et al. Molecular mode of action of annonin. **Pesticide Science**, v. 33, p. 427-438, 199 b.

LOPES, E. A. et al. Efeito de extratos aquosos de mucuna preta e de manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 67-74, 2005.

LOPEZ, D. H. J. C. et al. **Análisis socioeconómico de la cabeza de negro en los municipios de Casimiro Castillo y Cuautitlán, Jalisco**. Universidade de Guadalajara, México, 1999. p. 10.

LORDELLO, L. G. E. Nematosis of yam in Pernambuco, Brazil, caused by a new species of the genus *Scutellonema*. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 19, p. 35-41, 1959.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, v. 1, 1998. p. 384.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Platarum, 2002. 512p.

MAAS, P.; RAINER, H.; LOBÃO, A. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110219>>. Acesso em: 14 mar. 2016.

MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69, p.103-106, 2007.

MAHDEEN, H. Other Annonaceous fruits. **Fairchild Tropical Garden: Tropical Fruit World**, v. 4, p. 118-120, 1990.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, v. 2, 2000. 388p.

MORTON, J. “Soncoya”. In: MORTON, J. F. **Fruits of warm climates**. Miami, Florida: Creative Resource Systems, 1987. p. 85.

MOURA, R. M. Principais doenças do inhame-da-costa no Nordeste do Brasil. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 3, p. 180-199, 2006.

MOURA, R. M. Doenças do inhame-da-Costa. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia – doenças das plantas cultivadas**. 5.ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 477-483.

MOURA, R. M. et al. Efeito da aplicação de Carbofuran sobre a produção de túberas comerciais e sementes de inhame da costa e sobre as densidades populacionais de importantes fitonematoides associados à cultura. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 257-260, 2005.

MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P. Novos dados sobre a etiologia da casca-preta do inhame no Nordeste do Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 25, p. 235-237, 2001.

MOURA, R. M.; MONTEIRO, A. R. *Pratylenchus coffeae* on yams in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 256, 1995.

MOURA, R. M.; MOURA, A. M. Ocorrência da pratilencose do inhame no Estado da Paraíba. **Nematologia Brasileira**, v. 13, p. 51-58, 1989.

MOURA, R. M.; TEIXEIRA, L. M. S. Aspectos morfológicos de *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew, 1933) Andrássey, 1958 (Nematoda: Hoplolaiminae). **Fitopatologia Brasileira**, v. 5, p. 359-367, 1980.

MOURA, R. M.; COELHO, R. S. B.; PIO RIBEIRO, G. Estudo etiológico e efeito de 1,2-dibromo-3-cloropropano no controle da casca preta do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) para plantio. **Fitopatologia Brasileira**, v. 3, p. 47-53, 1978.

MORAIS, A. C. M. **Utilização de materiais orgânicos como estratégia para o manejo da casca-preta do inhame**. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Proteção de plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2014.

MORAIS, A. C. M. et al. Organic-matter effects on populations of dry rot of yam nematodes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 1494-1498, 2016.

MUNIZ, M. F. S. et al. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, v. 42, p. 198-200, 2012.

NEVES, W. S. et al. Atividade de extratos de alho (*Allium sativum*), mostarda (*Brassica campestris*) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) sobre eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 273-278, 2005.

NEVES, W. S. et al. Ação nematicida de óleo, extratos vegetais e de dois produtos à base de capsaicina, capsainóides e alil isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 93-100, 2008.

- NOBRE, S. A força da cultura do inhame em Alagoas. 2012. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/uf/alagoas/areas-de-atuacao/agronegocios/cultura-do-inhame/integra_bia/ident_unico/4140>. Acesso em: 02 set. 2015.
- NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 174-178, 1995.
- NÚÑEZ-ELISEA, R. et al. Influence of flooding on net CO₂ assimilation, growth and stem anatomy of *Annona* Species. **Annals of Botany**, v. 84, p. 771-780, 1999.
- OKA, Y. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – A review. **Applied Soil Ecology**, v. 44, p. 101-115, 2010.
- OLIVEIRA, A. N. P. et al. Adubação fosfatada em inhame em duas épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 456-460, 2011.
- OLIVEIRA, A. P. Nutrição e época de colheita do inhame (*Dioscorea* sp.) e seus reflexos na produção e qualidade de rizóforos. 2012. Disponível em: <<http://www.emepa.org.br/anais/volume1/av106.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2015.
- OLIVEIRA, B. H.; SANT'ANA, A. E.; BASTOS, D. Z. Determination of the diterpenoid, kaurenoic acid, in *Annona glabra* by HPLC. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 368-371, 2002.
- OLUWATAYO, J. I.; ASIEDU, R.; ADESIYAN, S. O. Allelopathic potential of plant extracts against *Scutellonema bradys*. **African Journal of Root and Tuber Crops**, v. 19, p. 30, 2011.
- OSEI, K. et al. Organic soil amendments in nematode management in yam production. **Nematropica**, v. 43, p. 78-82, 2013.
- PADMAJA, V. Biological activities of *Annona glabra*. **Journal Ethnopharmacology**, v. 48, p. 21-24, 1995.
- PEDRALLI, G. Distribuição geográfica e taxonomia das famílias Araceae e Dioscoreaceae. In: CARMO, C. A. S. **Inhame e taro: sistemas de produção familiar**. Espírito Santo: INCAPER, 2002, p.15-26.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. IBDF, v. 1, 1984. 747p.

PINTO, A. C. Q. et al. *Annona specie*. Southampton: International Center of underutilised Crops, 2005. 282p.

PONTE, J. J. Uso da manipueira como insumo agrícola: defensivo e fertilizante. In: CEREDA, M. P. (Ed.) **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001. p. 80-95.

PONTE, J. J. **Cartilha da manipueira: Uso do composto como insumo agrícola**. Fortaleza: Governo do Estado do Ceará. Secretaria da Ciência e Tecnologia (SECITECE), 1999. 53p.

PONTE, J. J. et al. Dosagem da manipueira para tratamentos de linhas de cultivo em solo infestado de *Meloidogyne*. **Nematologia Brasileira**, v. 19, p. 81-85, 1995.

PONTE, J. J.; TORRES, J.; FRANCO, A. Investigações sobre uma possível ação nematicida da manipueira. **Fitopatologia Brasileira**, v. 49, p. 431-434, 1979.

POTENZA, M. R. Produtos naturais para o controle de pragas. In: X REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO: CAFÉ, 5., 2004, Mooca. **Anais...** São Paulo, SP, 2004. p. 89-100.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A. Sr. **Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien**, v. 108, p. 191-205, 2007.

RAMOS, P. H. Cultura da Graviroleira (*Annona muricata* L.). In: DONÁDIO, L. C. **Fruticultura Tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 127-57.

RANDAU, K. P. **Estudo farmacognóstico (farmacobotânico e farmacológico) e atividade biológica do *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides* Pax e Haffm. (Euphorbiaceae)**. 2001. 143p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife- PE.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 331-338, 2006.

ROIG, J. T. **Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba**. La Habana: Editorial Científica Técnica, 1988. p. 949.

SANTANA, A. A. D.; MOURA, R. M; PEDROSA, E. M. R. Efeito da rotação com cana-de-açúcar e *Crotalaria juncea* sobre populações de nematoides parasitos do inhame-da-Costa. **Nematologia Brasileira**, v. 1, p. 13-16, 2003.

SANTOS, A. Usos e impactos ambientais causados pela manipueira na microregião sudoeste da Bahia-Brasil. In: LUZON, J. L; CARDIM, M. (coord). **Problemas sociales y regionales em América Latina: estudio de casos**. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2008. p. 11-25.

SANTOS, A. M. G. et al. Alcalóides das folhas de *Rollinia mucosa* (Annonaceae). In: 32ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA – 32ª RASBQ, 2009b. Fortaleza – CE. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T1967-2.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2016

SANTOS, E. S. et al. **Cultivo do inhame em base agroecológica**. João Pessoa: EMEPA-PB, v. 1, 2012. 60p.

SANTOS, E. S. et al. Produtividade e controle de nematóides do inhame com plantas antagonicas e resíduos orgânicos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 3, p. 7-13, 2009a.

SANTOS, E. S. Manejo Sustentável da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DE INHAME E TARO, 2. 2002. João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa, PB: EMEPA-PB, 2002, v.1, p.181-195.

SANTOS, E. S.; MACÊDO L. Tendências e perspectivas da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: II SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E TARO. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2002.

SANTOS, E. S. **Inhame (*Dioscorea* sp.): aspectos básicos da cultura**. João Pessoa: EMEPA-PB, Sebrae, 1996. 158p

SANTOS, J. F. **Actinobactérias e adubação orgânica no manejo de *Scutellonema bradys* no crescimento e nutrição de plantas de inhame**. 2013. 105f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, BA, 2013.

SANTOS, J. P. S. et al. Incidência de pragas e doenças no cultivo do inhame em função de fontes orgânicas. CONGRESSO PARAIBANO DE AGROECOLOGIA – 2010. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABmzkAC/incidencia-pragas-doencas-no-cultivo-inhame-funcao-fontes-organicas-adubacao>>. Acesso em 20 ago. 2015.

SANTOS, L. A. R.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogeninas de anonáceas bioativas isoladas das sementes de *Annona cornifolia* A. St. Hil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, p. 48-51, 2007.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A. World perspective on nematology: the role of the society. **Society of Nematologists**, v. 5, p. 7-14, 1987.

SCHROTH, M. N.; HANCOCK, J. G. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. **Science**, v. 216, p. 1376-1381, 1982.

SIDDIQUI, Z.A.; MAHMOOD, I. Role of rhizobacteria in the management of plant-parasitic nematodes: A review: **Bioresource Technology**, v. 69, p. 167-179, 1999.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. **Bioresource Technology**, v. 58, p. 229-239, 1996.

SIEBRA, C. A. Potencial antiinflamatório de *Annona glabra*, Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, p. 82-88, 2009.

SIKORA, R. A.; HOFFMANN-HERGARTEN. Importance of plant health-promoting rhizobacteria for the control of soil-borne fungal disease and plant parasitic nematodes. **Arabien Journal Plant Protection**, v. 10, p. 53-48. 1992.

SILVA, J. S.; SALES, F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na Microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 4, p. 879-901, 2009.

SILVA, W. J. **Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.** 2006. 81f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2006.

SILVA, et al. Sucessão de cultivos no manejo da casca preta do inhame. **Nematropica**, v. 44, p. 57-63, 2014.

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 760p.

SIQUEIRA, M. V. B. M. Inhame (*Dioscorea* spp): uma cultura ainda negligenciada. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4075-4090, 2009.

STEINER, G.; LEHEW, R. R. *Hoplolaimus bradys* n. sp. (Tylenchidae, Nematodes), the cause of a disease of yam (*Dioscorea* sp.). **Zoologischer Anzeiger**, v. 101, p. 260-264, 1933.

STEINER, G. A. Nematosis of yams caused by a new species of *Hoplolaimus*. **Plant Disease Reporter**, v. 15, p. 121, 1931.

SOARES, A. C. F. et al. *Scutellonema bradys* em Cará-Doce (*Dioscorea trifida* L.). **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 192-194, 2006.

SOUZA, D. S. et al. Análise sazonal dos constituintes voláteis de *Croton heliotropiifolius* Kunth. Sociedade Brasileira de Química, 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: <http://sec.s bq.org.br/cdrom/33ra/resumos/T1728-2.pdf>. 2010. Acesso em: 30 mar. 2016.

SUASSUNA, N. D. et al. Manejo de doenças do algodoeiro. In: BELTRÃO, N. E. M.; AZEVEDO, D. M. P. (Ed.). **O Agronegócio do Algodão no Brasil**. 2. ed. Campina Grande: Embrapa Algodão, v. 2, 2008, p. 983-1032.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Sunderland: Sinauer, 2002, 690p.

THOMPSON, A. K.; BEEM, B. O.; PERKINS, C. Nematodes in stored yams. **Experimental Agriculture**, v. 9, p. 281-286, 1973.

TORRES, M. C. M. **Estudo químico e biológico de *Croton regelianus* var. *matosii* (Euphorbiaceae)**. 2008. 179 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Ceará, 2008.

VAZ, M. V. et al. **Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis***. Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão. Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM, v. 1, p. 203-212, 2011.

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: UFV, 2005, p.163-183.

VIEITES, R. L.; BRINHOLI, O. Utilização da manipueira como fonte alternativa à adubação mineral na cultura da mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, v. 13, p. 61-66, 1994.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010, p. 7-15. (Documento, 316).

WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: A review. **Nematropica**, v. 32, p. 35-57, 2002.

WIDMER, T. L.; MITKOWSKI, N. A.; ABAWI, G. S. Soil organic matter and management of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 34, p. 289-295, 2002.

WONG, K. C; KHOO, K. H. Volatile components of Malaysian *Annona* fruits. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 8, p. 5-10, 1993.

3 Tratamento de rizóforos-semente de inhame infectados por *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus coffeae* com manipueira e bionematicida

RESUMO

Na região Nordeste a elevada incidência dos nematoides causadores da casca-preta compromete a produtividade, a qualidade e o valor comercial dos rizóforos de inhame. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a potencialidade da manipueira e do bionematicida Nemathel[®] (*Bacillus subtilis*) no tratamento de rizóforos-semente de inhame infectados por *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus coffeae* em casa de vegetação. Foram montados dois experimentos, o primeiro foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com cinco repetições e sete tratamentos: testemunha sem imersão e imersão dos rizóforos-semente em manipueira nas concentrações de 25, 50 e 100% por dois períodos de 9 e 12 horas, seguido do plantio em vasos contendo solo esterilizado. O teor de cianeto na manipueira 100% foi de 3 mg L⁻¹, o qual foi estimado por meio do teste colorimétrico (Quantofix[®] Cyanid -Macherey-Nagel). O percentual de brotação dos rizóforos foi observado aos três meses após o plantio, e aos cinco meses avaliou-se a massa fresca das cascas dos rizóforos e do sistema radicular e a população final de nematoides na casca dos rizóforos, no solo e no sistema radicular das plantas. A brotação dos rizóforos-semente foi de 100% em todos os tratamentos. As concentrações de manipueira nos dois períodos de imersão (25% - 09 horas; 25% e 50% - 12 horas), apresentaram os melhores resultados em relação à testemunha, para as populações finais dos nematoides/g de casca de rizóforos. O segundo experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pelo bioproduto Nemathel[®] nas dosagens de 50, 200 e 250 mL/10L de água, além do nematicida químico Carbofurano (40 mL do produto comercial Furadan[®] 350 SC/10L de água) como testemunha positiva e sem imersão como testemunha negativa. Os rizóforos foram imersos durante 30 minutos em cada tratamento e posteriormente plantados em vasos contendo solo esterilizado. Aos três meses foi avaliado o percentual de brotação dos rizóforos-semente, e aos cinco meses foi avaliada a massa fresca das cascas de rizóforos e a população final de nematoides nesse material vegetal. Observou-se um percentual de 100% de brotação. O tratamento dos rizóforos-semente com Nemathel[®] não apresentou potencial como agente de biocontrole de *S. bradys* e *P. coffeae* nas concentrações testadas.

Palavras-chave: *Dioscorea* spp. Casca-preta-do-inhame. *Bacillus subtilis*. Resíduo agroindustrial.

3 Treatment of seed tubers of yam infected with *Scutellonema bradys* and *Pratylenchus coffeae* with cassava wastewater and bio-nematicide

ABSTRACT

High incidence of nematodes causing dry-rot disease in yam in the Brazilian northeastern region compromises the productivity, quality and commercial value of yam tubers. The present study had the objective to evaluate the potential of cassava wastewater and bio-nematicide Nemathel[®] (*Bacillus subtilis*) to treat seed tubers of yam infected with *Scutellonema bradys* and *Pratylenchus coffeae* under greenhouse conditions. Two experiments were set-up; the first one was projected under a completely random factorial design with five replicates and seven treatments: control without immersion and immersion of seed tubers in cassava wastewater at concentration of 25, 50 and 100% for two periods of 9 and 12 hours, before planting in pots containing sterilized soil. The cyanide content in cassava wastewater at 100% concentration was of 3 mg L⁻¹, determined by colorimetric test (Quantofix[®] Cyanid -Macherey-Nagel). The percentage of germination of the seed tubers was verified three months after planting. The fresh weight of tuber peels and radicular system, as well as the final population of nematodes in the tuber peels, in the soil and in the radicular system of yam plants, were evaluated five months after planting. Germination of seed tubers was of 100% independently of the treatment. The concentration of cassava wastewater in both immersion periods (25% - 09 hours; 25% and 50% - 12 hours), showed the best results for final population of nematodes/g of tuber peels when compared to the control. The second experiment was planned under completely random design with five treatments and four replicates. Treatments were constituted by the bio-nematicide Nemathel[®] at dosages of 50, 200 and 250 mL/10L of water, in addition to the chemical nematicide Carbofuran (40 mL of the commercial product Furadan[®] 350 SC/10L in water) as a positive control and without immersion as a negative control. Seed tubers were immersed during 30 minutes for each treatment and then planted in pots containing sterilized soil. Three months after planting the percentage of germination of the seed tubers was evaluated, five months after planting the fresh weight of tuber peels and the final populations of nematodes in tuber peels were evaluated. A germination of 100% was observed. Treatment of seed tubers with Nemathel[®] did not show potential for the bio-control of *S. brady* and *P. coffeae* at the concentrations tested.

Keywords: *Dioscorea* spp. Dry-rot disease of yam. *Bacillus subtilis*. Agroindustrial residues.

3.1 INTRODUÇÃO

O cultivo de *Dioscorea* spp. é considerado de importância socioeconômica nas regiões de climas tropicais, incluindo a região nordeste brasileira classificada como a maior produtora nacional (BRITO et al., 2011). Nessa região, a área cultivada com inhame tem crescido satisfatoriamente, tornando-se uma atividade agrícola promissora com potencial para ampliar o consumo no mercado interno e atender à demanda do mercado externo, bem como servir de fonte de renda para os pequenos e médios agricultores dessa região (SANTOS, 2002; MENDES; SILVA; FAVERO, 2013).

No entanto, as metas de produção na maioria das vezes, não são atingidas pelos produtores para atender à demanda das empresas e do comércio exterior, sobretudo pela baixa qualidade dos rizóforos (MOURA, 2016), que estão relacionadas a problemas como o manejo inadequado da cultura, do solo e da água; baixa fertilidade do solo; irregularidades climáticas; uso de rizóforo-semente de qualidade agrônômica inferior e, principalmente pela alta incidência e severidade de fitonematoides presentes no solo e nos rizóforos (SANTOS et al, 2007).

Os fitonematoides são responsáveis por grande parte dos danos presentes na cultura do inhame, causando decréscimo na produção, que em alguns casos chegam a ser de 90% (LACERDA, 2002). Das seis espécies identificadas parasitando a cultura do inhame, *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew) Andrassy, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven e *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven já foram registradas em cultivos localizados em Estados do Nordeste (MOURA; OLIVEIRA; TORRES, 2006; SOARES et al., 2006), incluído Alagoas (MUNIZ et al, 2012). Nesta região, a elevada incidência destes patógenos compromete a produtividade, a qualidade e o valor comercial das túberas (GARRIDO; SOARES; JESUS, 2003), pois são responsáveis pela doença conhecida como casca-preta-do-inhame.

O resíduo industrial do processamento da mandioca, conhecido como manipueira, tem se revelado como uma opção no controle de nematoides fitoparasitos, sobretudo pela presença do glicosídeo característico das raízes da planta de mandioca (linamarina), potencialmente hidrolisável a ácido cianídrico (BRANCO, 1979), tóxico dos mais poderosos e que pode afetar células nervosas. A ação da manipueira como nematicida foi constatada em 1979, a partir de testes realizados em casa de vetação e envolvendo nematoides do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1987 (PONTE; TORRES; FRANCO, 1979).

Outro tipo de alternativa é a utilização do controle biológico, que vem sendo empregada na redução de fitonematoides. Este método consiste, em diminuir a população desses patógenos, pela ação de outro organismo vivo, que ocorre naturalmente no solo, ou através da manipulação do ambiente, incluindo a introdução de organismos antagonistas (SOARES et al., 2006). De acordo com Stirling (1991) mais de 200 inimigos naturais de fitonematoides têm sido reportados, dentre eles, fungos, bactérias, nematoides predadores e ácaros. As bactérias do gênero *Bacillus*, principalmente a espécie *B. subtilis*, além de comporem a população microbiana do solo, rizoplano e filoplano, apresentam atrativos para os estudos de controle biológico de doenças de plantas (NORONHA; MICHEREFF; MARIANO, 1995). Sharma; Gomes (1999) divulgaram que a citada bactéria, produz endotoxinas no solo, que intervêm no ciclo reprodutivo dos nematoides, principalmente na fase de oviposição e eclosão de juvenis.

Em razão do sério problema que os nematoides representam para as culturas agrícolas, sobretudo para a cultura do inhame, é imprescindível o desenvolvimento de novas investigações em busca de estratégias alternativas que apresente potencial no controle desses fitopatógenos. Diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivo avaliar a potencialidade da manipueira e do bionematicida (Nemathel®) no tratamento de rizóforos-semente de inhame infectados por *S. bradys* e *P. coffeae* em casa de vegetação.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Experimento 1

3.2.1.1 Local de execução do experimento

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus Delza Gitaí, (09°28'02"S; 35°49'43" W: 127 m), Rio Largo, AL.

2.1.2 Obtenção dos rizóforos-semente

Para a instalação do primeiro experimento foram utilizados rizóforos-semente de inhame, com massa variando de 97 a 437g, provenientes de área com histórico de ocorrência da casca-preta, localizadas nos municípios de Taquarana e Quebrangulo, AL.

3.2.1.3 Extração, identificação e determinação da população inicial de nematoides

Para determinação do nível populacional inicial (Pi) dos nematoides, foi utilizado 1 g da casca removida de cada um dos rizóforos-semente, trituradas em liquidificador e centrifugadas em solução de sacarose de acordo com o método proposto por Coolen; D'Herde (1972).

A identificação da população dos nematoides foi realizada com base em características morfológicas utilizando chaves de identificação (MAI; MULLIN, 1996; GONZAGA; SANTOS; SOARES, 2012) e a quantificação foi feita com o auxílio de lâmina de Peters em microscópio de luz.

3.2.1.4 Obtenção e determinação do teor de cianeto e análise físico-química da manipueira

A manipueira foi obtida das raízes de mandioca da cv. Sergipana, em casa de farinha localizada no município de Taquarana, AL. A coleta foi feita diretamente na saída para os tanques de decantação após a lavagem e trituração das raízes de mandioca, e depositada em recipientes plásticos hermeticamente fechados por 24 horas.

Uma amostra da manipueira foi encaminhada para o Laboratório Central Analítica em Maceió-Alagoas para determinação da concentração de nutrientes presentes na amostra (Tabela 1). O teor de cianeto foi estimado pelo teste colorimétrico Quantofix® (Macherey-Nagel), resultando em aproximadamente 3 mg L⁻¹ em manipueira pura (Figura 1).

Tabela 1 - Características químicas da manipueira.

Elementos								
Macronutrientes (mg L ⁻¹)					Micronutrientes (mg L ⁻¹)			
N	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
1.344	345	2.744	788	692	0,82	63,4	0,94	31,1

Fonte: Central Analítica. Maceió, AL. 18/05/2015.

Figura 1 - Teste colorimétrico empregado para estimar o teor de cianeto da manipueira utilizada no experimento.



Foto: autora (2015).

3.2.1.5 Tratamento dos rizóforos-semente com manipueira

Os rizóforos-semente de inhame naturalmente infectados foram imersos nas seguintes concentrações de manipueira: 25, 50 e 100%; por um período de 9 e 12 horas, além da testemunha (sem imersão), e a seguir foram cultivados em vasos com capacidade para oito litros contendo solo esterilizado em estufa (100 °C/24 h). Os vasos foram mantidos em casa de vegetação até o momento da avaliação, com os tratos culturais necessários. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com cinco repetições, sendo cada uma, representada por um rizóforo-semente.

Três meses após a aplicação dos tratamentos, foi avaliado o percentual de brotação dos rizóforos, e no quinto mês, a massa fresca da casca dos rizóforos e do sistema radicular e a população final dos nematoides em 100 cm³ de solo de acordo com o método de Jenkins (1964), e nas raízes e casca dos rizóforos conforme Coolen; D'Herde (1972). A identificação e quantificação dos nematoides foram realizadas conforme citado anteriormente.

Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis por meio do uso da função `kruskal.test()` do programa estatístico R, versão 3.2.4 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016). Como teste *post hoc* foi realizado o teste de Kruskal-Wallis para comparações múltiplas (HOLLANDER; WOLFE, 1973), utilizando a função `kruskal()`, do pacote *agricolae* (MENDIBURU, 2014) para o R, a $\alpha = 0,05$ de nível de significância e ajustamento para testes múltiplos dos p-valores por meio do método de Bonferroni (1936). Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

3.2.2 Experimento 2

3.2.2.1 Local de execução do experimento

O segundo experimento foi realizado em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus Delza Gitaí, (09°28'02"S; 35°49'43" W: 127 m), Rio Largo, AL.

3.2.2.2 Obtenção das rizóforos-semente

Para instalação do experimento foram utilizados rizóforos-semente de inhame, com massa aproximada de 100 g, naturalmente infectados por *S. bradys* e *Pratylenchus* sp., provenientes do município de Taquarana, Alagoas.

3.2.2.3 Extração, identificação e determinação da população inicial de nematoides

A população inicial foi determinada em 1 g de casca de cada um dos rizóforos-semente de inhame, processado conforme o método proposto por Coolen; D'Herde (1972).

A identificação dos nematoides foi realizada observando a morfologia utilizando chaves de identificação (MAI; MULLIN, 1996) e quantificados com o auxílio de lâmina de Peters em microscópio de luz.

3.2.2.4 Tratamento dos rizóforos-semente com Nemathel[®]

Os rizóforos-semente naturalmente infectados foram imersos por um período de 30 minutos, nas dosagens de 50, 200 e 250 mL/10L de água de bionematicida comercial Nemathel[®], produto à base de *B. subtilis* (1×10^9 ufc/mL), além do nematicida químico Carbofurano (40 mL do produto comercial Furadan[®] 350 SC/10L de água) como testemunha positiva, e como testemunha negativa os rizóforos-semente sem imersão. Posteriormente, foram cultivados em vasos com capacidade para oito litros contendo solo esterilizado em estufa. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação até o momento da avaliação.

O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada uma, representada por um rizóforo-semente.

Três meses após a aplicação dos tratamentos, foi avaliado o percentual de brotação dos rizóforos, e no quinto mês, a massa fresca da casca dos rizóforos e do sistema radicular e a população final dos nematoides em 100 cm³ de solo de acordo com o método de Jenkins (1964), e no material vegetal conforme Coolen; D’Herde (1972). A identificação e quantificação dos nematoides foram realizadas em lâmina de Peter com o auxílio de microscópio de luz.

Para a análise estatística os dados foram transformados para $\sqrt{x} + 0,5$ ou arco seno \sqrt{x} e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, empregando-se o software GENES (CRUZ, 2013).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Experimento 1

A avaliação da Pi (População inicial) mostrou a ocorrência simultânea de *S. bradys* e *P. coffeae*. A análise estatística não foi significativa, demonstrando a uniformidade das populações dos nematoides nos rizóforos (Tabela 2). A porcentagem de brotação foi de 100%.

Os tratamentos com os tempos de imersão de 9 horas, nas concentrações de manipueira de 25 e 50% proporcionaram os maiores valores de massa fresca do sistema radicular, comparado à concentração de 100% no mesmo período de imersão (Figura 2-A). Por outro lado, para a massa fresca das cascas dos rizóforos não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2).

Dados representativos foram observados nas menores concentrações de manipueira nos dois períodos de imersão (25% - 09 horas; 25% e 50% - 12 horas), em relação à testemunha, para as populações finais dos nematoides/g de casca de rizóforos (Figura 2-B). Não foram verificadas diferenças significativas para número de nematoides/g de raiz e solo (Tabela 2).

A eficácia da manipueira no controle de nematoides tem sido relatada principalmente para espécies de *Meloidogyne* em culturas tais como, quiabeiro, *Abelmoschus esculentus* L. (PONTE et al., 1995); figueira, *Ficus carica* L. (FORMENTINI, 2009); cenoura, *Daucus carota* L. (BALDIN et al., 2012); soja, *Glycine max* L. (FONSECA et al., 2016); tomateiro, *Solanum lycopersicum* Mill. (NASU; FORMENTINI; FURLANETTO, 2015; CARVALHO, 2017), e ainda, envolvendo os patossistemas soja – *Heterodera glycines* Ichinohe (COMERLATO, 2009) e milho, *Zea mays* L. – *P. brachyurus* (ROLDI et al., 2013), por meio

da aplicação do produto via solo, com concentrações de cianeto que variaram, em alguns casos, de 25 a 40 mg L⁻¹, diferente do teor obtido no presente trabalho, apenas 3 mg L⁻¹. Não foram encontrados na literatura científica informações sobre a dose letal de cianeto para fitonematoides.

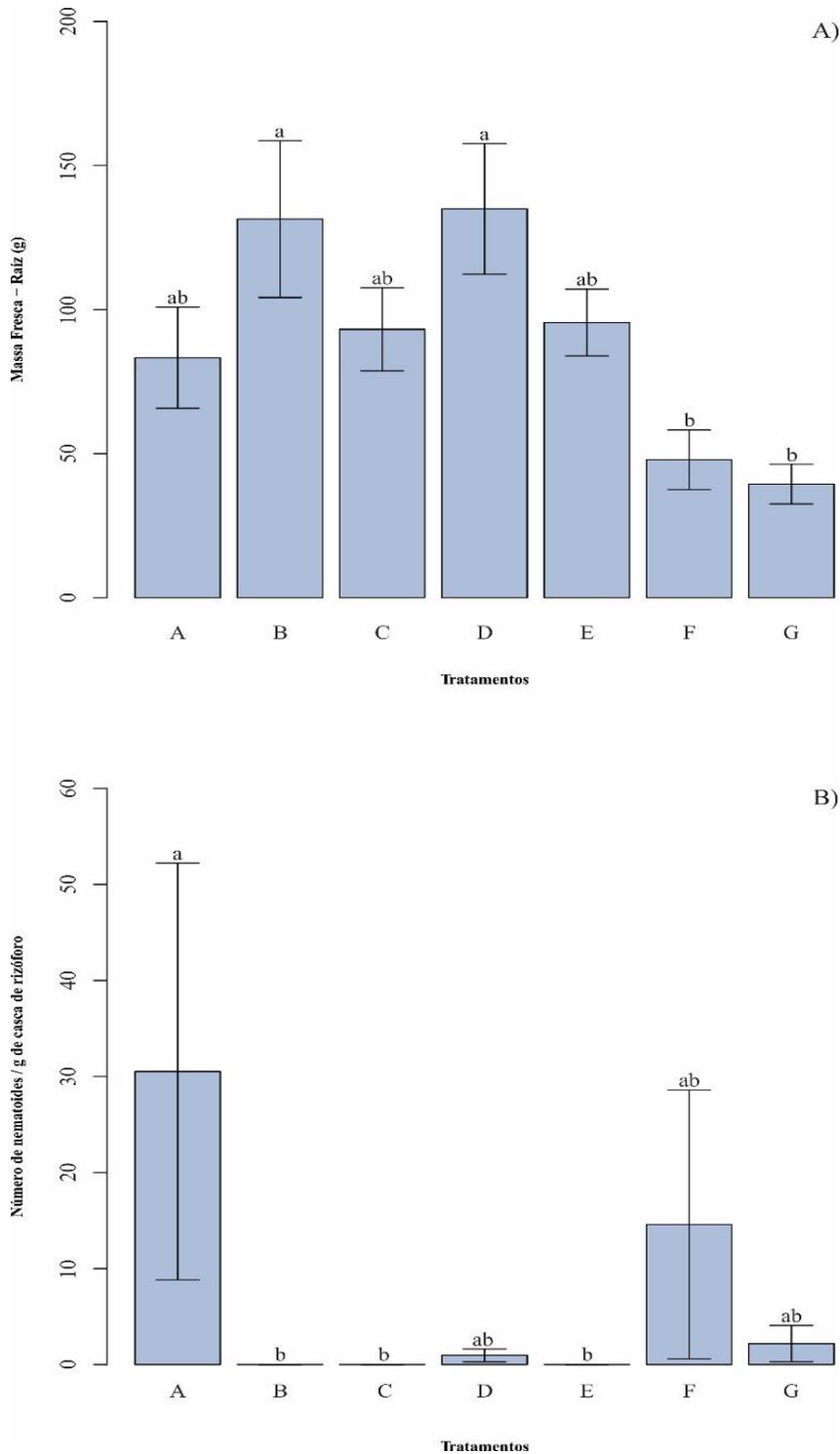
Os resultados obtidos neste estudo concordam parcialmente com aqueles descritos por Carmo (2009), que verificou uma redução de *S. bradys* em raízes de plantas de inhame, após a imersão por 6 a 15 h de rizóforos-semente infectados em manipueira a 100%. A autora não relatou o teor de cianeto no referido resíduo orgânico.

A aplicação de manipueira via tratamento do material de propagação poderá evitar a introdução dos nematoides causadores da casca-preta, em áreas isentas dos patógenos, contribuindo para o aumento da produtividade da cultura do inhame.

Tabela 2 - Valores médios \pm desvio padrão de população inicial de *Scutellonema bradys* e de *Pratylenchus coffeae* em 1 g de casca de rizóforos-semente de inhame; massa fresca das cascas dos rizóforos; população final de nematoides em 100 cm³ de solo; nematoides/g de raízes, após o tratamento dos rizóforos-semente com três concentrações de manipueira e dois períodos de imersão.

Variáveis - resposta	Testemunha	9 horas			12 horas		
	0%	25%	50%	100%	25%	50%	100%
População inicial	193,0 \pm 83,00	44,4 \pm 36,41	384,0 \pm 152,43	245,0 \pm 117,35	186,0 \pm 98,42	194,6 \pm 76,54	198,0 \pm 53,89
Massa fresca da casca de rizóforos	7,07 \pm 1,88	9,97 \pm 2,43	11,48 \pm 1,78	8,49 \pm 1,20	5,32 \pm 1,39	12,19 \pm 3,05	9,92 \pm 0,74
Número de nematoides no solo	20 \pm 20,00	0	0	10 \pm 10,00	0	0	0
Número de nematoides/ g de raiz	30,11 \pm 22,21	0,34 \pm 0,25	0,35 \pm 0,29	15,06 \pm 14,74	1,32 \pm 1,28	0,09 \pm 0,09	0,53 \pm 0,36

Figura 2 - Massa fresca do sistema radicular (A) e número de nematoides/g de casca de rizóforo (B) após o tratamento do material de propagação com diferentes concentrações de manipieira e tempos de imersão.



Tratamentos: A = testemunha, B = 25% + 9 horas, C = 25% + 12 horas, D = 50% + 9 horas, E = 50% + 12 horas, F = 100% + 9 horas, G = 100% + 12 horas. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis para comparações múltiplas (HOLLANDER; WOLFE, 1973) a $\alpha = 0,05$ de nível de significância.

3.3.2 Experimento 2

Na avaliação da População inicial (Pi) foi constatada a ocorrência simultânea de *S. bradys* e *P. coffeae*. A análise estatística não foi significativa, demonstrando uniformidade das populações dos nematoides nos rizóforos de inhame (Tabela 3). O percentual de brotação dos rizóforos foi de 100%.

As doses testadas do produto comercial Nemathel[®], para o tratamento do material de propagação, não apresentaram diferença significativa para a variável massa fresca da casca dos rizóforos. Observou-se ainda, que a aplicação do bioproduto não promoveu a redução da população final dos nematoides nas cascas dos rizóforos, mostrando-se as médias estatisticamente iguais à testemunha negativa, sem imersão dos rizóforos (Tabela 3).

Resultados similares foram encontrados por Vaz et al. (2011), que não obtiveram resultado positivo ao avaliarem o efeito de *B. subtilis* no controle de população pura e mista de *M. javanica* e *M. incognita*, em tomateiros. A microbiolização das sementes com a bactéria, não reduziu o número de galhas ou de ovos; assim como não influenciou no peso da parte aérea das plantas quando comparado com as testemunhas. Fenandes et al. (2014), ao avaliarem o efeito de *B. subtilis* por meio da microbiolização de sementes de tomateiro, também não observaram redução do número de galhas dos nematoides aos 45 dias após o transplante das mudas e infestação do solo, em condições de casa de vegetação; porém constataram redução de 62,6% do número de ovos de *M. incognita*. Segundo Freitas (2001) um dia apenas de microbiolização pode não ser suficiente para a colonização de sementes e produção de substâncias tóxicas inibidoras da eclosão e viabilidade dos juvenis de nematoides, o que pode ter ocorrido nesta pesquisa, pois os rizóforos-semente foram imersos por um período de 30 minutos.

Ao contrário do presente trabalho, diversos autores já comprovaram a eficiência de rizobactérias no controle de espécies de fitonematoides. Araújo; Silva; Araújo (2002), em ensaios realizados em laboratório observaram que a presença de *B. subtilis* reduziu a eclosão de juvenis de *Heterodera glycines* Ichinohe, estimulados com exsudatos de sementes de soja, e que o tratamento de raiz de soja com a bactéria inibiu a migração de juvenis de *H. glycines* para a planta, em comparação à raiz não tratada. Já nos ensaios de casa de vegetação, utilizando-se solo infestado com ovos do nematoide, observou-se uma redução de fêmeas na raiz de soja quando o solo ou sementes foram tratados previamente com formulação pó-molhável ou calda contendo *B. subtilis*, respectivamente.

Freitas et al. (2005) observaram que *B. cereus* reduziu o número de galhas de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, na cultura do tomateiro, quando comparado à testemunha, mas em contrapartida não apresentou efeito sobre *M. incognita* (Kofold; White) Chitwood. Os autores atribuíram o fato, a uma relação específica entre isolados de rizobactérias e espécies ou mesmo populações desse nematoide.

Estudos realizados por Mazzuchelli; Araujo (2013), com a aplicação de *B. subtilis* em solo evidenciaram que esta bactéria promoveu a redução da comunidade de fitonematoides em cana-de-açúcar de forma semelhante ao controle químico com carbofurano.

Araújo (2015) constatou a redução de uma população mista constituída de *Radopholus similis* (Cobb), Thorne, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp. e *Helicotylenchus* spp., ao realizar imersão de mudas de bananeira naturalmente infectadas em suspensões com *B. subtilis* por 30 minutos.

Em estudo realizado com um produto comercial a base de *B. subtilis* aplicado via tratamento de semente (350 mL ha^{-1}) e via foliar ($2,0 \text{ L ha}^{-1}$), foi observado efeito positivo do tratamento biológico na redução de *Pratylenchus* spp., *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp. e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, aos 30 dias após a semeadura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (OLIVEIRA et al., 2017).

A diferença entre os resultados encontrados na literatura e os obtidos na presente pesquisa pode ser atribuída a diversos fatores, dentre os quais, diferentes espécies de nematoide, ao período de aplicação dos tratamentos e a metodologia empregada, onde, *Bacillus* spp. foi usado diretamente no tratamento dos rizóforos-semente já infectados pelos fitonematoides, diferentemente da metodologia utilizada em outros trabalhos onde a rizobactéria foi aplicada em sementes saudáveis.

Embora o potencial de controle biológico dos nematoides da casca-preta-do-inhame não tenha sido demonstrado neste trabalho, novos estudos se fazem necessários, principalmente envolvendo novos métodos de aplicação, com maior tempo de imersão dos rizóforos-semente nos tratamentos.

Tabela 3 - População inicial (Pi) de *Scutellonema bradys* e de *Pratylenchus coffeae* em rizóforos-semente de inhame; massa fresca das cascas dos rizóforos; população final de nematoides da casca dos rizóforos, cinco meses após a imersão do material propagativo em rizóforos-semente em diferentes doses do bionematicida Nemathel[®]. Rio Largo - AL, 2016.

Tratamentos	População inicial de nematoides¹	Massa fresca da casca de rizóforos² (g)	População final de nematoides em casca de rizóforos²
1	522,5 a	21,0 a	1822,5 a
2	167,5 a	16,2 a	357,5 a
3	317,5 a	22,9 a	2640,0 a
4	37,5 a	16,0 a	95,0 b
5	177,5 a	14,2 a	662,5 a
CV (%)	93,36	60,28	97,44

¹Para análise estatística da Pi os dados foram transformados para $\sqrt{x} + 0,5$. ²Dados transformados para arco seno \sqrt{x} . Valores seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2017. Tratamentos: 1-50mL; 2-200mL; 3-250mL; 4-Carbofurano; 5-testemunha.

3.4 CONCLUSÕES

A manipueira apresentou atividade nematicida, mostrando-se eficiente no manejo das populações dos nematoides causadores da casca-preta-do-inhame. As concentrações do produto nos dois períodos de imersão: 25% - 09 horas; 25% e 50% - 12 horas) reduziram as populações de *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus coffeae*.

O tratamento dos rizóforos-semente com o bionematicida (Nemathel[®]) não apresentou potencial como agente de biocontrole de *S. bradys* e *P. coffeae* nas concentrações testadas.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. S. F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, v. 32, p. 197-202, 2002.
- ARAÚJO, J. J. S. **Uso de *Bacillus subtilis* no manejo de fitonematoides e efeito da solarização sobre *Pratylenchus coffeae* em mudas de bananeira**. 2015. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, 2015.
- BALDIN, E. L. L. et al. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. **Summa Phytopathologica**, v. 38, p. 36-41, 2012. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/sp/v38n1/v38n1a06>>. Acesso em: 7 Jan. 2014.
- BONFERRONI, C. E. **Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilità**. Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze, 8. ed. 1936. p. 3-62.
- BRANCO, S. M. Investigation on biological stabilization of toxic wastes from manioc processing. **Program Water Tehnology**, v. 11, p. 51-4, 1979.
- BRITO, T. T. et al. Composição centesimal de inhame (*Dioscorea* sp.) in natura e minimamente processado. **Scientia Plena**, v. 7, p. 1-7, 2011.
- CARMO, D. O. **Gama de plantas hospedeiras e controle do nematoide do inhame, *Scutellonema bradys*, com manipueira**. 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2009.
- CARVALHO, P. H. **Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro**. 2017. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2017.
- COMERLATO, A. P. **Efeito de manipueira no controle do nematoide de cisto da soja *Heterodera glycines* Ichinohe**. 2009. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR, 2009.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Centre, 1972. 77p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. Maringá, PR, v. 35, p. 271-276, 2013.

FERNANDES, R. H. et al. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 194-200, 2014.

FONSECA, W. L. Toxicity of manipueira to *Meloidogyne incognita* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, p. 413-420, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632016v4641867>>. Acesso em: 17 nov. 2016.

FORMENTINI, H. A. **Manipueira no controle de *Meloidogyne incognita* e no rendimento da figueira (*Ficus carica* L.) cv. Roxo de Valinhos no Oeste Paranaense**. 2009. 59f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR, 2009.

FREITAS, L. G. Rizobactérias versus nematóides. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 7., 2001. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2001, p. 25-35.

FREITAS, L. G. et al. Isolamento e seleção de rizobactérias para o controle de nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura do tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 215-220, 2005.

GARRIDO, M. S.; SOARES, A. C. F.; JESUS, O. N. Comparação da qualidade e produtividade de túberas de inhame (*Dioscorea cayannensis* Lam.) em três áreas de plantio no Município de Maragogipe – BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. 43., 2003, Recife, **Resumos...** Recife: S.B.O., 2003.

GONZAGA, V.; SANTOS, J. M.; SOARES, P. L. M. **Chave ilustrada para a identificação das seis espécies de *Pratylenchus* mais comuns no Brasil**. 2012. 7p. Disponível em: <<http://nematologia.com.br/wp-content/uploads/2012/08/chavigo.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2015.

HOLLANDER, M.; WOLFE, D. A. **Non-Parametric Statistical Methods**. New York: John Wiley and Sons, 1973. 503p.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, p. 692, 1964.

LACERDA, J. T. Espécies vegetais antagônicas e resíduos orgânicos como estratégias para o controle de nematoides na cultura do inhame (*Dioscorea* sp.). In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002. João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2002, v. 1, 312 p. 127-140.

MAI, W. F.; MULLIN, P. G. **Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera**. 5. ed. New York: Cornell University, p. 277, 1996.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; ARAUJO, F. F. Controle de fitonematoides por *Bacillus subtilis* em cana-de-açúcar. **Colloquium Agrariae**, v. 9, p. 29-35, 2013.

MENDES, L. N.; SILVA, J. A.; FAVERO, L. A. Panorama da produção e comercialização do inhame no mundo e no Brasil e sua importância para o mercado pernambucano: uma análise das cinco forças competitivas. 2013. Disponível em: <http://www.convibra.com.br/upload/paper/2013/30/2013_30_8413.pdf>. Acesso em: 11 fev. de 2016.

MENDIBURU, F. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.2-1, 2014. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>>. Acesso em: 22 nov. 2016.

MOURA, R. M. Doenças do inhame-da-Costa. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia** – doenças das plantas cultivadas. 5. ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016, v. 2, p. 477-483.

MOURA, R. M.; OLIVEIRA, I. S.; TORRES, G. R. C. Primeiro assinalamento de *Scutellonema bradys* em *Dioscorea alata* no Brasil, estabelecido no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 211, 2006.

MUNIZ, M. F. S. et al. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, v. 42, p. 198-200, 2012.

NASU, E. G. C.; FORMENTINI, H. M.; FURLANETTO, C. Effect of manipueira on tomato plants infected by the nematode *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 78, p. 193-197, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.08.005>>. Acesso em: 23 dez. 2016.

NORONHA, M. A.; MICHEREFF, S. J., MARIANO, R. L. R. Efeito do tratamento de sementes de caupi com *Bacillus subtilis* no controle de *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 174-178, 1995.

OLIVEIRA, G. R. F. et al. Influência do *Bacillus subtilis* no controle biológico de nematoides e aspectos produtivos do feijoeiro. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 11, p. 47-58, 2017.

PONTE, J. J.; TORRES, J.; FRANCO, A. Investigações sobre uma possível ação nematicida da manipueira. **Fitopatologia Brasileira**, v. 49, p. 431-434, 1979.

PONTE, J. J. Dosagem de manipueira para tratamento de linhas de cultivo em solo infestado de *Meloidogyne*. **Nematologia Brasileira**, v. 19, p. 81-85, 1995. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/nbonline/ol%2019u/81-85%20pb.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2016.

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<http://www.R-project.org.2>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

ROLDI, M. et al. Agroindustrial waste and sewage sludge can control *Pratylenchus brachyurus* in maize. **Acta Scientiarum Scandinavica – Section B – Soil and Plant Science**, v. 63, p. 283-287, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/09064710.2012.751449>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

SANTOS, E. S. Manejo Sustentável da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DE INHAME E TARO, 2. 2002. João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa, PB: EMEPA-PB, 2002, v. 1, p. 181-195.

SANTOS, E. S. et al. Inhame (*Dioscorea* sp.) tecnologias de produção e preservação ambiental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 1, p. 31-36, 2007.

SHARMA, R. D.; GOMES, A. C. Controle biológico de *Meloidogyne arenaria* com *Pausteria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, v. 23, p. 47-52, 1999.

SOARES, A. C. F. et al. *Scutellonema bradys* em Cará-Doce (*Dioscorea trifida* L.). **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 192-194, 2006.

STIRLING, G. R. **Biological Control of Plant Parasitic Nematodes: Progress, Problems and Prospects**. Wallingford, UK: CAB International, 1991. 282 p.

VAZ, M. V. et al. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão**, v. 1, p. 203-212, 2011.

4 Extratos aquosos de *Annona* spp. e *Croton heliotropiifolius* sobre *Scutellonema bradys* e prospecção química dos compostos

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade nematicida de extratos aquosos de *Annona* spp. e de *Croton heliotropiifolius* a *Scutellonema bradys* e verificar as classes de compostos secundários presentes nesses extratos. Em três ensaios foram testados extratos de folhas de velame (*C. heliotropiifolius*), soncoya (*A. purpurea*), araticum-do-brejo (*A. glabra*), pinha (*A. squamosa*) e biribá (*A. mucosa*); extrato de caule de velame; extrato de casca do caule de soncoya, nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100 %. Em cavidades de placas de Kline foram colocados 200 µL de extrato e 20 nematoides e após 24 horas os espécimes que permaneceram imóveis foram quantificados e transferidos para água destilada, sendo considerados mortos aqueles que não recuperaram o movimento após 24 horas de incubação. A triagem fitoquímica dos extratos foi realizada pela metodologia da prospecção preliminar, realizando testes para identificação de metabólitos. O extrato de caule de velame não apresenta efeito nematicida sobre *S. bradys*, enquanto os demais causam imobilidade e mortalidade. A prospecção química demonstra a presença de taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis, catequinas, flavononas, triterpenoides e saponinas.

Palavras-chave: *Dioscorea* spp. Casca-preta-do-inhame. Controle alternativo. Metabólitos secundários.

4 Aqueous extracts of *Annona* spp. and *Croton heliotropiifolius* against *Scutellonema bradys* and chemical prospecting of compounds

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the *in vitro* nematicidal activity of aqueous extracts from *Annona* spp. and *Croton heliotropiifolius* against *Scutellonema bradys*, and to verify the classes of secondary compounds contained in these extracts. Three experiments were carried out including the following materials: leaves of velame (*C. heliotropiifolius*), soncoya (*A. purpurea*), swamp apple (*A. glabra*), custard apple (*A. squamosa*) and wild sweetsop (*A. mucosa*); stems of velame; and tree bark of soncoya, at concentrations of 0, 25, 50, 75 and 100 %. The bioassays were conducted in Kline slides by adding 200 μ L of each concentration treatment and 20 nematodes per concavity. After 24 h of exposure the immobile individuals were quantified and transferred to destiled water for 24 h. Specimens that remained paralyzed after this period of incubation were considered dead. Phytochemical analysis was performed using the methodology of preliminary prospecting with tests for identification of metabolites. The extract from stems of *C. heliotropiifolius* did not show nematicidal effect against *S. bradys* while all other extracts cause immobility and mortality. The chemical screening reveal the presence of flobafenic tannins, flavones, flavonoids, xanthones, flavononois, catechins, flavonones, triterpenoids and saponins.

Palavras-chave: *Dioscorea* spp. Dry rot of yam. Alternative control. Secondary metabolites.

4.1 INTRODUÇÃO

Entre os principais problemas fitossanitários que afetam o cultivo do inhame (*Dioscorea* spp.) no Brasil, destaca-se a casca-preta ou podridão-seca, causada por *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew), *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven e *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven (MOURA, 2016). Em Alagoas, ocorrem populações mistas das referidas espécies de fitonematoides e a enfermidade encontra-se amplamente distribuída nas principais áreas produtoras de inhame do estado (MUNIZ et al., 2012).

Os sintomas iniciais da doença se manifestam na forma de lesões amareladas abaixo da epiderme dos rizóforos, os quais se tornam marrons a negros quando a podridão-seca progride. Rachaduras externas também ocorrem, e em casos severos, total deterioração dos rizóforos pode ocorrer durante o armazenamento. Os nematoides também se alimentam nos tecidos das raízes, mas nenhum sintoma foliar tem sido observado em plantas de inhame cultivadas em áreas infestadas (BRIDGE; STARR, 2007).

O controle da doença baseia-se em técnicas de exclusão. O plantio de rizóforos-semente sadios, em solos livres de nematoides é o princípio fundamental para o controle, mas a dificuldade de obtenção desse tipo de material torna essa prática pouco viável (MOURA, 2016). Atualmente não existem nematicidas registrados, no Brasil, para uso em cultivos de inhame (AGROFIT, 2017).

Outra alternativa possível de controle de fitonematoides é a utilização de extratos vegetais. Vários exemplos de plantas com potencial para a produção de nematicidas naturais são encontrados na literatura científica, apresentando substâncias como alcaloides, diterpenos, ácidos graxos, glucosinolatos, isotiocianatos, compostos fenólicos, dentre outros (FERRAZ et al., 2010; SINGH; PRASAD, 2014).

O gênero *Croton*, pertencente à família Euphorbiaceae, é largamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais (LIMA; PIRANI, 2008) e suas espécies são ricas em metabólitos secundários, dentre os quais as proantocianidinas, terpenos, alcaloides, flavonas e outros compostos fenólicos (DAL BÓ, 2004). Entre as atividades conferidas ao gênero *Croton* encontra-se a anti-helmíntica (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007). Por outro lado, espécies da família Annonaceae também se destacam pelos variados tipos de metabólitos secundários, como alcaloides, acetogeninas, flavonoides, óleos essenciais, diterpenos e lignoides (COSTA et al., 2011; DANG et al., 2011) com importantes atividades biológicas,

tais como, pesticida, vermícida e antimicrobiana (SANTOS; PIMENTA; BOAVENTURA, 2007).

Considerando a escassez de estudos relacionados ao uso de extratos vegetais com os nematoides causadores da casca-preta-do-inhame e visando contribuir para o desenvolvimento de novas alternativas para o manejo da doença, o presente trabalho teve por objetivos avaliar o efeito nematicida *in vitro* dos extratos aquosos de folhas e caule de velame (*C. heliotropiifolius* Kunth.); de folhas e casca do caule de soncoya (*Annona purpurea* Moc. & Sesse); e de folhas de araticum-do-brejo (*A. glabra* L.), de pinha (*A. squamosa* L.) e de biribá (*A. mucosa* Jacq.) sobre *S. bradys* e verificar as classes de compostos secundários presentes nesses extratos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Local do experimento

Os experimentos foram realizados no laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), localizado no município de Rio Largo – AL, e no laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Departamento de Química da UFAL.

4.2.2 Local de coleta e processamento das partes das plantas utilizadas no experimento

A coleta das partes vegetais de *C. heliotropiifolius* foi realizada no município de Arapiraca, AL, e uma amostra da espécie foi depositada no MAC Herbário do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (nº 54392), enquanto que as anonáceas foram obtidas em uma coleção pertencente ao CECA/UFAL. Posteriormente, as estruturas vegetais foram desidratadas em estufa, com circulação de ar, a 45°C por 24 horas. Após a secagem, foram trituradas em moinho elétrico “de facas” para a obtenção de um pó fino, identificadas e armazenadas separadamente por parte e/ou espécie em recipientes escuros, hermeticamente fechados.

4.2.3 Obtenção dos extratos aquosos

Os extratos aquosos foram preparados de acordo com o método descrito por Ferris; Zheng (1999), com modificações. Para isto, foi utilizado um béquer de vidro com capacidade para 100 mL, onde foram depositados 5 g do pó seco de cada uma das partes da planta, e adicionado a este material 50 mL de água destilada. Esta mistura foi mantida em repouso por 24 horas. Após este período, procedeu-se a filtragem dos extratos em papel de filtro e posteriormente utilizados para a realização da triagem fitoquímica dos compostos presentes nos extratos e realização do teste *in vitro*.

4.2.4 Obtenção dos juvenis e adultos de *Scutellonema bradys* para os testes *in vitro*

A população de *S. bradys* foi obtida de rizóforos de inhame infectados, provenientes de feiras livres localizadas na cidade de Maceió, Alagoas. Para extração do nematoide, segmentos da casca de rizóforos foram triturados em liquidificador e centrifugados em sacarose, de acordo com o método proposto por Coolen; D'Herde (1972). O nematoide foi identificado com o auxílio de lâmina de Peters, em microscópio de luz.

4.2.5 Ensaio *in vitro* para a avaliação da atividade nematicida de extratos aquosos sobre a imobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys*

Os ensaios foram conduzidos em placas de Kline, colocando-se separadamente em cada cavidade, 200 µL de um dos respectivos tratamentos juntamente com 20 (juvenis e/ou adultos) de *S. bradys*, obtidos pela metodologia descrita anteriormente. No tratamento testemunha foi adicionado apenas água destilada e os espécimes de nematoides.

Três experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado e em cinco repetições. A parcela experimental foi formada por uma cavidade da placa de Kline. O primeiro experimento consistiu de um fatorial 5 x 5, para testar o efeito de cinco espécies vegetais (*C. heliotropiifolius*, *A. purpurea*, *A. glabra*, *A. squamosa* e *A. mucosa*) e cinco concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%), no componente folha. O segundo experimento consistiu da avaliação das concentrações obtidas do extrato do caule da espécie *C. heliotropiifolius* e o terceiro, da casca do caule de *A. purpurea*, utilizando as mesmas concentrações.

As placas de Kline (Figura 3) foram mantidas em placas de Petri forradas com uma camada de papel-toalha umedecido para evitar a evaporação dos extratos, à temperatura

ambiente e, após 24 horas foi feita a contagem dos nematoides imobilizados com auxílio de microscópio de luz com objetivas invertidas. Espécimes que permaneceram imóveis foram transferidos para cavidades da placa contendo apenas água destilada, sendo considerados mortos os nematoides que não recuperaram o movimento após 24 horas de incubação.

Figura 3. Placa de vidro do tipo Kline.



Foto: autora (2016).

Apenas os dados dos experimentos 1 e 3 foram submetidos à análise de variância, uma vez que no segundo deles, todos os valores observados para as duas variáveis aleatórias foram iguais a zero. Inicialmente, as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto à sua homogeneidade por meio do teste de Bartlett, e a normalidade, por meio do teste de Shapiro-Wilk. A hipótese da nulidade foi rejeitada para ambos os testes. A heterogeneidade das variâncias está associada à obtenção de mesmos valores para as variáveis aleatórias observadas nas diferentes repetições, nesse caso, mesmo aplicando transformações aos dados essa hipótese não seria atendida. Uma alternativa para testar a hipótese de nulidade dos tratamentos foi a aplicação de modelos lineares generalizados, por permitir a análise dos dados que possuem distribuições diferentes da normal e também não dependem necessariamente das pressuposições exigidas para a aplicação da análise de variância. Assim, a análise de dados foi composta por uma análise de variância em relação apenas aos efeitos principais (sem considerar interação) e análises de regressão para imobilidade e mortalidade do nematoide, como variáveis dependentes das concentrações dos extratos. Os testes estatísticos foram realizados no *software* SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

4.2.6 Prospecção química dos extratos aquosos

Para a realização da etapa de triagem fitoquímica e identificação dos principais grupos químicos dos extratos aquosos, utilizados no ensaio *in vitro*, tomou-se como base, a metodologia descrita por Matos (1989), com algumas alterações, a fim de realizar prospecção dos seguintes aleloquímicos: fenóis, taninos pirogálicos, taninos flobafênicos, antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, flavonóis, xantonas, esteroides, triterpenoides e saponinas.

De cada extrato, foram separadas sete amostras de 3 mL e uma amostra de 10 mL em tubos de ensaio, as quais sofreram processos de acidificação ou alcalinização, entre outros. A indicação da formação de espuma e mudança da cor foram as características para a determinação da presença ou ausência de metabólitos secundários nas amostras.

4.2.6.1 Testes para fenóis, taninos pirogálicos e taninos flobafênicos

Para a determinação de fenóis, taninos pirogálicos e taninos flobafênicos em uma amostra, foram colocadas três gotas de solução alcoólica de cloreto de ferro (FeCl_3), após agitação foi observada a ocorrência de variação de cor ou formação de precipitado abundante escuro. A coloração entre o azul e o vermelho seria indicativa de fenóis, precipitado escuro de tonalidade azul seria indicativa da presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde da presença de taninos flobafênicos (taninos condensados ou catéquicos). Para comparação foi realizado um teste em branco usando apenas água e o cloreto férrico.

4.2.6.2 Teste para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flavononóis.

Para a identificação de antocianina e antocianidina; flavonas, flavonóis e xantonas; chalconas e auronas; e flavononóis, uma amostra foi acidificada com algumas gotas de ácido clorídrico (HCl) a pH 3, uma amostra foi alcalinizada a pH 8,5 e outra alcalinizada a pH 11, ambas através da adição de hidróxido de sódio (NaOH). A alteração da cor do extrato para cor vermelha na primeira amostra, acompanhada das cores lilás na segunda e azul-púrpura na terceira, seria indicativa da presença de antocianinas e antocianidina. A cor amarela na terceira amostra, sem mudança de cor nas demais, indicaria a presença de flavonas, flavonóis

e xantonas. A cor vermelha na primeira amostra, seguida de vermelho-púrpura na terceira, indicaria a presença de chalconas e auronas. A cor vermelho-laranja na terceira amostra, sem alteração na cor das demais amostras, indicaria a presença de flavononóis (Tabela 4).

Tabela 4 - Coloração ilustrativa para a presença dos constituintes químicos antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flavononóis.

Constituintes	Valores de pH		
	Ácido (pH 3)	Alcalinizado (pH 8,5)	Alcalinizado (pH 11)
Antocianinas e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul/púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Vermelho/púrpura
Flavononóis	-	-	Vermelho/laranja

Fonte: Matos (1989).

4.2.6.3 Teste para leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas

Para testar a presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas, uma amostra foi acidificada adicionando-se algumas gotas de ácido clorídrico (HCl) até pH 2 e outra amostra alcalinizada com algumas gotas de hidróxido de sódio (NaOH) a pH 11. Ambas as amostras foram aquecidas com o auxílio de uma lamparina a álcool durante três minutos. Após o aquecimento, a cor vermelha na amostra acidificada indicaria a presença de leucoantocianidinas, a cor pardo-amarela na mesma amostra seria indicativa da presença de catequinas e a cor vermelho-alaranjada seria indicativa da presença de flavononas (Tabela 5).

Tabela 5 - Coloração ilustrativa para a presença dos constituintes químicos leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.

Constituintes	Cor do meio	
	Ácido (pH 2)	Alcalino (pH 11)
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas	pardo-amarelada	-
Flavanonas	-	Vermelho-laranja

Fonte: Matos (1989).

4.2.6.4 Testes para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Para identificar a presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas foi adicionado a uma amostra, uma pequena fita de magnésio e 1,0 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl). Após o término da reação, indicada pela total efervescência de consumo da fita, a amostra foi comparada a uma amostra acidulada a pH 2. O aparecimento ou a intensificação de cor vermelha indicativa de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

4.2.6.5 Teste para esteroides, triterpenoides e saponinas

Para os testes de esteroides e triterpenos, as amostras de 10 mL foram evaporadas e os resíduos extraídos com 2 mL de clorofórmio por três vezes, filtrada em funil com algodão, coberta com alguns decigramas de sulfato de sódio (Na_2SO_4), seco em estufa a 50°C. Foi adicionado às amostras 1 mL de anidrido acético (CH_3COOH) e três gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4), após agitação mecânica, a coloração azul evanescente seguida de verde permanente indicaria a presença de esteroides livres. A coloração parda até vermelha é indicativa triterpenoides pentacíclicos livres.

Para os testes de saponinas, o resíduo insolúvel em clorofórmio, separado na operação anterior, foi ressuspensionado em 8 mL de água destilada e a solução foi filtrada para um tubo de ensaio. Agitou-se mecanicamente o tubo com a solução por três minutos e observou-se a formação de espuma, a qual, sendo persistente e abundante (colarinho), indica presença de saponinas (esteroides saponínicos).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Testes *in vitro*

Observou-se significância quanto à imobilidade e mortalidade de *S. bradys* em relação aos diferentes extratos vegetais e concentrações (Tabelas 6, 7, 8), exceto para o extrato do caule de velame, cujos valores foram iguais a zero. Entretanto, os maiores percentuais de mortalidade do nematoide foram observados nos extratos de folhas de araticum-do-brejo, soncoya e velame (Tabela 7; Figura 4). O extrato da casca do caule de soncoya também

apresentou atividade nematostática e nematicida, com mortalidade acima de 80%, nas concentrações de 75 a 100% (Figura 5).

Tabela 6 - Síntese da análise de variância para imobilidade e mortalidade de espécimes de *Scutellonema bradys*, empregando diferentes extratos vegetais foliares e concentrações.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio	
		Imobilidade	Mortalidade
Espécies vegetais	4	1225,32*	9107,15*
Concentração	4	45041,10*	22831,70*

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Tabela 7 - Imobilidade e mortalidade de espécimes de *Scutellonema bradys* após 24 horas de exposição a extratos aquosos obtidos de folhas de cinco espécies vegetais, seguido de incubação em água.

Extratos	Imobilidade (%)	Mortalidade (%)
Biriba	64,40 c	23,24 c
Araticum-do-brejo	68,84 cb	66,04 a
Soncoya	77,16 ba	67,36 a
Velame	79,80 a	60,36 a
Pinha	79,80 a	40,68 b

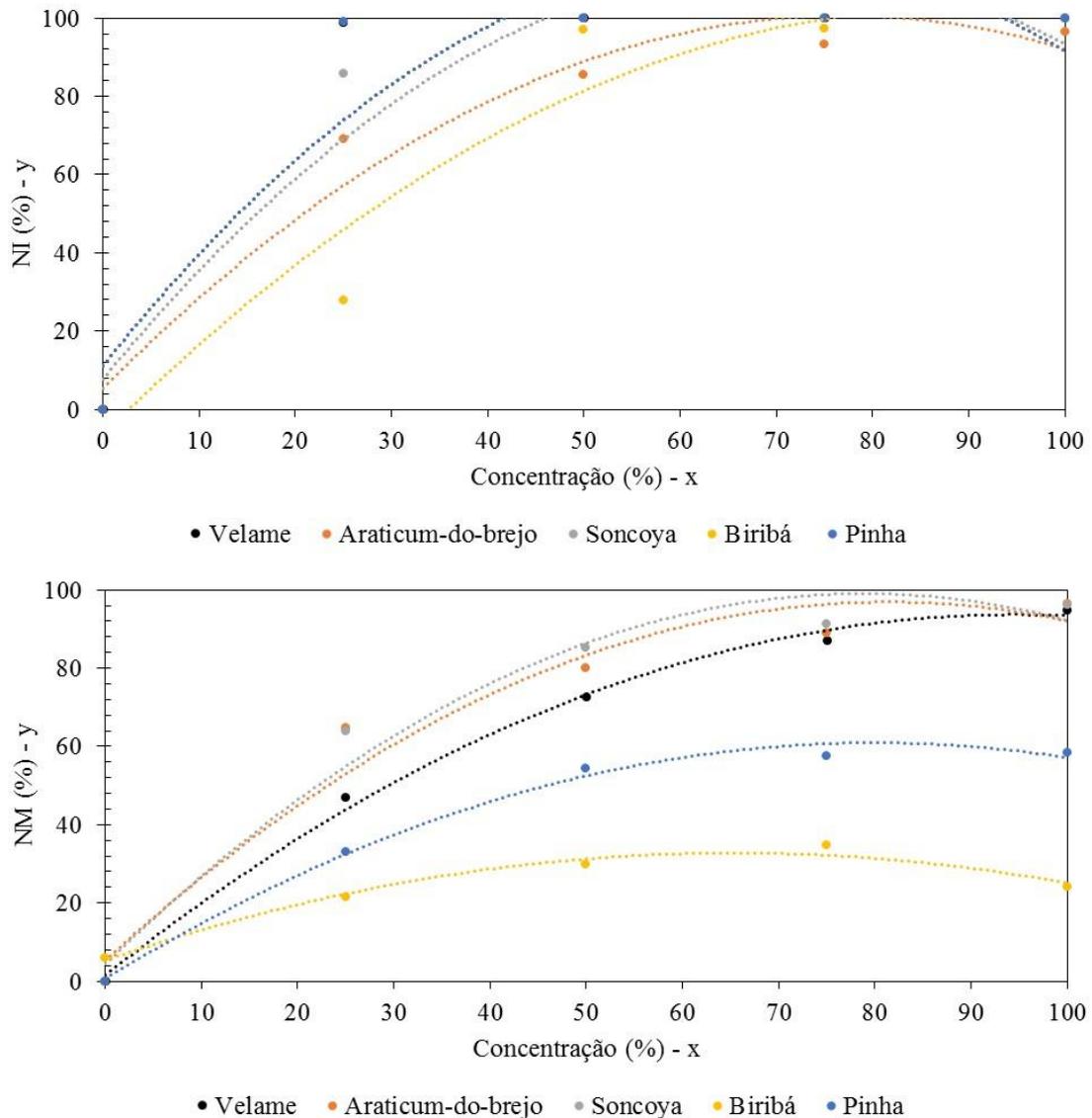
Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Síntese da análise de variância para imobilidade e mortalidade de espécimes de *Scutellonema bradys* em diferentes concentrações do extrato de casca do caule de soncoya (*Annona purpurea*).

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio	
		Imobilidade	Mortalidade
Concentração	4	12356,2*	9125,24*

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

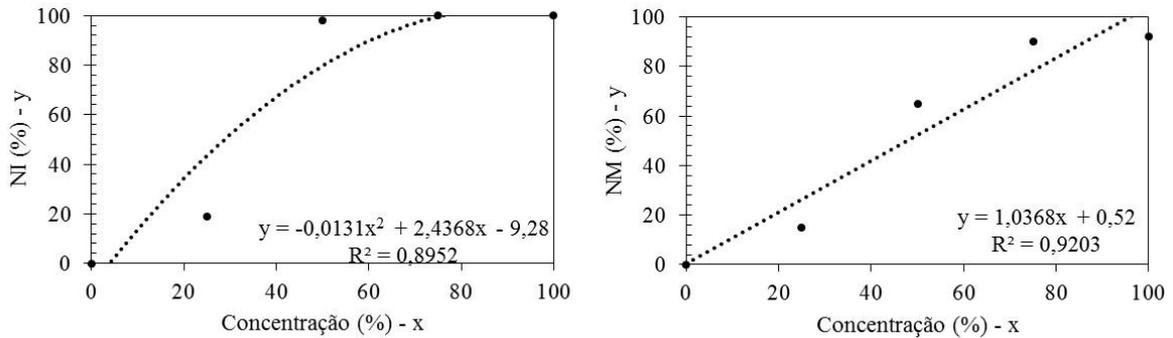
Figura 4 - Imobilidade (NI) e mortalidade (NM) de *Scutellonema bradys* em resposta a diferentes concentrações (0, 25, 59, 75 e 100%) de extratos aquosos oriundos de folhas.



Imobilidade: Velame: $y = -0,0227x^2 + 3,0783x + 11,171$ ($R^2 = 0,8628$); Araticum-do-brejo: $y = -0,0161x^2 + 2,4749x + 5,3543$ ($R^2 = 0,9605$); Soncoya: $y = -0,0212x^2 + 2,9802x + 7,7771$ ($R^2 = 0,929$); Biribá: $y = -0,0136x^2 + 2,4376x - 6,48$ ($R^2 = 0,9299$); Pinha: $y = -0,0227x^2 + 3,0783x + 11,171$ ($R^2 = 0,8628$).

Mortalidade: Velame: $y = -0,0103x^2 + 1,9501x + 1,5143$ ($R^2 = 0,9964$); Araticum-do-brejo: $y = -0,0138x^2 + 2,2509x + 5,3543$ ($R^2 = 0,9581$); Soncoya: $y = -0,0152x^2 + 2,4038x + 4,3429$ ($R^2 = 0,9722$); Biribá: $y = -0,0064x^2 + 0,8399x + 5,3314$ ($R^2 = 0,9774$); Pinha: $y = -0,0094x^2 + 1,5096x + 0,6$ ($R^2 = 0,9938$).

Figura 5 - Imobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys* em resposta a diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) do extrato aquoso obtido de casca do caule de soncoya.



A utilização de extratos aquosos sobre *S. bradys*, já foi relatada por Coimbra et al. (2006), ao testarem *in vitro* extratos de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), hortelã (*Mentha piperita* L.), bulbilhos do alho (*Allium sativum* L.), sementes e folhas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) e casca de gliricídia (*Gliricidia sepium* Jacq. Steud), os quais foram capazes de inibir a mobilidade e causar mortalidade ao nematoide. Entretanto, não é possível fazer uma análise comparativa entre o resultado desse experimento e os dados ora apresentados, por envolverem extratos provenientes de diferentes espécies vegetais.

4.3.2 Prospecção química dos extratos aquosos

A abordagem fitoquímica revelou semelhança de grupos de compostos químicos entre os extratos avaliados (Tabela 9). O extrato aquoso de folhas de velame apresentou positividade para taninos flobafênicos, flavonas, flavonois, xantonas, catequinas e saponinas, porém, o extrato da casca do caule da referida planta foi positivo apenas para flavonas, flavonois, xantonas e saponinas. Slomp et al. (2009), em ensaios *in vitro* observaram que o extrato etanólico de folhas de *Croton antisiphiliticus* Mart. causou mortalidade em populações de *Pratylenchus zae* Graham. e *P. jaehni* Inserra, Duncan, Troccoli, Dunn, Santos, Kaplan & Vovlas. No referido extrato, os autores detectaram a presença de flavonoides e taninos. Angélico (2011), ao realizar a prospecção química do óleo essencial de folhas de velame, revelou a presença de terpenoides (monoterpenos e sesquiterpenos), os quais não foram detectados nas análises da mesma espécie pesquisada.

No presente trabalho, os extratos de folhas de araticum-do-brejo e de pinha apresentaram positividade para taninos flobafênicos, flavonas, flavonois, xantonas, catequinas e saponinas. Matsumoto et al. (2010) também verificaram a presença de taninos e flavonoides

em extrato metanólico de folhas de araticum-do-brejo, corroborando com os dados encontrados no presente estudo. Por outro lado, Brito et al. (2008) ao realizarem a análise fitoquímica do extrato etanólico de folhas de pinha, também comprovaram positividade para flavonas, flavonóis, xantonas e saponinas.

A triagem fitoquímica do extrato aquoso de folhas de biribá detectou os mesmos metabólitos dos extratos anteriores (taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, catequinas e saponinas), sendo ainda positivo para triterpenoides, enquanto o extrato de folhas e casca do caule de soncoya foi positivo para taninos flobafênicos, flavononóis, catequinas, flavononas e saponinas.

Muitos dos metabólitos secundários identificados na prospecção química dos extratos testados na presente pesquisa estão relacionados a várias ações e alguns desses compostos possuem ação nematicida comprovada, como é o caso dos taninos e terpenos (FERRAZ et al., 2010). Hoste et al. (2006) afirmam que o efeito anti-helmíntico de taninos é atribuído à sua capacidade de ligação com proteínas da cutícula, cavidade oral, esôfago, cloaca e vulva dos nematoides, alterando suas propriedades físicas e químicas. Atividade anti-helmíntica também já foi imposta aos compostos flavonoides e flavonas (SILVA et al., 2008; AYERS et al., 2008). Outras funções biológicas também podem ser atribuídas aos flavonoides, como, por exemplo, a proteção contra fungos, bactérias e insetos (SILVA et al., 2014). No que diz respeito aos triterpenoides e seus derivados, esses compostos já demonstraram atividade contra fitonematoides (LI et al., 2013; BEGUM et al., 2015).

O efeito nematicida dos extratos testados, sobre espécimes de *S. bradys*, provavelmente está associado à ação de metabólitos secundários, como taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis, catequinas, flavononas, triterpenoides e saponinas. Conforme Chitwood (2002) compostos fenólicos, terpenoides e triterpenoides apresentam ação nematicida e estão envolvidos na defesa de plantas contra fitopatógenos.

A ausência de atividade nematicida do extrato de caule do velame a *S. bradys*, pode estar associada ao composto tanino, não detectado durante a realização da prospecção química ou à baixa concentração de alguns compostos, devido ao extrator químico empregado e à forma de preparo dos extratos. Segundo Chitwood (2002), os taninos são constituintes químicos conhecidos por apresentarem ação nematicida.

Os novos extratos aquosos ora apresentados e com efeito nematicida contra *S. bradys* servirão como referência, para estudos posteriores em casa de vegetação e campo visando o manejo da casca-preta-do-inhame.

Tabela 9 - Resultados da prospecção química dos extratos aquosos de diferentes partes das plantas de velame (*Croton heliotropiifolius*), araticum-do-brejo (*Annona glabra*), soncoya (*A. purpurea*), pinha (*A. squamosa*) e biribá (*A. mucosa*).

	Espécies Vegetais						
	<i>C. heliotropiifolius</i>		<i>A. glabra</i>	<i>A. purpúrea</i>		<i>A. squamosa</i>	<i>A. mucosa</i>
	Folhas	Caule	Folhas	Folhas	Casca do caule	Folhas	Folhas
Compostos fitoquímicos							
Fenóis	-	-	-	-	-	-	-
Taninos pirogálicos	-	-	-	-	-	-	-
Taninos flobafênicos	+	-	+	+	+	+	+
Antocianina e antocianidina	-	-	-	-	-	-	-
Flavonas, flavonois e xantonas	+	+	+	-	-	+	+
Chalconas e auronas	-	-	-	-	-	-	-
Flavononois	-	-	-	+	+	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	-	-	-	-
Catequinas	+	-	+	+	+	+	+
Flavononas	-	-	-	+	+	-	-
Flavonois, flavononas, flavonois e xantonas	-	-	-	-	-	-	-
Esteroides	-	-	-	-	-	-	-
Triterpenoides	-	-	-	-	-	-	+
Saponinas	+	+	+	+	+	+	+

Presença (+) ou ausência (-) de metabólitos secundários.

4.4 CONCLUSÕES

Os extratos aquosos de folhas e casca do caule de soncoya, de folhas de velame, araticum-do-brejo, pinha e biribá foram capazes de causar imobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys*.

O extrato aquoso de caule de velame não apresentou efeito nematicida sobre *S. bradys*.

A prospecção química dos extratos demonstrou a presença de taninos flobafênicos, flavonas, flavonois, xantonas, flavononois, catequinas, flavononas, triterpenoides e saponinas.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_con>. Acesso em: 28 fev. 2017.
- ANGÉLICO, E. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de *Croton heliotropifolius* Kuntze e *Croton blanchetianus* Baill.** 2011. 86p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde Tecnologia Rural, Patos, 2011.
- AYERS, S. Flavones from *Struthiola argentea* with anthelmintic activity in vitro. **Phytochemistry**, v. 69, p. 541-545, 2008.
- BEGUM, S. Nematicidal triterpenoids from *Lantana camara*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, p. 1435-1442, 2015.
- BRIDGE, J.; STARR, J. L. Yams (*Dioscorea* spp.). In: BRIDGE, J.; STARR, J. L. **Plant nematodes of agricultural importance – a color handbook**. London: Academic Press, 2007. p. 79-83.
- BRITO, H. O. Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, p. 180-184, 2008.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 288-294, 2007.
- CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221-249, 2002.
- COIMBRA, J. L. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1209-1211, 2006.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Centre, 1972. 77p.
- COSTA, E. V. Trypanocidal activity of Oxoaporphine and Pyrimidine- β -Carboline Alkaloids from the branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, p. 9714-9720, 2011.

DAL BÓ, S. **Avaliação da atividade antinociceptiva da subfração 63 (SF63) obtida a partir das cascas de *Croton celtidifolius* (Euphorbiaceae): estudo do mecanismo de ação.** 2004. 88p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

DANG, Q. L. Nematicidal and antifungal activities of annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* against various plant pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, p. 11160-11167, 2011.

FERRAZ, S. **Manejo sustentável de fitonematoídeos.** Viçosa: UFV, 2010. 306p.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 241-63, 1999.

HOSTE, H. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 22, p. 253-261, 2006.

LI, W. Isolation of nematicidal triterpenoid saponins from *Pulsatilla koreana* root and their activities against *Meloidogyne incognita*. **Molecules**, v.18, p. 5306-5316, 2013.

LIMA, L. R.; PIRANI, J. R. Revisão taxonômica de *Croton sect. Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s.). **Biota Neotropica**, v. 8, p. 177-231, 2008.

MATOS, J. M. D; MATOS, M. E. O. **Farmacognosia: curso teórico – prático.** Fortaleza: Edições UFC, 1989. 245p.

MATSUMOTO, R. S. Potencial alelopático do extrato foliar de *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 631-635, 2010.

MOURA, R. M. Doenças do inhame-da-Costa. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia – doenças das plantas cultivadas.** 5. ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 477-483.

MUNIZ, M. F. S. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, v. 42, p. 198-200, 2012.

SANTOS, L. A. R.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogeninas de anonáceas bioativas isoladas das sementes de *Annona cornifolia* A. St. Hil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, p. 48-51, 2007.

SILVA, V. C. Atividade anti-helmíntica dos flavonoides isolados das raízes de *Andira anthelmia* (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 573-576, 2008.

SILVA, S. L. C. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Biotemas**, v. 27, p. 79-85, 2014.

SINGH, A. U.; PRASAD, D. Management of plant-parasitic nematodes by the use of botanicals. **Journal of Plant Physiology & Pathology**, v. 2, p. 1-10, 2014.

SLOMP, L. In vitro nematocidal effects of medicinal plants from São Paulo state, Brazil. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, p. 230-235, 2009.