



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



Luiz Carlos Santos Filho

EFEITO DE EXTRATOS DE *Croton* spp. SOBRE *Scutellonema bradys* E *Pratylenchus* sp. E CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DE *C. heliotropiifolius*

Rio Largo, AL
2019

LUIZ CARLOS SANTOS FILHO

EFEITO DE EXTRATOS DE *Croton* spp. SOBRE *Scutellonema bradys* E *Pratylenchus* sp. E CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DE *C. heliotropifolius*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz

Co-orientador: Dr. João Gomes da Costa

Rio Largo, AL
2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecário: Erisson Rodrigues de Santana

S237e Santos Filho, Luiz Carlos

Efeito de extratos de *Croton* spp. sobre *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus* sp. e caracterização fitoquímica de extratos de *C. heliotropiifolius*. Rio Largo - AL – 2019.

43 f.; il; 33 cm

Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2019.

Orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Maria de Fátima Silva Muniz.

Co-orientador: Dr. João Gomes da Costa.

1. *Dioscorea* spp. 2. Casca-preta. 3. Controle alternativo. 4. CLUE.
5. Compostos fenólicos. I. Título.

CDU: 633.496 C

Folha de Aprovação

LUIZ CARLOS SANTOS FILHO

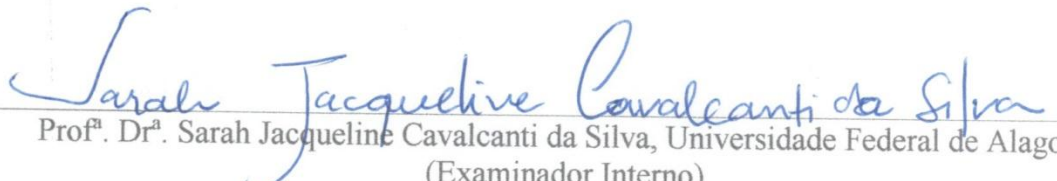
EFEITO DE EXTRATOS DE *Croton* spp. SOBRE *Scutellonema bradys* E *Pratylenchus* sp. E
CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DE *C. heliotropiifolius*

Dissertação submetida ao corpo docente do
Programa de Pós-Graduação em Proteção de
Plantas da Universidade Federal de Alagoas e
aprovada em 28 de março de 2019.


Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Silva Muniz, Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)

Banca examinadora:


Prof.^a Dr.^a Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa, Universidade Federal de Alagoas
(Examinador Externo)


Prof.^a Dr.^a Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva, Universidade Federal de Alagoas
(Examinador Interno)

DEDICO

A Deus, minha mãe, família e amigos;
Companheiros de toda uma vida.
Com carinho.
Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Primeiramente a Deus por ter me concedido saúde, sabedoria, força e paciência, por ter sempre me guiado ao melhor caminho, e por todos os momentos em que esteve presente na minha vida, considero-o como maior mestre.

Agradeço a minha amada mãe Maria José, heroína, protagonista da minha vida e história, que me deu apoio necessário, incentivo e encorajamento nos instantes mais difíceis, de desânimo e esgotamento físico e mental. É por esta mulher que devo tudo o que tenho e que vou ser eternamente agradecido pela honra de viver e de ter me condicionado ao seu lado. Não existiria pessoa melhor no mundo que eu quisesse ao meu lado e ter passado toda minha vida dando-me força, proteção e amor.

A minha avó Dulce, que com seu amor, me inspira e enche meu coração de alegria. Seus ensinamentos e sua força me ajudaram e ajudam a ser uma pessoa melhor.

Agradeço a família e irmãos pelo apoio e otimismo nos diversos momentos dessa trajetória, pelas vibrações a cada conquista.

Ao meu companheiro John Victor por ter desde o início dessa fase da vida escutado meus constantes desabafos de horas difíceis e ter me proporcionado com muita paciência, amor e carinho tantos momentos de reflexão sobre meu ser pessoal e profissional; e ter vibrado juntamente por todas as conquistas realizadas.

Aos meus queridos amigos pelas distrações, companhia, amizade, parceria, paciência, carinho e alegria.

A Universidade Federal de Alagoas que despertaram e motivaram minha caminhada acadêmica na pós-graduação.

A minha orientadora professora Dra. Maria de Fátima Silva Muniz, pela orientação e estímulo a todo o momento, ao seu apoio e confiança pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho;

Ao Dr. João Gomes da Costa (Embrapa Tabuleiros Costeiros) na contribuição das análises estatísticas e pelas sugestões oferecidas para este trabalho.

Ao Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento, Coordenador do Curso de Farmácia/ESENFAR, pelas contribuições e paciência nas análises químicas; ao Dr. André Amaral (Embrapa Tabuleiros Costeiros) que muito contribuiu na realização dos extratos e nas interpretações dos cromatogramas; e a querida Natália Helena nas cansativas pescarias de nematoides, extrações e paciência ao escutar meus constantes desabafos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas pelos conhecimentos transmitidos e por sempre se disporem em ajudar. À banca examinadora de minha dissertação. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro necessário ao prosseguimento de minhas atividades.

A todos, que direta ou indiretamente, fizeram parte dessa formação, os meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Dentre as enfermidades que afetam a cultura do inhame (*Dioscorea* spp.) destaca-se a casca-preta, causada pelos fitonematoides *Scutellonema bradys*, *Pratylenchus coffeae* e *P. brachyurus*. Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito nematicida de extratos aquosos e etanólicos de *Croton* spp. sobre os nematoides causadores da doença e verificar os compostos fitoquímicos presentes nos extratos oriundos de folhas de *Croton heliotropiifolius*. Em dois ensaios foram testados extratos de folhas, raízes e sementes de *C. campestris* e extratos de folhas e raízes de *C. heliotropiifolius*, nas concentrações de 0, 2, 3, 4, 5%. Em cavidades de placas do tipo Kline foram colocados 200 µL de extrato e 20 espécimes de *S. bradys* e após 24 horas os indivíduos que permaneceram imóveis foram quantificados e transferidos para água destilada, sendo considerados mortos aqueles que não recuperaram o movimento após 24 horas de incubação. Para o ensaio *in vivo*, rizóforos naturalmente infectados foram imersos por duas horas no extrato aquoso obtido de folhas de *C. heliotropiifolius*, nas concentrações de 0%, 3%, 4% e 5% e a seguir foram cultivados em vasos contendo solo esterilizado. O nível populacional inicial dos nematoides foi realizado em 1g da casca de cada rizóforo-semente. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições. Após três meses foi avaliado o percentual de brotação, e no sexto mês, a população final dos nematoides no solo, raízes e casca dos rizóforos. A análise química dos extratos provenientes de folhas de *C. heliotropiifolius* foi realizada por meio de Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência (CLUE) acoplado ao detector de arranjos de diodo. Todos os extratos testados foram capazes de inibir a mobilidade e causar mortalidade a *S. bradys*. Entretanto, para *C. campestris*, os maiores percentuais de mortalidade do nematoide foram observados nos extratos etanólicos. A análise fitoquímica dos extratos aquosos e etanólicos oriundos das folhas de *C. heliotropiifolius* evidenciou a presença de flavonoides, como ácido ferúlico, myricitrina e quercitrina.

Palavras-chave: *Dioscorea* spp., Casca-preta, Controle alternativo, CLUE, Compostos fenólicos.

ABSTRACT

Among several diseases affecting yam (*Dioscorea* spp.), the dry rot, caused by *Scutellonema bradys*, *Pratylenchus coffeae* and *P. brachyurus*, stands out in the field. The objectives of this work were to evaluate the nematicidal effect of aqueous and ethanolic extracts from *Croton* spp. on the causal agents of the dry rot disease and to verify the phytochemical compounds found in extracts from *C. heliotropiifolius* leaves. Extracts from leaves, roots and seeds of *C. campestris*, and extracts from leaves and roots of *C. heliotropiifolius* at concentrations of 0, 2, 3, 4 and 5%, were tested in two experiments. In Kline slides, 200 μ L of extract and 20 specimens of *S. bradys* were distributed into the wells. After 24 h of exposure the individuals who remained immobile were quantified and transferred to distilled water for 24 h, considering as dead those specimens which remained immobile after 24 hours of incubation. For the *in vivo* assay, naturally infected tubers were immersed for two hours in the aqueous extract obtained from *C. heliotropiifolius* leaves at concentrations of 0, 3, 4 and 5% and planted in pots containing sterilized soil. The initial population level of the nematodes was carried out in 1g of the tuber peel of each tuber seed. The experiment was performed in a completely randomized design with four treatments and eight replicates. Three months after the application of the treatments the percentage of sprouting of the seed tubers was evaluated. The final nematode population in the soil, roots and tuber peel were evaluated sixth month after seeding. The chemical analysis of extracts from leaves of *C. heliotropiifolius* was performed by Ultra-High Performance Liquid Chromatography (UHPLC). All extracts tested were able to inhibit motility and cause mortality to *S. bradys*. However, for *C. campestris*, the highest percentages of nematode mortality were observed in ethanolic extracts. The phytochemical analysis of the aqueous and ethanolic extracts from *C. heliotropiifolius* leaves showed the presence of flavonoids, such as ferulic acid, myricitrin and quercitrin.

Keywords: *Dioscorea* spp., Dry rot, Alternative control, UHPLC, Phenolic compounds.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Considerações gerais e importância socioeconômica da cultura do inhame.....	13
2.2	A casca-preta-do-inhame.....	14
2.3	Fitonematoides causadores da casca-preta.....	14
2.3.1	<i>Scutellonema bradys</i>	14
2.3.2	<i>Pratylenchus brachyurus</i> e <i>P. coffeae</i>	16
2.4	Manejo da casca-preta-do-inhame.....	17
2.4.1	Métodos culturais.....	17
2.4.2	Métodos biológicos.....	17
2.4.3	Métodos físicos.....	18
2.4.4	Métodos químicos.....	18
2.4.5	Extratos vegetais.....	19
2.4.5.1	Gênero <i>Croton</i>	
L.....		19
2.4.5.1.1	<i>Croton heliotropiifolius</i> (Velame-de-cheiro).....	20
2.4.5.1.2	<i>Croton campestris</i> (Velame-do-campo).....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	Experimento 1: Avaliação do efeito nematostático e nematicida de extratos de <i>Croton</i> spp. sobre <i>Scutellonema bradys</i>.....	22
3.1.1	Coleta e processamento das amostras de <i>Croton</i> spp.....	22
3.1.2	Obtenção dos extratos de <i>Croton</i> spp.....	22
3.1.3	Atividade <i>in vitro</i> dos extratos vegetais sobre <i>Scutellonema bradys</i>	22
3.2	Experimento 2: Efeito do extrato aquoso de <i>Croton heliotropiifolius</i> no tratamento de rizóforos - semente de inhame.....	23
3.2.1	Local de execução do experimento.....	23
3.2.2	Tratamento de rizóforos - semente com extrato de <i>Croton heliotropiifolius</i> em casa de vegetação.....	24
3.3	Experimento 3: Caracterização química dos extratos aquoso e etanólico de <i>Croton heliotropiifolius</i> por meio de Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência – CLUE.....	24
3.3.1	Procedimentos gerais.....	24

3.3.2	Análise por cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de arranjos de diodos (CLUE – DAD).....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
4.1	Experimento 1: Avaliação do efeito nematostático e nematicida de extratos de <i>Croton</i> spp. sobre <i>Scutellonema bradys</i>	27
4.2	Experimento 2: Efeito do extrato aquoso de <i>Croton heliotropiifolius</i> no tratamento de rizóforos - semente de inhame.....	32
4.3	Experimento 3: Caracterização química dos extratos aquoso e etanólico de <i>Croton heliotropiifolius</i> por meio de Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência – CLUE.....	33
5	CONCLUSÕES.....	35
6	REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

Dentre as enfermidades que afetam a cultura do inhame (*Dioscorea* spp.) no Brasil, a casca-preta causada pelos nematoides *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew) Andrassy, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven e *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven destaca-se como a mais importante, incidindo sobre rizóforos-comerciais e rizóforos-semente de *Dioscorea* spp. (MOURA; MOURA, 1989; MOURA; MONTEIRO, 1995; MOURA, 2016). Em Alagoas, destaca-se a ocorrência de populações mistas dos patógenos (MUNIZ et al., 2012).

O controle da doença baseia-se em técnicas de exclusão, com o plantio de rizóforos-semente sadios em solos livres de nematoides. Porém, 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, 2019).

Uma possibilidade de controle de nematoides é a utilização de extratos vegetais. Vários exemplos de plantas com potencial para a produção de nematicidas naturais são encontrados na literatura, estas apresentam substâncias como alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos, glicosídeos cianogênicos, terpenoides e compostos fenólicos. Espécies de plantas com atividade anti-helmíntica para o uso medicinal ou veterinário também têm apresentado resultado no controle de fitonematoides (FERRIS; ZHENG, 1999; COIMBRA et al., 2006).

O gênero *Croton* pertencente à família Euphorbiaceae é largamente distribuído em regiões tropicais (HELUANI et al., 2000). As espécies desse gênero são ricas em metabólitos secundários que são os responsáveis pelas atividades biológicas. Dentre os constituintes ativos encontram-se as proantocianidinas, terpenos, alcaloides, flavonas e outros compostos fenólicos (DAL BÓ, 2004). Entre as atividades conferidas ao gênero *Croton* encontra-se a anti-helmíntica (DE SIQUEIRA et al., 2006; CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007)

Estudos fitoquímicos realizados com algumas espécies de *Croton* de ocorrência no Brasil têm proporcionado o isolamento de 109 compostos pertencentes às mais variadas classes estruturais tais como, diterpenos (35,6%), alcaloides (24,8%), flavonoides (12,8%) e triterpenos (11%) (TORRES et al., 2008). Porém, não foram encontradas informações sobre o efeito da aplicação de extratos de *Croton* sp. via tratamento do material de propagação sobre os nematoides que provocam a casca-preta-do-inhame.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivos avaliar o efeito nematicida *in vitro* de extratos aquosos e etanólicos de folhas, raízes e sementes de *C. heliotropiifolius*

Kunth e *C. campestris* St. Hill; estudar o efeito do extrato aquoso de *C. heliotropiifolius* no tratamento de rizóforos-semente de inhame naturalmente infectados por *S. bradys* e *Pratylenchus* sp. e identificar os compostos presentes nos extratos oriundos de folhas de *C. heliotropiifolius*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações gerais e importância socioeconômica da cultura do inhame

A cultura do inhame (*Dioscorea* spp.), família Dioscoreaceae, encontra-se no grupo das tuberosas com maior potencial econômico, principalmente devido à sua utilização na culinária humana (BRIDGE; COYNE; KWOSEH, 2005). Além de ser empregada para o consumo, também pode ser utilizada na produção de medicamentos como a diosgenina, manipulado na fabricação de contraceptivos (MOURA, 2016). Algumas espécies como *D. rotundata* Poir., *D. alata* L., *D. esculenta* (Lour.) Burk. e *D. cayennensis* Lam. são altamente energéticas, podem ser encontradas em terras brasileiras como fontes de carboidrato, além de conter, proteínas, vitaminas A, C, do complexo B, e de alguns minerais como potássio e fósforo (SANTOS, 2005; BRIDGE; STARR, 2007; TAVARES et al., 2011; SANTOS et al., 2012; MOURA, 2016).

A cultura do inhame é encontrada em países tropicais, quentes e úmidos, principalmente na África Ocidental, Sudeste da Ásia, e países latinos como nas Ilhas do Caribe, América do sul e México (SANTOS et al., 2012; COYNE; AFFOKPON, 2018). Os principais países produtores são Nigéria (47.942.712 t), Gana (7.952.750 t) e Costa do Marfim (7.148.000 t), situados na África Ocidental, os quais totalizam uma produção anual estimada em 63.043.462 t, o que correspondem a 91% de toda safra mundial (FAO, 2017).

O Brasil destaca-se por ser o maior produtor entre os países Sul-americanos, com produção equivalente a 250.400 t/anos (FAO, 2017), destacando-se a região nordeste com 225.000 t/ano (SANTOS et al., 2012).

Conforme Santos et al. (2012), existem cerca de 150 espécies de *Dioscorea*, e no Brasil, duas são mais encontradas: *D. cayennensis*, originária da África (conhecida como “Inhame-da-Costa” ou “cará-da-costa”), cultivada principalmente no nordeste, alcançando cerca de 90% de toda área de cultivo nacional, com produção elevada nos estados de Pernambuco, Paraíba, Bahia, Sergipe e Alagoas (IBGE, 2010). O estado de Alagoas coloca-se como o quinto maior produtor da espécie *D. cayennensis*, e tem seu rendimento médio de 10.726 kg.ha⁻¹ (IBGE, 2010). *Dioscorea alata*, conhecida como “cará São Tomé” é nativa do continente asiático, sendo encontrada principalmente nas regiões norte, sudeste e centro-sul do País. (MESQUITA, 2002; MOURA, 2005; CARMO, 2009; MOURA, 2016).

Para o bom desenvolvimento da cultura são necessários índices pluviométricos variando em torno de 1.000 a 1.600 mm anuais, com temperaturas médias entre 24 - 30° C, e umidade relativa do ar entre 60 a 90%, além de solos de textura arenosa, profundos e bem drenados, arejados e férteis, ricos em matéria orgânica com pH de 5,5 a 6,5 (SANTOS et al., 2012).

2.2 A casca-preta-do-inhame

No Brasil a casca-preta foi diagnosticada por Lordello (1959) no estado de Pernambuco, quando em análise de material coletado, identificou o agente etiológico como *Scutellonema dioscoreae*. Posteriormente, Moura; Teixeira (1980) designaram a espécie como *S. bradys*. Em outro estudo, Moura; Moura (1989), no estado da Paraíba, observaram sintomas similares aos da casca-preta cujo agente etiológico foi atribuído ao nematoide *Pratylenchus brachyurus*. Posteriormente, Moura; Monteiro (1995) fizeram avaliações em outros materiais, detectando a presença de *P. coffeae* ocasionando sintomas da casca-preta, similar àqueles provocados por *S. bradys*.

Conforme Moura (2016), a casca-preta-do-inhame, conhecido na literatura internacional como “dry rot of yam”, era considerada endêmica da região nordeste do Brasil, mas por meio de coletas de materiais de *D. alata* obtidas no estado de São Paulo, foi observada a presença dos fitonematoides (MOURA et al., 2006)

Os sintomas iniciais da doença aparecem como pequenos pontos de coloração amarela, logo abaixo da epiderme e posteriormente observa-se a presença de rachaduras nas cascas dos rizóforos e, internamente, áreas enegrecidas e secas. Nenhum sintoma foliar tem sido visualizado em plantas cultivadas em solos infestados pelos nematoides (COYNE; AFFOKPON, 2018).

A avaliação da incidência da doença em rizóforos de inhame pode ser feita visualmente. Os nematoides são encontrados no solo e raízes e podem ser amostrados, principalmente, no final do ciclo da cultura. Porém, a maioria é encontrado nos tecidos dos rizóforos e a amostragem destes é o meio mais adequado de avaliação da população do nematoide (BRIDGE; COYNE; KWOSEH et al., 2005).

2.3 Fitonematoides causadores da casca-preta

2.3.1 *Scutellonema bradys*

O fitonematoide da espécie *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew, 1933) Andrassy, 1958, encontra-se inserido na classe Chromadorea e família Hoplolaimidae (Filipjev, 1934). Considerado um dos principais problemas fitossanitários da cultura do inhame, foi identificado a princípio na região oeste da África onde, a partir daí foi disseminado para outras partes do mundo (BRIDGE; STARR, 2007; COYNE et al., 2012). No Brasil, este fitoparasita é encontrado principalmente na região nordeste, porém, há relatos de que já foi observado em lavouras no estado de São Paulo (FERRAZ; BROWN, 2016).

Em inhame, o nematoide penetra pela região da epiderme formando “galerias” ao se alimentar, ocasionando necroses superficiais (SOUSA et al., 2009). Os prejuízos econômicos vêm principalmente do aspecto destrutivo visualizado ainda na casca dos rizóforos, que nos casos mais severos podem ir aprofundando chegando a regiões mais internas, afetando negativamente a qualidade e produtividade do cultivo, resultando na diminuição de seu valor comercial e na exportação do produto (GARRIDO et al., 2003; CARMO, 2009).

O nematoide *S. bradys* possui formato do corpo filiforme (ou fusiforme), estilete robusto e escutelos (fasmídios alargados), que são opostos e encontrados na região final do corpo, próximo ao ânus. Os machos (0,9 mm de comprimento) geralmente são menores que as fêmeas (1,2 mm de comprimento). As fêmeas apresentam vulva na região mediana do corpo, e sua porção final é arredondada (KWOSEH; PLOWRIGHT; BRIDGE, 2002; MOURA, 2016). Os machos são comuns, o que pode distinguir de outras espécies onde eles são mais restritos (FERRAZ; BROWN, 2016).

A reprodução é realizada por anfimixia ou fertilização cruzada, isto é, fusão dos pronúcleos dos gametas femininos e masculinos (FERRAZ; BROWN, 2016). Conforme Pinheiro (2017), o ciclo de vida, envolve o estágio de ovo, fases juvenis (J1 a J4) e adultos, e pode ser completado em média de 16-28 dias. Em condições favoráveis podem aumentar consideravelmente sua população (FERRAZ; BROWN, 2016). De acordo com Moura (2016), *S. bradys*, é considerado endoparasita migrador, pois invade a parte interior dos seus hospedeiros e não se limitando a um único local, podendo haver deslocamento sempre que necessário. A principal forma de dispersão do nematoide é através de rizóforos-semente infectados.

Em relação à gama de plantas hospedeiras, Adesiyani (1976), demonstrou que além do inhame, outras culturas tais como quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* L. Moench), malva-roxa (*Urena lobata* L.), feijão-mungo (*Vigna aurea* L.), guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), vassourinha (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), gergelim (*Sesamum indicum* L.) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*

(L.) Walp.) foram capazes de multiplicar o nematoide em condição de casa de vegetação. Em outro estudo, o nematoide foi registrado em condição de campo infectando a cultura de batata (*Solanum tuberosum* L.) (COYNE; CLAUDIUS-COLE, 2009; COYNE; AKPHEOKHAI; ADENIRAN, 2011). Por outro lado, Carmo (2009) relataram as espécies vegetais feijão-caupi, abóbora (*Cucurbita pepo* L.), quiabeiro, tomateiro, batata-doce (*Ipomoea batatas* L.), crotalária (*C. juncea* L.) e guandu, como más hospedeiras do nematoide.

2.3.2 *Pratylenchus brachyurus* e *P. coffeae*

Parasitas de plantas do gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (classe Chromadorea; família Pratylenchidae Thorne, 1949) são conhecidos como “nematoides das lesões radiculares”. Duas espécies destacam-se como potenciais causadoras de sintomas da casca-preta-do-inhame: *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941; e *P. coffeae* (Zimmerman, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 (MOURA, 2016)

Pratylenchus spp. podem ser encontrados desde as raízes a outras regiões de suas plantas hospedeiras, como rizomas e túberas (LIRA, 2013). Segundo Ferraz; Brown (2016) esse gênero é considerado como o segundo maior em importância econômica no Brasil, perdendo apenas para o gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, que lidera o ranking.

Pratylenchus brachyurus possui grande número de plantas hospedeiras (HANDOO et al., 2008). Como exemplo, já foram encontrados em culturas como algodoeiros (*Gossypium* spp.), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), café (*Coffea arabica* L.), soja (*Glycine max* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), milho (*Zea mays* L.), cana-de açúcar (*Saccharum* spp.) e inhame (*Dioscorea* spp.), além de várias espécies de hortaliças e pastagens (SILVA et al., 2004; GOULART, 2008).

Zimmermann em 1898 foi o primeiro a observar a presença de *P. coffeae* em plantações de café na Indonésia, razão pelo qual foi atribuído o nome da espécie. Estudos realizados mostraram atividades do nematoide também nas culturas da banana (*Musa* spp.), citros (*Citrus* spp.) e inhame (SILVA; INOMOTO, 2002; MUNIZ et al., 2012; LIRA, 2013).

Pratylenchus spp. possuem formato do corpo filiforme e podem ser encontrados principalmente em regiões de climas tropicais, embora sejam relatados também em áreas temperadas. *Pratylenchus* spp. quando adultos, não excedem o limite de 1,0 mm de comprimento, sendo menores que *S. bradys*, e em sua fase juvenil chegam a medir 0,4 mm de comprimento. As espécies apresentam estiletos curtos (11-25 μ m de comprimento,

normalmente 14-17 μm); as fêmeas apresentam vulva na região mais próxima ao término do corpo (COYNE; AFFOKPON, 2018).

Ambas as espécies são consideradas endoparasitas migradores. Os machos de *P. brachyurus* são raros, razão pela qual sua principal forma de reprodução é por partenogênese mitótica. Por outro lado, *P. coffeae* se reproduz por anfimixia (FERRAZ; BROWN, 2016). Em condições favoráveis de temperatura e umidade, apresentam ciclo de vida variando de 3-4 semanas (COYNE; AFFOKPON, 2018). Conforme Ferraz (2006), as fêmeas de *P. brachyurus*, ovipositam entre 70-80 ovos durante sua vida, entretanto, Castillo; Vovlas (2007) observaram maiores estimativas, com média de 80-150 ovos.

As lesões causadas por esses fitonematoides facilitam a entrada de organismos oportunistas, como fungos e bactérias, que penetram nas partes internas das plantas hospedeiras podendo desenvolver sintomas como podridões e necroses em seus órgãos infectados (COSTA et al., 2009).

Assim como *S. bradys*, espécies do gênero *Pratylenchus* são disseminadas comumente por meio de rizóforos-semente infectados (FERRAZ, 1995).

2.4 Manejo da casca-preta-do-inhame

Conforme Moura (2016) os métodos de controle são fundamentados em técnicas de exclusão. Entretanto, para áreas infestadas, métodos culturais, biológicos, físicos, químico e uso de extratos vegetais podem ser implementados.

2.4.1 Métodos culturais

Os métodos culturais podem ser considerados os mais viáveis, dentre as demais formas de manejo dos nematoides da casca-preta-do-inhame. O uso de adubação orgânica e verde e a rotação ou sucessão de culturas com plantas antagônicas são técnicas que já foram testadas para o manejo de *S. bradys* (SILVA et al., 2014; SANTOS et al., 2016). A realização do pousio, também conhecido como repouso da área cultivada, pode ser utilizado. No entanto, aspectos negativos como os custos das operações de aração e gradagem, riscos de ocorrência de erosão e os prejuízos decorrentes da manutenção da área sem qualquer rendimento tornaram o método de interesse secundário (FERRAZ; BROWN, 2016).

2.4.2 Métodos biológicos

Os bionematicidas são considerados eficientes no manejo das pragas, além de serem baratos e ecologicamente viáveis por não agredirem o meio ambiente. Geralmente utilizam-se bactérias, fungos, ácaros e espécies de nematoides predadores (FERRAZ; BROWN, 2016).

Segundo Coimbra et al. (2006) metabólitos produzidos por bactérias do gênero *Streptomyces* sp. apresentaram efeito nematicida *in vitro* demonstrando o potencial dos actinomicetos para o biocontrole de *S. bradys*. Mais recentemente, Santos et al. (2016) também comprovaram que metabólitos secundários produzidos por actinobactérias, foram eficientes contra *S. bradys*.

Em trabalho realizado por Costa (2015) utilizando fungos endoparasitas como *Catenaria* sp. em ação *in vitro* contra fitonematoides, observou-se certo parasitismo em ovos e formas ativas (juvenis e adultos) de *P. brachyurus*, revelando eficiência no controle.

2.4.3 Métodos físicos

O tratamento térmico é efetuado por meio do aumento da temperatura em determinado tempo, para a redução da população dos fitonematoides. Porém, este método pode ser uma alternativa desvantajosa, pelo elevado custo dos equipamentos e a dificuldade em manter a temperatura da água sempre constante, o que torna o seu uso restrito (BRIDGE; COYNE; KWOSEH, 2005).

Segundo Adesiyan; Adeniji (1976) foi possível suprimir *S. bradys* de rizóforos de *D. cayenensis* por meio do tratamento com água quente (50 °C por 40 minutos). Em outro estudo, Adeniji (1977) verificou que a temperatura de 50-55 °C por 40 minutos eliminou o referido nematoide de rizóforos de *D. alata*. Coates-Beckford; Brethwaite (1977) também verificaram que populações de *P. coffeae* foram reduzidas pelo tratamento do material de propagação de *D. rotundata* com água quente (51 °C por 30 minutos). Contudo, a idade dos rizóforos, a espécie e a cultivar de *Dioscorea* e a severidade da doença podem afetar o controle do nematoide por meio deste tipo de tratamento (ACOSTA; AYALA, 1976; ADESIYAN; ADENIJI, 1976; COATES-BECKFORD; BRATHWAITE, 1977). Além disso, a época do tratamento pode ser crítica. Rizóforos de *D. rotundata* tratados imediatamente após a colheita apodreceram completamente, mas aqueles utilizados após 2-6 meses de armazenamento mostraram pouco sinal de deterioração (Adesiyan; Adeniji, 1976). Vale ressaltar que no Brasil não existem estudos sobre a utilização dessa técnica na cultura do inhame.

2.4.4 Métodos químicos

Cerca de 26 nematicidas estão certificados pelo Ministério da Agricultura, porém, não existem defensivos agrícolas registrados, para uso em cultivos de inhame no Brasil (AGROFIT, 2019).

Conforme Hutton (1998) hipoclorito de sódio foi tão efetivo quanto o nematicida oxamyl em suprimir populações de *P. coffeae* e o desenvolvimento da casca-preta em *D. cayenensis*, quando o produto foi aplicado no tratamento do material de propagação. Almeida et al. (2017) também comprovaram a eficiência do produto sobre *S. bradys*.

2.4.5 Extratos vegetais

Outra alternativa de controle para os fitonematoides é a utilização de extratos vegetais. Vários exemplos de plantas com potencial para a produção de nematicidas naturais são encontrados na literatura, apresentando substâncias como alcaloides, ácidos graxos, isotiocianatos, glicosídeos cianogênicos, terpenoides e compostos fenólicos. Espécies de plantas com atividade anti-helmíntica para o uso medicinal ou veterinário também têm apresentado resultado no controle de fitonematoides (FERRIS; ZHENG, 1999; COIMBRA et al., 2006).

Vantagens e desvantagens devem ser consideradas quanto à utilização de extratos vegetais. Desta forma, em termos de vantagem, são poucos tóxicos ao ambiente e os nematoides são incapazes de inativar compostos produzidos pelos extratos (FERRAZ; LOPES; AMORA, 2008). Ainda, podem ser utilizados como complemento a outras técnicas de controle (MACHADO; SILVA; OLIVEIRA, 2007). Como desvantagens pode-se citar a falta de material vegetal para preparação dos extratos, acelerada biodegradação do produto, impossibilitando sua eficiência e devido à toxicidade apresentada por algumas espécies de plantas (POTENZA, 2004).

2.4.5.1 Gênero *Croton* L.

O gênero *Croton*, com aproximadamente 1.300 espécies, é considerado o segundo maior da família Euphorbiaceae, onde 350 espécies já foram encontradas no Brasil (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007). São encontrados principalmente em regiões de climas tropicais e subtropicais (HELUANI et al., 2000). As espécies de *Croton* podem ser monoicas ou dioicas, por possuírem sexos femininos e masculinos num único indivíduo ou separadamente (ANGÉLICA, 2011). Este gênero é facilmente identificado pela presença de látex, coloração alaranjada de suas folhas (quando mais velhas) e inflorescência com

aparência de tirsos (flores pediceladas com presença de cacho composto de formato fusiforme) (RIINA; BERRY; WAN EE, 2009).

De maneira comum, a depender da espécie, são conhecidas como “marmeleiro” e “velames”, e possuem grande concentração de óleos vegetais voláteis presentes nas folhas (ANGÉLICA, 2011). Além de conterem compostos químicos (flavonoides, alcaloides, terpenos e fenóis) que podem ser utilizados na proteção das plantas e empregados no controle de pragas (SOUZA et al., 2014), são também utilizados na medicina popular, como fármacos, usados para diversos tratamentos médicos com potencial anti-inflamatório, anti-hipertensivo e analgésico (SALATINO, SALANTINO; NEGRI, 2007; ANGÉLICA, 2011).

2.4.5.1.1 *Croton heliotropiifolius* (Velame-de-cheiro)

A espécie *C. heliotropiifolius*, encontrada na região Neotropical, foi observada desde o Panamá percorrendo a América do Sul (GOVAERTS; FRODIN; RADCLIFFE-SMITH, 2000). No Brasil, é natural do nordeste brasileiro, encontrada na Caatinga, e ainda em áreas de Brejos e no Cerrado (RANDAU et al., 2004). É conhecida como “velame”, “velaminho” ou “velame-de-cheiro” (SILVA et al., 2017).

A espécie é caracterizada por ser uma planta monoica, com presenças de látex de coloração alaranjada ou mesmo com ausência de cor (SILVA; SALES; CARNEIRO-TORRES, 2009). Em média possuem de 1-2 m de altura e distingue-se de *C. campestris* pelo tipo de folha concolor (uma única cor), presença de inflorescência de forma glandular e possuem sementes lisas; além de flores geralmente pentâmeras do tipo pistiladas ou solitárias (SÁTIRO; ROQUE, 2008; SILVA et al., 2017).

São escassos os estudos sobre a utilização de *C. heliotropiifolius* sobre fitonematoides. A exemplo, pode-se citar o trabalho de Lima (2016) que verificou efeito nematicida sobre *S. bradys*.

2.4.5.1.2 *Croton campestris* (Velame-do-campo)

Croton campestris conhecida como “velame” ou “velame-do-campo”, é uma planta nativa do Brasil, encontrada entre os arbustos da Caatinga, região semiárida brasileira (GIULIETTI et al., 2003; SANTOS et al., 2013), distribuindo-se também pela regiões sudeste, podem chegar até cerca de 2 m de altura (CORRÊA, 1975).

Matias et al. (2010), em trabalho realizado em laboratório com extratos de algumas espécies vegetais, incluindo *C. campestris*, demonstraram a ação antibacteriana sobre *Escherichia coli* (Migula) Castellani & Chalmers e *Staphylococcus aureus* Rosenbach. Em

outro estudo, Almeida et al. (2017) revelaram que extrato etanólico de folhas de *C. campestris* foi capaz de reduzir a população de *M. incognita*, na cultura do tomate, em casa de vegetação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em laboratório e em casa de vegetação, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL e laboratórios na Embrapa Tabuleiros Costeiros, UEP Rio Largo, e no Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas/Campus A. C. Simões, Maceió - AL.

3.1 Experimento 1:

Avaliação do efeito nematostático e nematicida de extratos de *Croton* spp. sobre *Scutellonema bradys*

3.1.1 Coleta e processamento das amostras de *Croton* spp.

Folhas (pecíolo alado e filídeos), raízes e sementes de duas espécies, *C. heliotropiifolius* e *C. campestris* foram coletadas em Alagoas, a primeira no município de Paulo Jacinto (09°20'697" S; 36°21'486" W), foi identificada e depositada em Herbário do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas com número de registro 17979 - IB/MAC; e a segunda espécie foi obtida no município de Major Isidoro (9° 33' 33"S, 36°34'57"W). O material colhido foi posto para secar em estufa com circulação de ar forçado a 40°C, até peso constante. Em seguida, foi processada a trituração em moinho tipo Wille para obtenção do pó.

3.1.2 Obtenção dos extratos de *Croton* spp.

Os extratos aquosos foram preparados segundo o método descrito por Ferris; Zheng (1999), no qual para cada grama de material vegetal seco, adicionaram-se 10 mL de água destilada, e após um período de repouso de 24 horas, em béquer de vidro, no escuro, o material produzido foi filtrado em papel Whatman nº 1, recolhido em erlenmeyers e utilizado imediatamente.

Os extratos etanólicos foram preparados através de maceração com etanol 99,9% como solvente, utilizando-se Mesa Agitadora Orbital (modelo: SL-180/DT; marca: Solab) durante cinco dias. Após esse período, os extratos foram filtrados em funil de Büchner e concentrados, em capela de exaustão de gases, sob temperatura ambiente, até a evaporação total do etanol, para obtenção da solução estoque e posterior diluições. O extrato concentrado foi mantido sob refrigeração até o momento de sua utilização.

3.1.3 Atividade *in vitro* dos extratos vegetais sobre *Scutellonema bradys*

A população de *S. bradys* foi obtida de rizóforos de inhame infectados, provenientes do Estado de Alagoas. Para extração do nematoide, cascas de rizóforos foram trituradas em liquidificador e centrifugadas em sacarose (COOLEN; D'HERDE, 1972). O nematoide foi identificado em microscópio de luz com base em caracteres morfológicos, conforme as descrições de Mai; Mullin (1996).

Em cavidades de placas do tipo Kline foi colocado 200 µL dos extratos e 20 nematoides juvenis e adultos. Foram utilizadas as concentrações de 2, 3, 4 e 5%, além de água destilada como controle. As placas foram colocadas em câmara de crescimento tipo BOD (Demanda Química do Oxigênio), a 25°C, no escuro. Após 24 horas, foi realizada a contagem dos nematoides imobilizados, com auxílio de microscópio de luz. Espécimes que permanecerem imóveis foram transferidos para água destilada. Foram considerados mortos, os nematoides que não recuperaram o movimento depois de 24 horas de incubação em água.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial em dois ensaios. O primeiro consistiu de *C. campestris* e três partes da planta (folhas, raízes e sementes), e o segundo de *C. heliotropiifolius* e duas partes da planta (folhas e raízes), ambos testados em quatro concentrações. Ressalta-se que não foi testado o extrato com sementes de *C. heliotropiifolius* pela dificuldade de encontrar quantidade suficiente de material para a composição do extrato, por ocasião da instalação do ensaio.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias de cada tratamento foram comparadas à testemunha pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As concentrações foram analisadas por intermédio de regressão, representadas pelo modelo linear. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software GENES (CRUZ, 2013).

3.2 Experimento 2:

Efeito do extrato aquoso de *Croton heliotropiifolius* no tratamento de rizóforos-semente de inhame

3.2.1 Local de execução do experimento

O experimento foi realizado em casa de vegetação no período de março a setembro de 2018. A temperatura média durante a condução do trabalho foi de 23,4°C, com médias máximas e mínimas de 28,1°C e 19,9°C, respectivamente, conforme os dados cedidos pelo Laboratório de Irrigação e Agrometeorologia (LIA), procedentes da Estação

Agrometeorológica Automática, CECA/UFAL, Rio Largo, AL (9°28'29,1''S; 35°49'43,6''W; altitude 127 m).

3.2.2 Tratamento de rizóforos - semente com extrato aquoso de folhas de *Croton heliotropiifolius*

Foram empregados rizóforos de inhame de aproximadamente 100 g, naturalmente infectados por uma população mista (*S. bradys* e *Pratylenchus* sp.), com predomínio de *Pratylenchus* sp. Para determinação do nível populacional inicial dos nematoides (Pi), foi utilizado 1g da casca de cada rizóforo-semente processadas conforme Coolen & D'Herde (1972). A identificação dos nematoides foi realizada com base em caracteres morfológicos utilizando chaves de identificação (MAI; MULLIN, 1996) sob microscópio de luz com objetivas invertidas.

O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, constituídos pelas concentrações de 0, 3, 4 e 5% do extrato aquoso de folhas de *C. heliotropiifolius* e oito repetições, sendo cada uma, constituída por um rizóforo, os quais foram imersos durante duas horas nessas soluções, e a seguir, plantados em vasos com capacidade para oito litros, contendo solo esterilizado em estufa (100°C/24 h) e mantidos em casa de vegetação.

Após três meses da aplicação dos tratamentos, foram avaliados o percentual de brotação dos rizóforos, e no sexto mês, 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 com auxílio de lâmina de Peters em microscópio de luz, sob objetiva invertida.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias de cada tratamento foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.3 **Experimento 3:**

Caracterização química dos extratos aquoso e etanólico de *Croton heliotropiifolius* por meio de Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência - CLUE

3.3.1 Procedimentos gerais

Para esta fase do trabalho foram utilizadas folhas de *C. heliotropiifolius* pela facilidade de adquirir o material para confecção dos extratos.

A caracterização química dos extratos aquoso e etanólico de folhas de *C. heliotropiifolius* foi realizada por meio de Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência (CLUE).

Visando à obtenção do melhor resultado cromatográfico para execução da análise fitoquímica usando CLUE-DAD, os extratos aquosos e etanólicos foram particionados usando três solventes para o processo de extração líquido-líquido (diclorometano, acetato de etila e hexano-acetato). Primeiramente, foram utilizados 25 ml da solução-estoque do extrato aquoso das folhas de *C. heliotropiifolius* e adicionado 50 ml de diclorometano (cloreto de metileno - CH_2Cl_2). O mesmo procedimento foi realizado com acetato de etila, $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (20 ml) e por último com hexano-acetato (1:1) (20 ml) (Figura 1). Posteriormente, as soluções foram encaminhadas ao rota-evaporador (Figura 2), para remoção dos solventes voláteis da solução, através da técnica de destilação ou da evaporação de solvente de ebulição (Figura 3).

Figura 1. Extrato aquoso das folhas de *C. heliotropiifolius* em diferentes solventes.



Foto: autor (2019)

Figura 2. Rotaevaporador para evaporação dos solventes contidos nas amostras.



Foto: autor (2019)

Figura 3. Remoção dos solventes voláteis da solução.



Foto: autor (2019)

Para o extrato etanólico foram realizados dois testes. No primeiro, foram utilizados 30 mL da solução-estoque. A princípio, foi testado o acetato de etila, acrescentando 24 mL do solvente + água destilada. Posteriormente, foram testados 65 mL de hexano. Para a segunda extração, foram utilizados 30 mL da solução-estoque e adicionados 20 mL de água destilada, e em seguida, acrescentado 25 mL de hexano. Os demais procedimentos foram realizados conforme citado anteriormente para o extrato aquoso.

3.3.2 Análise por cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de arranjos de diodos (CLUE – DAD)

As análises fitoquímicas dos extratos foram conduzidas em cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de arranjos de diodos, CLUE–DAD (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com auto injetor Shimadzu (SIL-20A), com varredura entre 200 a 700 nm.

Após um período de repouso das amostras, cerca de uma semana, sob temperatura ambiente, em capela de exaustão para evaporação natural dos solventes, as amostras foram solubilizadas em 0,5 mL de metanol, transferidas para vials HPLC e submetidas à análise cromatográfica utilizando como fase móvel uma mistura de acetonitrila: água acidificada com ácido fórmico 0,1% e bombeada numa coluna de fase reversa C₁₈ da Phenomenex®, modelo Júpiter 300A, usando um fluxo de 0,6 mL/min por 72 minutos. Os cromatogramas foram registrados nos comprimentos de onda de 230 nm, 240 nm, 254 nm, 265 nm, 280 nm, 320 nm e 350 nm. Em seguida, as amostras foram injetadas (2 µL) no Cromatógrafo Líquido de Ultra-Eficiência (CLUE) acoplado ao detector de arranjos de diodo (DAD) para obtenção dos cromatogramas, a partir da injeção de padrões de flavonoides e ácidos fenólicos. Os

compostos foram confirmados através de picos cromatográficos e foram comparados por meio do seu tempo de retenção com padrões de referências e espectros UV-Vis obtidos por meio do detector de arranjos de diodos, considerando ausência ou presença das substâncias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1:

Avaliação do efeito nematostático e nematicida de extratos de *Croton* spp. sobre *Scutellonema bradys*

A interação entre as partes das plantas e concentrações não foi significativa para imobilidade e mortalidade do nematoide, sendo os fatores analisados isoladamente.

Houve efeito significativo quanto à imobilidade e mortalidade de *S. bradys* em resposta aos extratos vegetais e concentrações oriundos de folhas, raízes e sementes de *C. campestris*. Comparando-se os extratos etanólicos com os aquosos obtiveram-se melhores resultados com os etanólicos oriundos de raízes e sementes, que apresentaram valores de imobilidade do nematoide de até 92%, na menor concentração testada (2%). Entretanto, não se constatou diferença significativa entre os dois tipos de extratos em relação ao componente folha. Os extratos etanólicos também provocaram maior mortalidade de *S. bradys*, apresentando valores entre 78 a 93% na menor concentração (Tabela 1).

Observou-se também significância quanto à imobilidade e mortalidade de *S. bradys* entre as diferentes concentrações dos extratos vegetais oriundos de *C. heliotropiifolius* para os componentes raiz e folha. Verificou-se que o extrato obtido de folhas na concentração de 5% foi mais efetivo, provocando 95% de mortalidade. Entretanto, não se constatou significância entre os dois tipos de extratos (Tabelas 2 e 3).

Ambos os extratos causaram um aumento linear sobre a imobilidade e mortalidade de *S. bradys* em função do aumento das concentrações (Figuras 4-7).

Alguns trabalhos demonstraram o efeito nematicida de extratos de *Croton* spp. sobre fitonematoides (Torres et al., 2008; Slomp et al., 2009), contudo, são escassas as informações envolvendo *C. campestris* e *C. heliotropiifolius* sobre esses patógenos. A exemplo, Almeida et al. (2017) constataram que extrato etanólico de folhas de *C. campestris* foi capaz de reduzir a população de *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood, na cultura do tomate, em casa de vegetação. Lima (2016) verificou *in vitro* efeito nematicida de *C. heliotropiifolius* sobre *S. bradys*. Nesse trabalho, o extrato aquoso oriundo de folhas apresentou positividade para taninos flobafênicos, flavonas, flavonois, xantonas, catequinas e saponinas, enquanto Santos; Schripsema; Kuster (2005) detectaram flavonoides a partir de extrato butanólico de *C. campestris*, substâncias que podem ser responsáveis pelo efeito nematicida.

Tabela 1. Imobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys* em extratos aquosos e etanólicos de folhas, raízes e sementes de *Croton campestris* em diferentes concentrações.

Concentração (%)	Imobilidade (%)					
	Folha		Raiz		Semente	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato etanólico
0	11,00Ca	2,00Ba	3,00Da	5,00Da	6,00Da	5,00Ca
2	76,00Ba	93,00Aa	31,00Ca	88,00Bb	80,00Ba	92,00Bb
3	92,00Aa	94,00Aa	32,00Ca	98,00Ab	85,00Ba	95,00Ab
4	100,00Aa	95,00Aa	43,00Ba	99,00Ab	68,00Ca	88,00Bb
5	100,00Aa	95,00Aa	55,00Aa	100,00Ab	95,00Aa	97,00Aa
CV (%)	10,90	10,90	13,29	13,29	11,01	11,01
Concentração (%)	Mortalidade (%)					
	Folha		Raiz		Semente	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato etanólico
0	8,00Ba	1,00Ba	2,00Da	3,00Da	2,00Ca	3,00Da
2	51,00Aa	93,00Ab	22,00Ca	78,00Cb	59,00Ba	88,00Bb
3	49,00Aa	92,00Ab	26,00Ca	88,00Bb	66,00Ba	88,00Bb
4	59,00Aa	95,00Ab	38,00Ba	93,00Ab	52,00Ba	72,00Cb
5	60,00Aa	98,00Ab	48,00Aa	96,00Ab	92,00Aa	96,00Aa
CV (%)	15,39	15,39	12,18	12,18	19,31	19,31

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% e pelo teste F, respectivamente.

Tabela 2. Imobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys* em extratos obtidos de raiz de *Croton heliotropiifolius* em diferentes concentrações.

Concentração (%)	Raiz de <i>C. heliotropiifolius</i>			
	Imobilidade (%)		Mortalidade (%)	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato etanólico
0	4,00 Da	6,00 Da	2,00 Da	4,00 Da
2	50,00 Ca	53,00 Ca	42,00 Ca	41,00 Ca
3	67,00 Ba	68,00 Ba	65,00 Ba	51,00 Ba
4	71,00 Ba	73,00 Ba	67,00 Ba	51,00 Ba
5	78,00 Aa	76,00 Aa	75,00 Aa	63,00 Aa
CV(%)	11,31	11,31	23,92	23,92

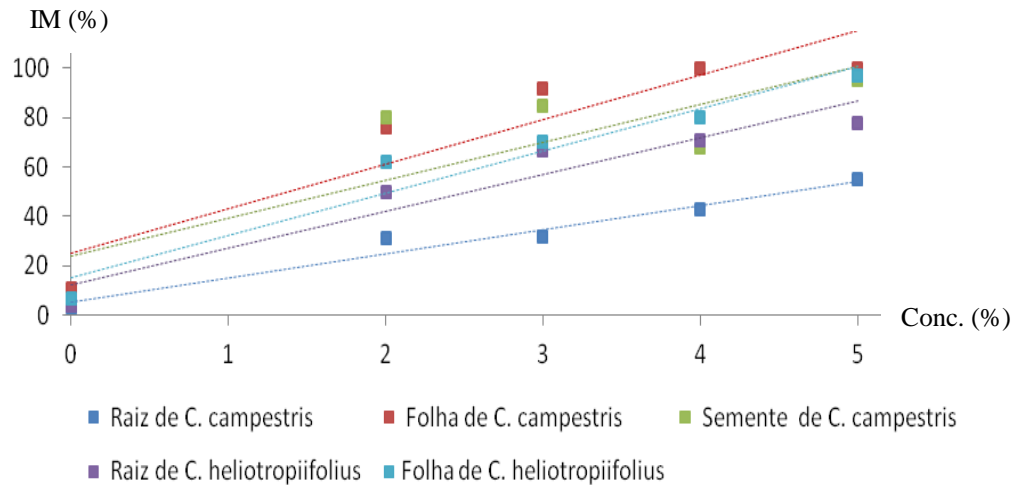
Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% e pelo teste F, respectivamente.

Tabela 3. Imobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys* em extratos de folhas de *Croton heliotropiifolius* em diferentes concentrações.

Concentração (%)	Folha de <i>C. heliotropiifolius</i>			
	Imobilidade (%)		Mortalidade (%)	
	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato aquoso	Extrato etanólico
0	7,00 Da	5,00 Da	3,00 Ca	3,00Da
2	62,00 Ca	47,00 Ca	38,00 Ca	41,00 Ca
3	70,00 Ca	56,00 Ba	44,00 Ca	50,00 Ca
4	80,00 Ba	63,00 Aa	55,00 Ba	56,00 Ba
5	97,00 Aa	67,00 Aa	95,00 Aa	62,00 Aa
CV(%)	18,77	18,77	24,95	24,95

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% e pelo teste F, respectivamente.

Figura 4. Imobilidade (IM) de *S. bradys* em função de diferentes concentrações (0, 2, 3, 4 e 5%) de extratos aquosos oriundos de raízes, folhas ou sementes de *Croton heliotropiifolius* e *C. campestris*.



Equações:

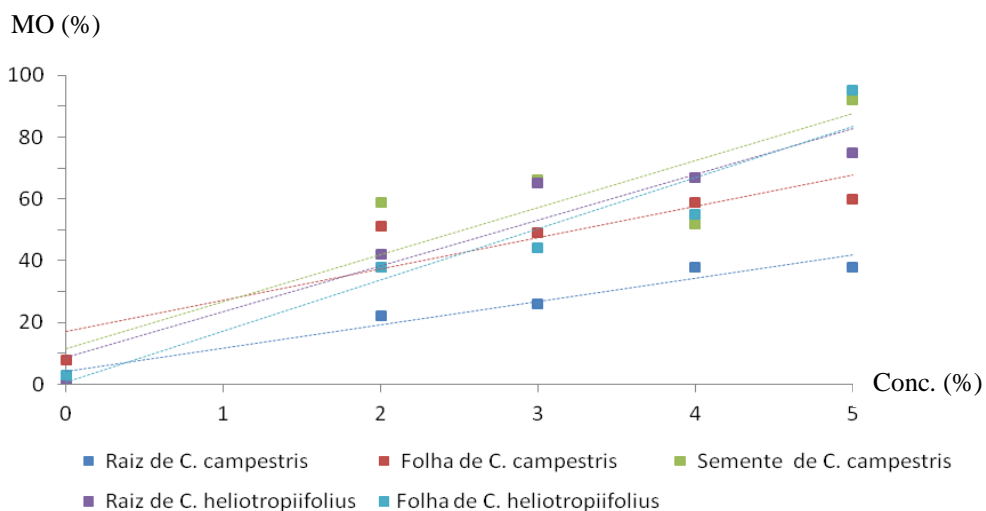
Croton campestris

Raiz: $y = 9,8514x + 5,2162$ ($R^2 = 0,9648$); folha: $y = 18,027x + 25,324$ ($R^2 = 0,8539$); Semente: $y = 15,324 + 23,892$ ($R^2 = 0,6953$);

C. heliotropiifolius

Raiz $y = 14,797x + 12,568$ ($R^2 = 0,9128$); Folha: $y = 17,176x + 15,108$ ($R^2 = 0,9428$).

Figura 5. Mortalidade (MO) de *Scutellonema bradys* em função de diferentes concentrações (0, 2, 3, 4 e 5%) de extratos aquosos oriundos de raízes, folhas ou sementes de *Croton heliotropiifolius* e *C. campestris*.



Equações:

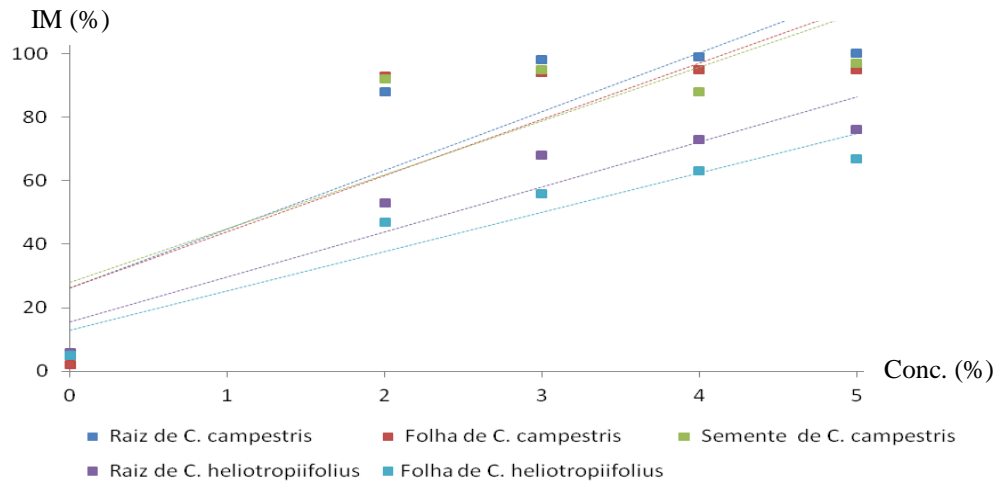
C. campestris

Raiz: $y = 7,513x + 4,1622$ ($R^2 = 0,9529$); Folha: $y = 10,095x + 17,135$ ($R^2 = 0,8191$); Semente: $y = 15,216x + 11,595$ ($R^2 = 0,7931$);

C. heliotropiifolius

Raiz: $y = 14,811x + 8,7297$ ($R^2 = 0,9258$); Folha: $y = 16,554x + 0,6486$ ($R^2 = 0,923$).

Figura 6. Imobilidade de *S. bradys* em função de diferentes concentrações (0, 2, 3, 4 e 5%) de extratos etanólicos de raízes, folhas ou sementes de *C. heliotropiifolius* e *C. campestris*.



Equações:

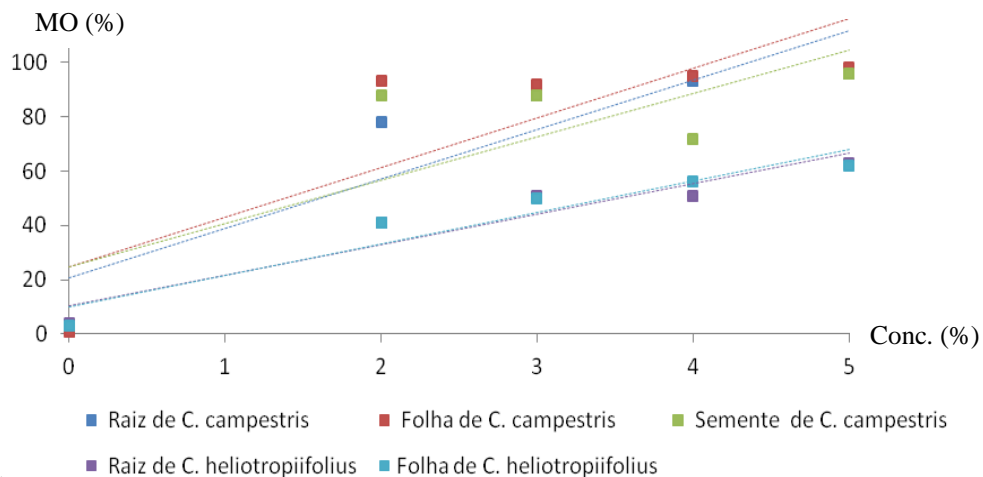
C. campestris

Raiz: $y = 18,514x + 26,162$ ($R^2 = 0,7511$); Folha: $y = 17,689x + 26,27$ ($R^2 = 0,68$); Semente: $y = 16,919x + 28,027$ ($R^2 = 0,6788$);

C. heliotropiifolius

Raiz: $y = 14,123x + 15,622$ ($R^2 = 0,8857$); Folha: $y = 12,388x + 13,054$ ($R^2 = 0,9014$).

Figura 7. Mortalidade (MO) de *S. bradys* em função de diferentes concentrações (0, 2, 3, 4 e 5%) sobre extratos etanólicos oriundos de raízes, folhas ou sementes *C. heliotropiifolius* e *C. campestris*.



Equações:

C. campestris

Raiz: $y = 18,216x + 20,595$ ($R^2 = 0,8092$); Folha: $y = 18,297x + 24,568$ ($R^2 = 0,7064$); Semente: $y = 15,973x + 24,676$ ($R^2 = 0,6493$);

C. heliotropiifolius

Raiz: $y = 11,216x + 10,595$ ($R^2 = 0,9091$); Folha: $y = 11,649x + 9,7838$ ($R^2 = 0,9207$).

4.2 Experimento 2:

Efeito do extrato aquoso de *Croton heliotropiifolius* no tratamento de rizóforos - semente de inhame

A população inicial (Pi) dos nematoides mostrou a presença de *S. bradys* e *Pratylenchus* sp., não apresentando significância, o que indica uniformidade da população no material propagativo testado (Tabela 5).

Não houve diferença significativa entre as concentrações do extrato obtido de folhas de *C. heliotropiifolius* em relação às variáveis populações dos nematoides no solo, raiz e população total. Entretanto, observou-se significância entre as concentrações testadas para a população dos nematoides nas cascas dos rizóforos (Tabela 5). Esse resultado corrobora parcialmente os dados obtidos por Almeida et al. (2017) que observaram redução do número de massas de ovos de *M. incognita* em tomateiro, com a utilização de extrato etanólico proveniente de folhas de *C. campestris*, aplicado via solo.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que avaliaram o efeito de extratos de *Croton* spp. no tratamento de material propagativo.

Tabela 5. Dados médios \pm desvio padrão da população inicial de *Scutellonema bradys* e de *Pratylenchus* sp. em 1 g de casca de rizóforos-semente de inhame; população final nas cascas dos rizóforos; população final de nematoides em 100 cm³ de solo; população final/g de raízes, após o tratamento dos rizóforos-semente com três concentrações de extratos aquosos foliares de *Croton heliotropiifolius*.

Variáveis – resposta	Testemunha	2 horas		
	0%	3%	4%	5%
População inicial	98,00 \pm 103,05a	82,00 \pm 35,64a	138,00 \pm 58,48a	152,00 \pm 127,75a
População final na casca	128,80 \pm 75,40a	18,00 \pm 11,55b	29,80 \pm 12,48b	13,80 \pm 10,43b
População final no solo	168,00 \pm 98,59a	120,00 \pm 76,16a	144,07 \pm 108,07a	144,00 \pm 47,75a
População final/g raiz	118,20 \pm 79,11a	108,60 \pm 76,41a	64,60 \pm 43,48a	45,60 \pm 51,71a
População final total	415,00 \pm 142,26a	246,60 \pm 141,01a	238,40 \pm 131,66a	203,40 \pm 93,55a

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.3 Experimento 3:

Caracterização química dos extratos aquoso e etanólico de *Croton heliotropiifolius* por meio de Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência – CLUE

Dentre os compostos fitoquímicos detectados foram identificados alguns flavonoides, como ácido ferúlico, myricitrina e quercitrina, além de outros compostos flavonóidicos não identificados por CLUE-DAD devido à ausência de padrões analíticos. No extrato aquoso foram detectadas a presença das três substâncias fenólicas, porém, no etanólico, a quercitrina não foi observada (Tabela 6). Flavonoides já foram identificados em extratos de *C. heliotropiifolius* (RANDAU, 2004; SILVA, 2017) e *Croton* spp. (MATOS, 2011). Santos; Schripsema; Kuster (2005) através de isolamento de flavonoides oriundos de partes aéreas de *C. campestris*, confirmaram quercitrina e quercetina dentre os compostos fitoquímicos presentes. Segundo Hoste (2006), Silva (2008) e Ayers (2008) os compostos fenólicos exercem atividade nematicida.

Tabela 6. Compostos fitoquímicos detectados em folhas de *Croton heliotropiifolius*.

Compostos fitoquímicos	Classes	Extrato aquoso	Extrato etanólico (EtOH)	Acetato de etila (AcOEt)	Hexano
Ácido clorogênico	Ácido fenólico	-	-	-	-
Ácido ferúlico	Ácido fenólico	+	+	+	-
Ácido gálico	Ácido fenólico	-	-	-	-
Ácido p-cumárico	Ácido fenólico	-	-	-	-
Acacetina	Flavona	-	-	-	-
Apigenina	Flavonol	-	-	-	-
Catequina	Polifenol	-	-	-	-
Crisina	Flavona	-	-	-	-
Luteolina	Flavonol	-	-	-	-
Myricitrina	Flavonol	+	+	+	-
Naringenina	Flavanol	-	-	-	-
Quercetina	Flavonol	-	-	-	-
Quercitrina	Flavonol	+	-	+	-
Rutina	Flavonol	-	-	-	-

Presença (+) ou ausência (-) de compostos fitoquímicos.

Reiner et al. (2016) avaliando o efeito do extrato aquoso do subproduto da indústria vinícola sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* (Treub) Chitwood constataram que o extrato reduziu a eclosão e causou mortalidade aos J2. Os autores também identificaram vários compostos fenólicos no referido extrato, incluindo o ácido ferúlico. Segundo Nguyen et al. (2013) compostos fenólicos podem ser responsáveis por alterações estruturais na casca dos ovos de *M. incognita*, provocando deformação e destruição. É possível que essas substâncias possam afetar a morfologia dos ovos de outros fitonematoides. Outra atribuição dada aos compostos fenólicos está relacionada à sua atuação sobre o corpo do nematoide, por meio da remoção da cutícula, resultando em sua morte, conforme o estudo realizado por Aoudia et al. (2012) com J2 de *M. incognita*.

Os extratos de *C. heliotropiifolius* possuem atividade nematicida que atuam sobre os nematoides causadores da casca-preta-do-inhame, apresentando potencial para serem utilizados no manejo da doença.

5 CONCLUSÕES

Todos os extratos aquosos e etanólicos de *Croton* spp. inibem a mobilidade e causam mortalidade a *S. bradys*, porém, os extratos etanólicos oriundos de *C. campestris* mostraram-se mais efetivos.

O extrato aquoso de *Croton heliotropiifolius*, aplicado via tratamento do material propagativo, reduz a população dos nematoides nos rizóforos.

A análise fitoquímica dos extratos de *C. heliotropiifolius* demonstra a presença dos flavonoides: ácido ferúlico, myricitrina e quercitrina.

6 REFERÊNCIAS

- ACOSTA, N.; AYALA, A. Hot water and chemical dips for nematode control in tubers of *Dioscorea rotundata*. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 60, p. 395-402, 1976.
- 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.; 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. Host range studies of the yam nematode, *Scutellonema bradys*. **Nematropica**, v. 6, n. 2, p. 60-63, 1976.
- AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários, 2019. Disponível em: <<http://www.agrofit.com.br/novoportal>>. Acesso em: 10 jun. 2019.
- ALMEIDA, F. A. de. et al. Potential of plant ethanolic extracts on *Meloidogyne incognita* control in tomato. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 42, p. 3106-3111, 2017.
- ANGÉLICA, E. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de *Croton heliotropifolius* Kunt e *Croton blanchetianus* Baill.** 2011. 87f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 2011.
- AOUDIA, H. et al. Nematotoxic phenolic compounds from *Melia azedarach* against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 47, p. 11675-11680, 2012.
- AYERS, S. et al. Flavones from *Struthiola argentea* with anthelmintic activity in vitro. **Phytochemistry**, v. 69, p. 541-545, 2008.
- BRIDGE, J.; STARR, J. L. **Plant nematodes of agricultural importance: a color handbook.** Boston: Academic Press, 2007. 152p.
- BRIDGE, J.; COYNE, D. L.; KWOSEH, C. K. Nematode parasites on root and tuber crops. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.** 2.ed. Wallingford, UK: CABI, p. 221-228, 2005.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 288-294, 2007.
- CARMO, D. O. **Gama de hospedeiras e controle do nematoide do inhame, *Scutellonema bradys*.** 2009. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2009.

- CASTILLO, P. AND VOVLAS, N. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. Nematology Monographs and Perspectives. 6.ed. Boston: Brill, 2007. 529p.
- 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.
- COIMBRA, J. L. et al. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 41, n. 7, p. 1209-1211, 2006.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent, Belgian: State Agricultural Research Centre, 1972. 77p.
- CORRÊA, M. P. **Dicionários das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. 6. Rio de Janeiro: IBDF, 1975. 687p.
- COSTA, M. J. N.; ROCHA, J. Q.; PASQUALLI, R. M. Vilão em alta. **Cultivar grandes culturas**, v. 11, n. 118, p. 12-14, 2009.
- COSTA, M. A. da. **Biocontrole de nematoides com fungos**. 2015. 44f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2015.
- COYNE, D. et al. Comparison of pathogenicity of geographically separate populations of *Scutellonema bradys* on yam (*Dioscorea* spp.) in west África. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 181-190, 2012.
- COYNE, D. L.; AKPHEOKHAI, L. I.; ADENIRAN, A. F. The yam nematode (*Scutellonema bradys*), a potential threat to potato (*Solanum tuberosum*) production in West Africa. **Plant Pathology**, v. 60, p. 992–997, 2011.
- COYNE, D. L.; CLAUDIUS-COLE, A. *Scutellonema bradys* newly reported affecting Irish potato (*Solanum tuberosum*) in Nigeria. **Plant Pathology**, v. 58, n. 4, p. 805–805, 2009.
- COYNE, D. L.; AFFOKPON, A. Nematode Parasites of Tropical Root and Tuber Crops. In: SIKORA, R. A.; COYNE, D.; HALLMANN, J.; TIMPER, P. **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 3ed. Cambridge, UK: CABI, p. 252-289, 2018.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- DAL BÓ, S. **Avaliação da atividade antinociceptiva da subfração 63 (SF63) obtida a partir das cascas da *Croton celtidifolius* (Euphorbiaceae)** – Estudo do mecanismo de ação. 2004. 88f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2004.
- DE SIQUEIRA, R. J. et al. Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton zehntneri* leaves and its main constituents, anethole and estragole, in normotensive conscious rats. **Life Sciences**, v. 78, n. 20, p. 2365-2372, 2006.

FAO. **Food Agriculture Organization**: Faostat Data base. Agricultural production; agriculture & Food trade, 2017. Disponível em:< <http://www.fao.org>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; AMORA, D. X. Controle de fitonematoides 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.

FERRAZ, L. C. C. B. Doenças causadas por nematóides em batata-doce, beterraba, gengibre e inhame. **Informe Agropecuário**, v. 17, n. 182, p. 31-8, 1995.

FERRAZ, L. C. C. B. O nematoide *Pratylenchus brachyurus* e a soja sob plantio direto. **Revista plantio direto**, Ed. Aldeia Norte, v. 96, p. 23-27, 2006.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. (Orgs.). Manaus: Norma Editora, 2016. 251p.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 31, n. 3 p. 241-263, 1999.

GARRIDO, M. S. et al. Novas tecnologias para a produção do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) no Estado da Bahia. **Revista Bahia Agrícola**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 2003.

GIULIETTI, A. M. et al. **Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematóides-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus*)** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 30p.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; RADCLIFFE-SMITH, A. Croton. In: World Checklist and bibliography of Euphorbiaceae (and Pandaceae). **Royal Botanic Gardens**, v. 4, p. 417-536, 2000.

HANDOO, Z. A.; CARTA, L. K.; SKANTAR, A. M. Taxonomy, Morphology and Phylogenetics of Coffee-Associated Root-Lesion Nematodes, *Pratylenchus* spp. In: R. M. Souza, Ed., **Plant-Parasitic Nematodes of Coffee**, Springer, Dordrecht, p. 29-50, 2008.

HELUANI C. S. et al. Three new diterpenoids based on novel sarcopetalene skeleton from *Croton sarcopetalus*. **Journal Natural Products**, v. 63, n. 2, p. 222-225, 2000.

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

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, 2010.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

KWOSEH, C.; PLOWRIGHT, R. A.; BRIDGE, J. The yam nematode: *Scutellonema bradys*. In: SARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford, CABI, v. 1, p. 221-228, 2002.

LIMA, R. da S. **Manejo da casca-preta-do inhame com produtos vegetais e bionemática**. 2016. 90f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, 2016.

LIRA, V. L. **Caracterização morfológica e molecular de populações de *Pratylenchus coffeae* e reações de leguminosas e gramíneas ao parasitismo**. 2013. 79f. Dissertação (Mestrado em Saúde humana e meio ambiente) – Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, 2013.

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.

MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. N. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69, n. 2, p.103-106, 2007.

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

MATIAS, E. F. F. et al. Atividade antibacteriana In vitro de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010.

MATOS, L. M. M. **Química de espécies nativas de *Croton* L. (Euphorbiaceae)**. 2011. 132f. Dissertação (Mestrado em ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2011.

MESQUITA, A. S. Inhame - *Dioscorea cayennensis* Lam. e taro *Colocasia esculenta* (L.) Schott.- Cenários dos mercados brasileiro e internacional. In: II SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2. **Anais...** João Pessoa: SINCIT, 2002.

MOURA, R. M. Doenças do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam. var. *rotundata* Poir. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; A.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5.ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, v. 2, p.477-483, 2016.

_____. Doenças do inhame-da-costa (*Dioscorea cayennensis*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M., BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v. 2. São Paulo, SP: Agronômica Ceres, p. 415-419, 2005.

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, 211-211, 2006.

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) Andrassy, 1958 (Nematoda: Hoplolaiminae). **Fitopatologia Brasileira**, v. 5, p. 359-367, 1980.

MUNIZ, M. F. S. et al. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 198-200, 2012.

NGUYEN, D. M. C. et al. Nematicidal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against the root-knot nematode *Meloidogyne incógnita*. **Nematology**, v. 15, n. 5, p. 507-518, 2013.

PINHEIRO, J. B. **Nematoides em hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

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. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/rifib/X%20RIFIB%20anais.PDF>>. Acesso em: 4 jan. 2019.

RANDAU, K. P. et al. Estudo farmacognóstico (farmacobotânico e farmacoquímico) e atividade biológica do *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 89-96, 2004.

REINER, D. A. et al. Efeito nematicida de um subproduto da indústria vinícola em *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 31, n. 1, p. 24-30, 2016.

RIINA, R.; BERRY, P. E.; WAN EE, B. W. Molecular phylogenetics of the dragon's blood *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae): a polyphyletic assemblage unraveled. **Systematic Botany**, v. 34, n. 2, p. 360-374, 2009.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SANTOS, D. C. et al. Estratégias para uso de cactáceas em zonas semiáridas: novas cultivares e uso sustentável das espécies nativas. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 15, n. 2, p. 111-121, 2013.

SANTOS, E. S. **Manejo sustentável da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil**. 2005. Disponível em: <www.emepa.org.br/inhame_manejo.php>. Acesso em 17 set. 2017.

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

SANTOS, J. F. et al. Actinobacteria and organic fertilizers for management of the nematode *Scutellonema bradys* in yam plants. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 548-588, 2016.

SANTOS, P. M. L. dos; SCHRIPISEMA, J.; KUSTER, R. M. Flavonóides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 321-325, 2005. ISSN 0102-695X. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102695X2005000400011&lng=en&nrm=iso>. acessar em 05 mar. 2019.

SATIRO, L. N.; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio Rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 99-118, 2008.

SILVA, E. C. da. et al. **Adubação Verde Como Fonte de Nutrientes às Culturas**. Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil. Fundamentos e Prática. Brasília, DF: EMBRAPA, v. 1, p. 265-305, 2014.

SILVA, J. A. G. et al. Screening Fitoquímico e Avaliação da Toxicidade de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) frente à *Artemia salina* Leach. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 934-941, 2017.

SILVA, J. S.; SALES, M. F.; CARNEIRO-TORRES, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na Microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 879-901, 2009.

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, R. A.; INOMOTO, M. M. Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. **The Journal of Nematology**, v. 34, n. 2, p. 135-139, 2002.

SILVA, R. A. et al. Ocorrência de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* na cultura do algodoeiro no Estado do Mato Grosso. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 337, jun. 2004.

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

SOUSA, C. S. et al. Estreptomicetos no controle de *Scutellonema bradys* em túberas de inhame. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 4, p. 486-491, 2009.

SOUZA, R. A. de. **Quantificação de *Pratylenchus brachyurus* em genótipos de soja (*Glycine max* L) Merrill, em Tupirama/TO.** 2009. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2009.

SOUZA, J. I. M. et al. O gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) no Horto Florestal Olho D'Água da Bica, Cuité/PB. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi - Árido**, v. 10, n. 3, p. 01-07, 2014.

TAVARES, S. A. et al. Caracterização físico-química da mucilagem de inhame liofilizada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 5, p. 973-979, 2011.

TORRES, M. C. et al. Larvicidal and nematocidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 12, p. 2724–2728, 2008.