



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

Caracterização morfométrica e molecular de populações de *Pratylenchus* spp. associadas ao inhame no Nordeste do Brasil e manejo da casca-preta

Mayara Castro Assunção

Recife - PE

2022

MAYARA CASTRO ASSUNÇÃO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA E MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE
Pratylenchus spp. ASSOCIADAS AO INHAME NO NORDESTE DO BRASIL E
MANEJO DA CASCA-PRETA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães

Coorientadora: Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa

RECIFE - PE

FEVEREIRO - 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M467c Assunção, Mayara Castro Assunção
CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA E MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE *Pratylenchus* spp. ASSOCIADAS AO INHAME NO NORDESTE DO BRASIL E MANEJO DA CASCA-PRETA / Mayara Castro Assunção Assunção. - 2022.
93 f.

Orientadora: Lilian Margarete Paes Guimaraes.
Coorientadora: Elvira Maria Regis Pedrosa.
Inclui referências.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2022.

1. Dioscorea spp.. 2. nematoide-das-lesões-radicales. 3. identificação molecular. 4. controle cultural. 5. controle alternativo. I. Guimaraes, Lilian Margarete Paes, orient. II. Pedrosa, Elvira Maria Regis, coorient. III. Título

**CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA E MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE
Pratylenchus spp. ASSOCIADAS AO INHAME NO NORDESTE DO BRASIL E
MANEJO DA CASCA-PRETA**

MAYARA CASTRO ASSUNÇÃO

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 25/02/2022

ORIENTADORA:

Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães (UFRPE)

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Elineide Barbosa de Souza (UFRPE)

Dr. José Mauro da Cunha e Castro (EMBRAPA Semiárido)

Dr. João Gomes da Costa (EMBRAPA Alimentos e Territórios)

Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz (CECA-UFAL)

**RECIFE - PE
FEVEREIRO - 2022**

*À minha filha, Eva, minha motivação diária
para concluir esta etapa.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde, sabedoria e coragem para concluir esta etapa. Sem Ele, nada disto seria possível.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pelo aprendizado e realização de parte do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Centro de Ciências Agrárias, pertencente à Universidade Federal de Alagoas.

À Embrapa Tabuleiros Costeiros, Unidade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, por meio de sua Unidade de Execução e Pesquisa de Rio Largo (UEP - Rio Largo).

À Profa. Dra. Lilian Margarete Paes Guimarães, por se disponibilizar a me orientar, por toda compreensão, paciência e conhecimentos repassados.

À Profa. Dra. Elvira Maria Régis Pedrosa por toda contribuição prestada ao enriquecimento do trabalho, com esclarecimentos e sugestões.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz e Dra. Marissônia de Araujo Noronha, por terem aceitado e dedicado tempo e paciência nos trabalhos. Obrigada pelos ensinamentos, amizade, confiança e toda a contribuição na minha vida pessoal e profissional.

Aos meus pais, Jailson e Neilda, e ao meu irmão, Matheus, por todo o suporte e incentivo. Essa conquista também é de vocês!

À toda minha família que permaneceu ao meu lado contribuindo para que essa etapa fosse cumprida. Em especial, à minha tia Neilza, que muitas vezes segurou a minha mão nas horas de aflição. Aos primos Kátia e Alberto, que sempre foram solícitos, dando todo o apoio na busca pela moradia em Recife, juntamente com tio Humberto e tia Lúcia.

Ao grupo da Nema Molecular: Arielena, Jaime e Liany, pelas risadas e amizade. Agradecimento ao Francisco Junior pelas conversas e ideias, por impulsionar o trabalho, se dedicar, me motivar e, principalmente, ter estado comigo nos momentos de incertezas. Ao seu modo, me mostrou que somos capazes e a vida é para ser vivida!

Aos colegas de curso e dos laboratórios, em especial Natália, por todas as conversas.

Aos funcionários do PPGF, Romildo e Darcy, pela disponibilidade e atenção para solucionar toda a parte burocrática, e da Embrapa Tabuleiros Costeiros - UEP, Messias.

Aos meus amigos, em especial meu grupo de amigas (17 anos de amizade), e aos que se fizeram amigos ao longo dessa caminhada, que de alguma forma colaboraram para a conclusão desta etapa.

SUMÁRIO

	página
RESUMO GERAL.....	7
GENERAL ABSTRACT	8
CAPÍTULO I.....	9
Introdução Geral	9
1. Inhame: Classificação botânica, origem, aspectos agronômicos e econômicos do inhame...	9
2. Casca-preta do inhame	11
2.1 O gênero <i>Pratylenchus</i>	12
2.2 Manejo de <i>Pratylenchus</i> spp. em inhame.....	14
2.2.1 Controle cultural com o sorgo forrageiro ‘BRS Ponta Negra’	17
2.2.2 Extratos vegetais	18
2.2.2.1 <i>Byrsonima gardneriana</i>	19
2.2.2.2 <i>Croton</i> sp.....	20
2.2.2.3 <i>Maytenus rigida</i>	20
2.2.2.4 <i>Myracrodruon urundeuva</i>	21
2.2.2.5 <i>Sideroxylon obtusifolium</i>	21
2.2.2.6 <i>Tocoyena formosa</i>	22
2.2.2.7 <i>Ziziphus cotinifolia</i>	23
Referências Bibliográficas	24
CAPÍTULO II.....	42
<i>Pratylenchus</i> species associated with yam in Northeast Brazil.....	42
CAPÍTULO III	67
First report of <i>Pratylenchus zae</i> on <i>Dioscorea cayenensis</i> and <i>D. alata</i> in Brazil	67
CAPÍTULO IV	76
Influence of forage sorghum ‘BRS Ponta Negra’ and plant extracts on <i>Pratylenchus coffeae</i> , the causal agent of yam dry rot disease.....	76
CAPÍTULO V.....	91
Conclusões Gerais.....	91

RESUMO GERAL

O inhame (*Dioscorea* spp.) tem sua representatividade de áreas de cultivo e o consumo de rizóforos na região Nordeste do Brasil. Esta cultura apresenta como principal problema fitossanitário a casca-preta, uma doença causada pelos nematoides *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus* spp., os quais acarretam perdas significativas, devido à suscetibilidade da cultura e à permanente disseminação dos patógenos. Com isto, o trabalho teve como objetivos a identificação morfométrica e molecular de espécies de *Pratylenchus* associadas à casca-preta em áreas de produção localizadas no Nordeste do Brasil, avaliar a hospedabilidade da cultivar de sorgo forrageiro ‘BRS Ponta Negra’ a *P. coffeae*, como opção de manejo da doença casca-preta, e analisar, sob condições *in vitro*, a atividade nematicida de extratos aquosos de sete espécies de plantas sobre *P. coffeae*. Para a identificação morfométrica e molecular foram realizadas amostragens de solo rizosférico e rizóforos de inhame em áreas de cultivo, localizadas em todos os estados do Nordeste brasileiro. A caracterização morfométrica foi realizada em 20 fêmeas adultas de cada população e a análise molecular foi executada por meio do sequenciamento das regiões ITS e D2-D3 do 28S DNAr. As espécies *P. coffeae*, *P. brachyurus* e *P. zae* foram identificadas em todas as áreas de produção amostradas, com prevalência de *P. coffeae* e sendo o primeiro relato de *P. zae* associada a casca-preta no Brasil. Para a avaliação da hospedabilidade do sorgo forrageiro ‘BRS Ponta Negra’ a *P. coffeae*, as sementes foram plantadas em substrato esterilizado e após 30 dias as plântulas foram transplantadas para vasos contendo solo esterilizado. Decorridos sete dias, procedeu-se à inoculação. O delineamento foi inteiramente casualizado, com oito repetições, tendo os tratamentos sido as densidades populacionais de 250; 500; 750 e 1.000 indivíduos por vaso. O padrão de suscetibilidade foi o inhame. A avaliação foi realizada 80 dias após a inoculação, quantificando os espécimes e calculando o fator de reprodução. A cultivar mostrou má hospedeira a *P. coffeae*, podendo ser uma alternativa para uso em áreas infestadas. Em outra etapa, foram testados extratos de *Croton* sp., *Maytenus rigida*, *Ziziphus cotinifolia*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Byrsonima gardneriana*, *Myracrodruon urundeuva* e *Tocoyena formosa*, nas concentrações de 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%. Em cavidades de placas de Kline, foram colocados 200 µL de extrato e 25 nematoides. Após 24 horas de incubação, foi contabilizada a imobilidade dos espécimes, os quais foram transferidos para água destilada por mais 24 horas para avaliação da mortalidade. Os extratos causaram imobilidade de 24 a 99,2% e mortalidade de 20 a 99,2%, sendo o extrato das folhas de *S. obtusifolium* o que resultou em maior mortalidade.

Palavras-chave: *Dioscorea* spp., nematoide-das-lesões-radiculares, identificação molecular, controle cultural, controle alternativo.

GENERAL ABSTRACT

The yam (*Dioscorea* spp.) is representative of cultivation areas and the consumption of tubers in the Northeast region of Brazil. The main phytosanitary problem for this crop is dry rot, a disease caused by the nematodes *Scutellonema bradys* and *Pratylenchus* spp., which cause significant losses due to the susceptibility of the crop and the permanent dissemination of pathogens. Thus, the objective of this work was the morphometric and molecular identification of *Pratylenchus* species associated with dry rot in production areas located in northeastern Brazil, to evaluate the host suitability of the forage sorghum cultivar 'BRS Ponta Negra' to *P. coffeae*, as a management option for the dry rot, and to analyze under *in vitro* conditions the nematicidal activity of aqueous extracts of seven plant species on *P. coffeae*. For morphometric and molecular identification, samples of rhizospheric soil and tubers of yam were carried out in cultivation areas located in all states of Northeast Brazil. Morphometric characterization was performed on 20 adult females of each population and molecular analysis was performed using sequencing the ITS and D2-D3 regions of the 28S rDNA. The species *P. coffeae*, *P. brachyurus*, and *P. zae* were identified in all production areas sampled, with the prevalence of *P. coffeae* and being the first report of *P. zae* associated with dry rot in Brazil. To evaluate the reaction of the forage sorghum 'BRS Ponta Negra' to *P. coffeae*, the seeds were planted in a sterilized substrate and after 30 days the seedlings were transplanted into pots containing sterilized soil. After seven days, inoculation was carried out. The design was completely randomized, with eight repetitions, and the treatments consisted of population densities: 250; 500; 750 and 1,000 individuals per pot. The susceptibility pattern was yam. The evaluation was carried out 80 days after inoculation, quantifying the specimens and calculating the reproduction factor. The cultivar was a poor host to *P. coffeae* and could be an alternative for use in infested areas. In another step, extracts of *Croton* sp., *Maytenus rigida*, *Ziziphus cotinifolia*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Byrsonima gardneriana*, *Myracrodruon urundeuva*, and *Tocoyena formosa* were tested at concentrations of 0.5%; 1.0%; 1.5% and 2.0%. In wells of Kline plates, 200 µL of extract and 25 nematodes were placed. After 24 hours of incubation, the immobility of the specimens was counted, which were transferred to distilled water for another 24 hours to assess mortality. The extracts caused nematode immobility from 24 to 99.2%, and mortality from 20 to 99.2%, and the extract of leaves of *S. obtusifolium* resulted in higher mortality.

Keywords: *Dioscorea* spp., root-lesion nematode, molecular identification, cultural control, alternative control.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

CARACTERIZAÇÃO MORFOMÉTRICA E MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE *Pratylenchus* spp. ASSOCIADAS AO INHAME NO NORDESTE DO BRASIL E MANEJO DA CASCA-PRETA

INTRODUÇÃO GERAL

1. Inhame: Classificação botânica, origem, aspectos agronômicos e econômicos do inhame

A planta de inhame é uma angiosperma monocotiledônea perene, herbácea, poliploide e de propagação vegetativa, pertencente à família Dioscoreaceae, gênero *Dioscorea* e possui cerca de 600 espécies distribuídas amplamente em áreas subtropicais ou tropicais da África, Ásia, Américas e Oceania (NGO-NGWE *et al.*, 2014). Apenas dez espécies são fontes de produtos comestíveis: *D. alata* L., *D. bulbifera* L., *D. cayenensis* Lam., *D. esculenta* Burk., *D. japonica* Thunb., *D. nummularia* Lam., *D. opposita* Thunb., *D. pentaphylla* L., *D. rotundata* Poir e *D. trifida* L. (SARTIE; ASIEDU; FRANCO, 2012).

Os primeiros indícios da dispersão do gênero *Dioscorea* pelo mundo são relatados no final do período Cretáceo, sendo dispersado, principalmente, nas regiões das Américas, África, Sul e Sudeste Asiático e Oceania. As origens das espécies são distintas quanto aos continentes, onde *D. cayenensis* provém da África, *D. esculenta* e *D. alata* são oriundas do Sudeste Asiático, *D. trifida* é originária da América do Sul e as demais espécies cultivadas possuem descendência dos continentes africano e asiático (SIQUEIRA, 2011).

As espécies *D. cayenensis*, *D. alata*, *D. bulbifera* e *D. rotundata* são cultivadas desde o início da civilização, apresentando importância para a dieta dos povos africanos, sendo sempre valorizada. Desde a antiguidade, são presentes nas comunidades indígenas, no entanto, algumas espécies só entraram na civilização ocidental quando o comércio de escravos negros se intensificou e estes chegaram à Europa através dos mercadores, principalmente comerciantes escravistas. No Brasil, a história foi semelhante. Os índios nativos misturaram-se com escravos estrangeiros e dispersaram o inhame em vários estados do país durante a colonização (MADEIRA; REIFSCHNEIDER; GIORDANO, 2008).

A cultura do inhame é a quarta mais importante dentre as tuberosas no mundo, sendo superada apenas por batata (*Solanum tuberosum* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Poir.). A África Ocidental, principal região produtora de inhame no mundo, possui mais de oito milhões de hectares plantados, com 70 milhões de toneladas produzidas, enquanto o Brasil apresenta área plantada aproximadamente de 25 mil hectares com produção de 250 mil toneladas (FAO, 2020).

No Brasil, o cultivo de inhame ocorre, principalmente, em áreas de agricultura familiar, apresentando elevado valor socioeconômico, principalmente no Nordeste, uma vez que o consumo do rizóforo está intimamente ligado aos hábitos alimentares da população (OLIVEIRA; FREITAS NETO; SANTOS, 2001). Nesta região, a produção é destinada para a alimentação humana, com plantio das espécies *D. cayenensis* e *D. alata* (SANTOS, 1996). Em outros estados brasileiros, tais como São Paulo e Espírito Santo, há o cultivo predominante de *D. alata*, aproveitada para o consumo direto ou industrializado (ALVES, 2000).

O inhame é uma cultura de clima tropical quente e úmido, cujas temperaturas ideais situam-se entre 24 e 30 °C; umidade relativa do ar de 60 a 90% e regime pluviométrico variável de 1.000 a 1.600 mm anuais. Os solos mais adequados para o cultivo são os de texturas arenosa a média, profundos e com baixa capacidade de retenção de água, com boa drenagem, fertilidade e ricos em matéria orgânica, apresentando pH entre 5,5 a 6,5, o que facilita o desenvolvimento radicular e a absorção de nutrientes pela planta (SANTOS, 1996; SANTOS *et al.*, 2012). Entretanto, trata-se de uma cultura rústica, que apresenta resistência à seca e pouca exigência de condições ótimas para o desenvolvimento, pois a grande produção se localiza em áreas no Nordeste brasileiro (MURAYAMA, 1999).

A cultura possui ciclo anual, o plantio dos rizóforos-sementes é realizado em época anterior à estação chuvosa, uma vez que a maioria das áreas não possui irrigação (MANTILA; VARGAS, 1984). No entanto, uma planta pode produzir dois tipos de rizóforos: os comerciais, obtidos na primeira colheita, entre sete e nove meses após o plantio, quando a planta completa seu ciclo de crescimento e desenvolvimento e, após três meses, ocorre uma segunda colheita, visando à obtenção dos rizóforos que serão utilizados como sementes (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Os rizóforos de inhame possuem baixo teor de gorduras, alto valor energético e nutricional, devido ao elevado conteúdo de amido, além de serem ricos em carboidratos, minerais, vitaminas do complexo B, tais como riboflavina, tiamina, niacina e piridoxina, vitaminas A e C; atuando como estimulante de apetite e sendo excelente purificador do sangue. Exerce papel fundamental na alimentação humana em continentes como a Ásia, África e Américas (SANTOS, 2002).

Apresenta grande importância econômica e social em diversos países subdesenvolvidos, pois promove a geração de empregos e a comercialização de seu produto, seja de forma *in natura* ou processada. No Brasil, para a região Nordeste, principal produtora, o inhame constitui uma alternativa agrícola potencial para ampliar o consumo no mercado interno e atender à demanda do mercado externo, sendo, assim uma fonte de renda para os pequenos e médios agricultores familiares (SANTOS *et al.*, 2007).

O inhame possui diversas potencialidades de uso, com destaque para medicina e farmacologia, por meio de fonte de antioxidantes, extração de metabólitos secundários e obtenção de substâncias naturais, como sapogeninas e esteroides, utilizadas para a fabricação de anticoncepcionais orais, hormônios sexuais e cortisona (GHOSH *et al.*, 2013; MOURA, 2016). Além destas, a cultura também possui utilidade no preparo de ração para animais, produtos químicos, bebidas alcoólicas, alimentícia, dentre outras (SANTOS *et al.*, 2012).

Apesar da expressividade do inhame na região Nordeste, a diminuição de áreas plantadas com a cultura é de aproximadamente 40%, associada a perdas na produção entre 23% e 56% (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Dentre os fatores responsáveis por esta baixa produtividade, está o ataque de diversos patógenos, como fungos, vírus e nematoides, ocasionando elevada intensidade de doenças, com destaque para a casca-preta, cujos agentes etiológicos são os nematoides *Pratylenchus* spp. Filipjev (1936) e *Scutellonema bradys* (Steiner e LeHew, 1933) Andrassy (1958) - com prevalência do gênero *Pratylenchus*.

2. Casca-preta do inhame

A casca-preta se destaca como a principal doença do inhame. Ocorre comumente nas regiões produtoras, afeta os rizóforos comerciais e sementes que adquirem o aspecto de podridão seca, podendo ser preta ou marrom, oriundas de lesões causadas nos tecidos, que interferem diretamente na qualidade e provocam redução significativa na produtividade (MOURA, 2016).

Os sintomas se caracterizam, inicialmente, por manchas amareladas ou pardacentas, externamente aos tecidos dos rizóforos, que progridem para marrons a enegrecidas à medida que a podridão-seca evolui e, paralelamente, há a presença de rachaduras na casca. São encontrados nematoides em todos os estádios, desde juvenis a adultos, localizados na epiderme, com 1 a 2 cm de profundidade, não havendo, ainda, a necrose de tecidos (SILVA *et al.*, 2014).

Quando a doença está em estágio avançado, pode haver total deterioração durante o armazenamento dos rizóforos, pois os nematoides possuem ação mais agressiva, causando pequenas lesões, visualizadas com a retirada da casca. Posteriormente, as lesões apresentam coloração escura e necrosam (BRIDGE; COYNE; KWOSEH, 2005; MOURA, 2016).

A primeira observação da doença foi na Jamaica por Steiner (1931), identificando o agente causal como *Hoplolaimus* von Daday (1905), depois foi relatado como *Hoplolaimus bradys* Steiner e LeHew (1933) e, posteriormente, transferido para o gênero *Scutellonema* Andrassy (1958). Nos anos seguintes, a doença foi citada na Guatemala, no México e em Porto

Rico com espécies de *Pratylenchus* estando associadas (AYALA; ACOSTA, 1971; JENKINS; BIRD, 1962; ROMÁN; SOSA-MOSS, 1977).

No Brasil, a casca-preta foi relatada pela primeira vez por Lordello (1959), com coleta de materiais associados a meloidoginose do inhame no Estado de Pernambuco, o qual fez a descrição do agente causal da doença como *Scutellonema dioscoreae*. Porém, Sher (1963) avaliando o patossistema posteriormente, não encontrou diferenças acentuadas entre as espécies estudadas por Steiner (1931) e Steiner e Lelewel (1933) com a descrita por Lordello (1959) e, sendo assim, *S. dioscoreae* passou a sinonímia de *S. bradys*.

Em 1969, quando a doença foi registrada no estado da Paraíba, Moura (1969) ratificou que se tratava do nematoide *S. bradys*, espécie conhecida como parasita do inhame em diversas partes do mundo. Depois, Moura e Moura (1989), em amostras coletadas no Estado da Paraíba, relataram, pela primeira vez no Brasil, a ocorrência de *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev e Schuurmans Stekhoven (1941), em rizóforos de inhame, ocasionando sintomatologia semelhante à causada por *S. bradys*, e em 1995, Moura e Monteiro (1995) assinalaram *P. coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev e Schuurmans Stekhoven (1941) associado a sintomas da casca-preta.

Atualmente, são descritos como agentes etiológicos da casca-preta os nematoides *S. bradys*, *P. coffeae* e *P. brachyurus*. Entretanto, em áreas de cultivo de inhame na região Nordeste tem a presença de *S. bradys* nos estados de Alagoas e da Bahia, ocorrendo em populações mistas com *Pratylenchus* spp. nos rizóforos infectados. Deste modo, o gênero *Pratylenchus* torna-se o agente causal mais frequente para a doença, uma vez que está presente em todos os principais estados produtores da cultura (CARMO, 2009; MUNIZ *et al.*, 2012).

2.1 O gênero *Pratylenchus*

Dentre os nematoides que ocorrem em áreas de produção de inhame, o gênero *Pratylenchus*, também conhecido como nematoide-das-lesões-radiculares devido aos sintomas que causa nas plantas hospedeiras, é o que apresenta maior importância econômica (GODFREY, 1929; TIHOHOD, 1993). Com ampla distribuição geográfica *Pratylenchus* ocupa a terceira posição no ranking mundial de fitonematoides (JONES *et al.*, 2013) e, no Brasil, é considerado o segundo de importância fitoparasita (FERRAZ; BROWN, 2016).

O gênero *Pratylenchus* pertence ao filo Nematoda Potts 1932, classe Chromatorea Inglis 1983, subclasse Chromadoria Pearse 1942, ordem Rhabditida Chitwood 1933, subordem Tylenchina Thorne 1949, infraordem Tylenchomorpha De Ley e Blaxter 2002, superfamília Tylenchoidea Örley 1880, família Pratylenchidae Thorne 1949 e subfamília Pratylenchinae

Thorne 1949. Possui um grande número de espécies, sendo as de maiores ocorrências no Brasil: *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. jaehni* Inserra, Duncan, Troccoli, Dunn, Santos, Kaplan, Vovlas (2001), *P. zae* Graham (1951), *P. penetrans* (Cobb, 1917) Filipjev e Schuurmans Steekhoven (1941) e *P. vulnus* Allen e Jensen (1951) (DUNCAN; MOENS, 2013; GONZAGA *et al.*, 2016).

Os espécimes de *Pratylenchus* são endoparasitas migradores, penetram pela epiderme das raízes, e possuem corpo fusiforme, medindo, quando adultos, entre 0,3 a 0,9 mm. São espécies polífagas, infectam raízes e órgãos subterrâneos de diversas hospedeiras, dentre estas, plantas do gênero *Dioscorea*; alimentando-se e multiplicando-se no córtex do sistema radicular, ocasionando necroses, sintoma característico do gênero (FERRAZ; BROWN, 2016).

O ciclo de vida de *Pratylenchus* tem a duração de 3 a 6 semanas, a depender da espécie e das condições envolvidas, como temperatura e hospedeira, além das características do solo, que influenciam também na distribuição populacional. As fases infectivas compreendem todos os juvenis, exceto J1, adultos, machos e fêmeas. A reprodução ocorre por anfimixia para *P. coffeae* e por partenogênese mitótica para *P. brachyurus* (FERRAZ; BROWN, 2016).

Espécimes desse gênero podem sobreviver, sob condições adversas, em estágio de ovo ou por meio de anidrobiose, quando os nematoides permanecem no solo por mais de um ano. Além destas alternativas de sobrevivência, as espécies de *Pratylenchus* podem se manter em hospedeiras (JONES *et al.*, 2013). Para o inhame, a principal forma de disseminação é via rizóforos-sementes contaminados, mas também inclui o transporte de solo por meio de maquinário agrícola e outras formas, sendo constatados altos índices populacionais do parasito no solo (ANDRADE *et al.*, 2010).

O gênero *Pratylenchus* possui alto grau de polifagia, parasitando diversas culturas de interesse agrônomo. Além do inhame, também são hospedeiras: algodão (*Gossypium* spp.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), banana (*Musa* spp.), café (*Coffea arabica* L.), cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), cebola (*Allium cepa* L.), citros (*Citrus* spp.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), milho (*Zea mays* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr., sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), dentre outras (SOUSA, 2018).

Na identificação do gênero, as características morfológicas e morfométricas de *Pratylenchus* são marcantes, o que o distingue dos demais fitonematoides. No entanto, a identificação das espécies é complexa, pois os espécimes são semelhantes, apresentando pequeno número de caracteres para distingui-los. Além disto, há grande variabilidade intraespecífica (LOOF, 1960; LUC, 1987).

A caracterização de espécies por meio de caracteres morfológicos e morfométricos é citada como o principal entrave para a taxonomia, devido à ampla variabilidade tanto entre

indivíduos de populações distintas quanto entre espécimes de uma mesma população (DOUCET; LAX, 1997). Esta variabilidade é ocasionada por diversos fatores, tais como condições ambientais (DOUCET; PINOCHET; DI RIENZO, 1996; DOUCET *et al.*, 2001); planta hospedeira (TARTE; MAI, 1976); e origem da extração, em que os nematoides extraídos das raízes podem apresentar diferenças em relação àqueles extraídos do solo.

Deste modo, adota-se o maior número possível de caracteres morfológicos e morfométricos para melhor precisão dos espécimes a serem identificados, analisando o corpo completo e regiões específicas com seus detalhamentos, como região labial; estilete; esôfago e cauda, além da presença ou ausência de machos e detalhes da região reprodutora das fêmeas (GONZAGA *et al.*, 2016). No entanto, a avaliação de todos estes caracteres não anula a subjetividade deste método de identificação, mantendo assim, sua baixa acurácia e demandando ferramentas que complementem os dados obtidos por morfologia e morfometria.

Diante das limitações da identificação clássica, a utilização de métodos moleculares se torna um instrumento importante para a taxonomia de nematoides do gênero *Pratylenchus*. Por meio da análise de DNA, realizada em qualquer estágio de desenvolvimento, e amplificação via PCR, pode-se obter uma quantidade de nucleotídeos de interesse para o estudo alvo, que, em sua maioria, busca o diagnóstico específico e a análise das relações filogenéticas entre as espécies a partir de sequências de DNA ribossomal (DNAr) e mitocondrial (DNAm) e RNA ribossomal (RNAr) (GONZAGA *et al.*, 2016).

Atualmente, os trabalhos publicados realizam uma abordagem polifásica, baseando-se na identificação das regiões do DNAr 28S, 18S e ITS (*Internal Transcribed Spacer*); e do COI (*citocromo c oxidase*) do DNAm, sendo a região ITS a mais informativa, pois evolui mais rapidamente e consegue discriminar espécies próximas e subespécies (JONES; FOSU-NYARKO, 2014). Essa região permite a separação da maioria das espécies de *Pratylenchus*, mesmo com a alta variabilidade intraespecífica existente (DE LUCA *et al.*, 2011).

A utilização simultânea de diferentes regiões, com propriedades distintas, para avaliação de um mesmo grupo de espécimes é aplicada quando se deseja confirmar, principalmente, o diagnóstico molecular e avaliar hipóteses evolutivas. No entanto, para a caracterização de novas espécies de *Pratylenchus* e confirmação daquelas já descritas, deve-se agregar critérios morfológicos, morfométricos e moleculares para se ter uma maior confiabilidade dos dados e um entendimento mais amplo das relações filogenéticas entre os grupos estudados (GONZAGA *et al.*, 2016).

2.2 Manejo de *Pratylenchus* spp. em inhame

A adoção de táticas de manejo que visam diminuir a população de *Pratylenchus* spp. em áreas de produção de inhame é indispensável ao bom êxito no desenvolvimento da cultura, pois, quando presente, o nematoide induz significativas reduções no peso dos rizóforos (MOURA, 2016). Devido à ampla gama de plantas hospedeiras, as medidas de manejo devem promover uma redução dos seus níveis populacionais no solo.

Para a cultura do inhame, a medida básica de manejo é a exclusão, ou seja, a obtenção de material de propagação sadio em solos com baixa densidade populacional de nematoides. Entretanto, essa prática está se tornando cada vez mais difícil devido à dificuldade de obtenção de rizóforos-sementes sadios (MOURA, 2016). Além deste fator, no Nordeste brasileiro, as condições climáticas apresentam flutuações discretas e que, por isso, favorecem o crescimento das plantas durante o ano todo, o que agrava os problemas com fitopatógenos radiculares (MOURA, 2016; SANTOS *et al.*, 1998).

Uma medida alternativa preconizada para a casca-preta do inhame é o tratamento térmico de rizóforos-sementes, utilizando tempo e temperatura que sejam desfavoráveis aos nematoides. A recomendação padrão indica temperaturas entre 50 °C e 55 °C por um período médio de 40 minutos para que haja efeito sobre os níveis populacionais dos agentes causais, sem danificar os rizóforos, ou seja, para que não haja interferência na germinação e na produção (KWOSEH; PLOWRIGHT; BRIDGE, 2002).

A rotação ou sucessão de cultivos com plantas não hospedeiras ou más hospedeiras e antagonicas são métodos potenciais para o manejo de *Pratylenchus* spp. em inhame, sendo empregadas mesmo com a ampla gama de hospedeiros deste gênero (SILVA *et al.*, 2014). Algumas plantas antagonicas utilizadas são crotalária (*Crotalaria* spp.), cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.) e mucuna (*Mucuna* spp.) que liberam exsudados e substâncias tóxicas a estes nematoides, inibindo a movimentação e o desenvolvimento dos juvenis, além de servirem como adubos verdes e fonte de matéria orgânica (FERRAZ *et al.*, 2010).

Para o inhame, o uso da sucessão de cultura com *C. juncea* L., *C. spectabilis* Roth, *C. ochroleuca* G. Don., fava (*Phaseolus lunatus* L.) e mandioca apresenta efeitos positivos, diminuindo a intensidade da casca-preta, consequentemente, reduzindo a densidade populacional de *P. coffeae* (SILVA *et al.*, 2014). Além destas, a rotação em áreas de inhame com cana-de-açúcar e *C. juncea* também indica resultados promissores, ratificando estas espécies vegetais como más hospedeiras de *P. coffeae* (SANTANA; MOURA; PEDROSA, 2003).

Outra medida recomendada é a adubação, uma vez que a condição nutricional da planta pode predispor ao ataque de nematoides, incluindo *Pratylenchus*. A adubação atua na melhoria

do desenvolvimento das plantas, com a elevação da atividade celular, síntese proteica e produção de compostos. Além disso, pode alterar o ambiente, por aumentar a microbiota antagonista ao nematoide. Todas essas ações podem, em parte, compensar os danos causados pelos nematoides, mas sem agir diretamente sobre os espécimes (FERRAZ *et al.*, 2010; WANG; BERGESON, 1974; ZAMBOLIM; COSTA; VALE, 2001).

A adição de matéria orgânica visa melhorar a estrutura e a fertilidade do solo, além de atuar contra a população de nematoides, a depender do tipo e da quantidade utilizada; da planta hospedeira; das condições ambientais; da microbiota do solo, e do nematoide alvo (STIRLING *et al.*, 2003). No manejo da casca-preta, a incorporação de *C. ochroleuca* foi capaz de reduzir a população de *P. coffeae* em raízes de inhame, em casa de vegetação, e a utilização de esterco de galinha diminuiu a população de *P. coffeae* em rizóforos (MORAIS *et al.*, 2016).

O controle biológico também tem sido empregado, baseado na relação antagonista entre o micro-organismo e o nematoide, por meio de mecanismos como antibiose, competição, parasitismo e predação (FERRAZ *et al.*, 2010). Para a casca-preta do inhame, comumente, os organismos antagônicos empregados são fungos, como *Purpureocillium lilacinum* (Thom.) Luangsa-ard, Houbaken, Hywel-Jones e Samson (ALMEIDA *et al.*, 2017), e bactérias do gênero *Bacillus* (Cohn) (LIMA, 2016).

No Brasil, não há recomendação para o emprego de nematicidas em inhame (MAPA, 2022), sendo preconizadas medidas integradas de manejo que se baseiam em aspectos epidemiológicos da doença, como a ecologia do fitopatógeno, variabilidade das populações, dentre outros (CAMPBELL; MADDEN, 1990). No entanto, em estudos realizados na Jamaica, o uso do controle químico para a casca-preta, visando *P. coffeae*, foi eficiente (HUTTON, 1998), porém, há a escassez de informações mais recentes sobre a adoção desta prática em áreas de produção de inhame.

Como medida alternativa, tem-se o uso de extratos vegetais a partir de compostos orgânicos que são produzidos pelas plantas, mas que não participam diretamente do seu crescimento e desenvolvimento (FERRAZ *et al.*, 2010). Para esta prática, as pesquisas são direcionadas a plantas ou combinações para as quais se tem conhecimento sobre sua ação anti-helmíntica ou outro efeito contra doenças e patógenos de plantas, veterinários ou humanos (CHITWOOD, 2002; COIMBRA *et al.*, 2006; FERRIS; ZHENG, 1999).

A casca-preta interfere diretamente na comercialização dos rizóforos e a presença de *Pratylenchus* prejudica a viabilidade das áreas de plantio. Deste modo, mesmo que o controle não seja alcançado no nível prático, o uso dos métodos de manejo pode fazer parte da integração

de medidas que têm como objetivo a manutenção das populações do patógeno abaixo do nível de dano econômico, reduzindo, conseqüentemente, o índice da doença.

2.2.1 Controle cultural com o sorgo forrageiro ‘BRS Ponta Negra’

A adoção de medidas de manejo sustentáveis vem aumentando entre as recomendações no âmbito fitossanitário, incitando a busca por métodos que solucionem os problemas e apresentem o mínimo ou nenhuma toxicidade ao homem e contaminação ambiental. Dentre as práticas, as que compreendem o controle cultural são indicadas, com destaque para a sucessão de culturas que atuam alterando as condições da área de cultivo para desfavorecer o parasitismo dos nematoides (FERREIRA; NEVES; LOPES, 2021).

A sucessão de culturas alterna, em uma mesma área de produção, diferentes espécies vegetais ao longo do tempo, de maneira que a cultura não principal atue reduzindo o nível populacional dos nematoides. Por isto, o conhecimento sobre o histórico da área e as espécies de nematoides que estão presentes se faz necessário, além da escolha adequada do cultivo sucessor, com plantas não hospedeiras e/ou o uso de cultivares resistentes. A sucessão de culturas é um dos métodos mais recomendados para o manejo de nematoides em áreas infestadas (HALBRENDT; LAMONDIA, 2004).

A busca por plantas que apresentem reação desfavorável ao ataque de *P. coffeae* em inhame é uma alternativa viável de manejo, uma vez que este nematoide causa danos econômicos significativos (SANTOS *et al.*, 2007). A utilização de plantas de sorgo como cultura não hospedeira para o gênero *Pratylenchus*, visando reduzir o parasitismo de *P. coffeae* em áreas de inhame, foi descrita em estudo realizado por Lira e Moura (2017). Neste trabalho, em que as cultivares utilizadas não foram descritas, os autores observaram o sorgo granífero (*Sorghum vulgare* Pers.) reagiu como planta não hospedeira e, o sorgo forrageiro, como má hospedeira.

A cultivar de sorgo BRS Ponta Negra é precoce, com ciclo médio de 90 dias, de porte pequeno e autopolinização, com resistência ao acamamento e tolerância à toxicidade de alumínio e ao estresse hídrico, com indicação às condições do Nordeste brasileiro. Seus aspectos agrônômicos a destacam, pois possui bom rendimento de panícula, de massa de matéria verde, de massa de matéria seca e grãos, que são destinados somente para a produção de forragem, uma vez que há a presença de tanino (SANTOS *et al.*, 2007).

Em relação às doenças, a ‘BRS Ponta Negra’ apresenta resistência à antracnose, ferrugem e cercosporiose, e é moderadamente resistente à helmintosporiose (SANTOS *et al.*, 2007). Quanto ao parasitismo de nematoides, a variedade responde como resistente a *P.*

brachyurus, no entanto, não existem dados sobre a associação entre *P. coffeae* e ‘BRS Ponta Negra’, o que incita a busca por essa informação. Aliado a isso, as características agronômicas mais elevadas desta cultivar, quando comparada com as variedades disponíveis para o Nordeste brasileiro, são favoráveis ao seu emprego em áreas de produção desta região (SANTOS *et al.*, 2007).

2.2.2 Extratos vegetais

Uma alternativa de manejo de fitonematoides que vem se expandindo é o uso de extratos vegetais, uma vez que as plantas apresentam mais de 100.000 metabólitos secundários. Esses metabólitos são substâncias naturais de baixo peso molecular, que interagem diretamente com proteínas e outras macromoléculas, agindo como proteção contra patógenos (COELHO; DE PAULA; ESPÍNDOLA, 2006; TAIZ, 2004).

Dentre os metabólitos secundários que possuem ação quanto à imobilidade e mortalidade de fitonematoides, citam-se: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides, prioritariamente, além de taninos flobafenos, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis, catequinas, flavononas, triterpenoides e saponinas (LIMA *et al.*, 2019; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). A partir do conhecimento sobre os metabólitos e componentes químicos presentes em espécies vegetais, as pesquisas sobre o efeito nematostático e nematotóxico de extratos se intensificaram (CHITWOOD, 2002; FERRIS; ZENG, 1999).

Os extratos vegetais são preparações concentradas de consistência líquida, sólida ou intermediária, oriundos de diversas partes das plantas, tais como sementes, raiz, caule, folha, flor e fruto, podendo ser obtidos por percolação, maceração, inativação enzimática, filtrações, infusão ou outro método adequado e validado, utilizando algum tipo de solvente, frequentemente o etanol, ou extração aquosa (ANVISA, 2009; MARQUES, 2005; MENEZES, 2005).

No entanto, assim como qualquer outra medida de manejo, os extratos vegetais possuem vantagens e desvantagens quanto à sua aplicabilidade. As vantagens incluem: a probabilidade de gerar novos compostos é maior, em comparação aos produtos sintéticos; os fitonematoides não são capazes de inativá-los; possuem amplo espectro de ação; e menor ação danosa ao homem e meio ambiente (FERRAZ; LOPES; AMORA, 2008). Quanto às desvantagens são descritas a limitação da disponibilidade de matéria-prima e de técnicas de extração e aplicação dos produtos; rápida degradação por ser fotossensível; falta de regulamentação que estabeleça a sua utilização, incluindo o controle de qualidade e mapeamento de outras substâncias que podem ser tóxicas (POTENZA, 2004).

Para a casca-preta no Brasil, as pesquisas que visam o controle desta doença com a utilização de extratos vegetais são limitadas à região Nordeste e ao patossistema característico da localidade. Como exemplos, citam-se os trabalhos desenvolvidos por Magalhães *et al.* (2020) que avaliaram o efeito do extrato aquoso de folhas de *Annona squamosa* L. sobre população mista de *S. bradys* e *P. coffeae* em inhame; por Farias *et al.* (2020) que abordaram a ação nematicida do extrato pirolenhoso do fruto de *Cocos nucifera* L. em *Pratylenchus* sp.; e por Santos Filho (2019) que analisou o efeito do extrato aquoso foliar de *Croton heliotropiifolius* Kunth sobre *Pratylenchus* sp.

Dentre as espécies vegetais estudadas para utilização como extratos, são citadas plantas da caatinga, caracterizadas por sobreviver em condições adversas, como precipitação irregular e secas recorrentes (FERNANDES; QUEIROZ, 2018). Como características apresentam folhas pequenas e espinhos, uma vez que há restrição da disponibilidade de água, além da deciduidade em maior parte de suas árvores e arbustos e ciclo curto, o que favorece quando há precipitações mínimas, pois as folhas aparecem rapidamente e as plantas conseguem completar os ciclos (FERNANDES; QUEIROZ, 2018).

A caatinga possui uma riqueza de espécies, apesar de muitas ainda serem inexploradas ou pouco coletadas (MORO *et al.*, 2014; PENNINGTON; LAVIN; OLIVEIRA-FILHO, 2009), no entanto, ressalta-se que uma parte é endêmica, ou seja, possuem distribuição restrita em uma determinada área ou região geográfica, mas a maioria, cerca de 77% das plantas, está amplamente disseminada por todo o bioma (FERNANDES; QUEIROZ, 2018) e apresentam potencial nematicida reconhecido, sendo alternativa de uso satisfatória e viável para o manejo de fitonematoides (COIMBRA *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2013).

2.2.2.1 *Byrsonima gardneriana*

Byrsonima gardneriana A. Juss, também conhecida como murici, pertence ao gênero *Byrsonima* Rich ex Kunth. e à família Malpighiaceae Juss. No Brasil, está distribuída nas Regiões Norte, Nordeste e Sudeste, nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (FRANCENER, 2020).

A planta apresenta porte arbóreo, com flores comumente de coloração amarela ou rosada, hermafroditas, produtoras de óleo e dispostas em ramos terminais. A floração é anual e ocorre logo após o período de chuvas, com as flores permanecendo durante 4 a 5 meses no período de estiagem (BEZERRA; LOPES; MACHADO, 2009; GONÇALVES; LUCENA, BONILLA, 2013; SOUZA, 2011).

Os frutos são do tipo drupas globosas, com mesocarpo carnoso, pequenos, alaranjados e arredondados. A polpa tem sabor marcante e é utilizada *in natura* para a produção de suco, licor, geleias, vinho, doces, refrescos e sorvetes (DONADIO; MÔRO; SERVIDONE, 2002; LIRA, 2016; LORENZI *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2001). Na Caatinga, *B. gardneriana* pode alcançar até cinco metros, com galhos que sustentam as folhas, flores e frutos (LIRA, 2016).

A planta é empregada na medicina popular como antitérmica, antibacteriana e antifúngica para o tratamento de doenças gastrointestinais, de problemas de pele e respiratórios (GONÇALVES; LUCENA, BONILLA, 2013; GUILHON-SIMPLICIO; PEREIRA, 2011; SOUZA, 2011). A presença de componentes antioxidantes, como os compostos fenólicos, carotenoides e ácido ascórbico é relatada em murici (ALMEIDA *et al.*, 2011; BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009; GUIMARÃES; SILVA, 2008; SOUZA *et al.*, 2012a). Os compostos fenólicos possuem função no crescimento e na reprodução das espécies vegetais, além de serem responsáveis pela proteção contra micro-organismos (LIRA, 2016).

2.2.2.2 *Croton* sp.

O gênero *Croton* L. pertence à família Euphorbiaceae Juss. e possui cerca de 1.300 espécies descritas, incluindo árvores, arbustos e ervas, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Algumas espécies de *Croton* são utilizadas como medicamentos populares para dores de estômago, inflamações e malária na África, sul da Ásia e América do Sul (PALMEIRA JÚNIOR; CONSERVA; BARBOSA FILHO, 2006; SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007; WU; ZHAO, 2004).

Aproximadamente 400 novos compostos foram isolados e identificados de espécies de *Croton*, incluindo diterpenoides, triterpenoide, glicosídeos, alcaloides e flavonoides. Esses compostos exercem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo atividades citotóxicas, anti-inflamatórias, antifúngicas, além de outras (XU; LIU; LIANG, 2018). Para as espécies brasileiras, são citados diterpenos, alcaloides, flavonoides e triterpenos, além de outros compostos em menores proporções (TORRES, 2008).

2.2.2.3 *Maytenus rigida*

A espécie *Maytenus rigida* Mart., pertencente ao gênero *Maytenus* Molina e família Celastraceae R.Br., é popularmente conhecida como bonome, sendo uma planta nativa do Nordeste do Brasil, localizada predominantemente na Caatinga. No Brasil, é encontrada nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba,

Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, São Paulo e Sergipe (ROCHA *et al.*, 2004).

A árvore apresenta porte pequeno, com caule cinza e folhas simples, curtamente pecioladas, inteiras, ovais, ápice agudo e base arredondada na tonalidade verde-escuro. Durante o período de estiagem, as folhas são mantidas na planta e só perdem o vigor com a seca mais intensa (ANDRADE-LIMA, 1989; ROCHA *et al.*, 2004).

A folhagem e a casca do caule são utilizadas como medicamentos naturais para o tratamento de doenças gástricas, infecções e inflamações dos ovários e rins, problemas dermatológicos, impotência sexual e reumatismo (AGRA; FRANÇA; BARBOSA-FILHO, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2005; ROCHA *et al.*, 2004). Como constituintes químicos, são descritos triterpenos, catequinas, esteroides, flavononóis, flavonoides, fenóis, quinonas e saponinas, em maiores quantidades, e taninos em menores proporções (ESTEVAM, 2006).

2.2.2.4 *Myracrodruon urundeuva*

As plantas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão, chamadas comumente de aroeira, fazem parte do gênero *Myracrodruon* M. Allemão e da família Anacardiaceae R.Br., constituída por 14 gêneros e 53 espécies no Brasil (SILVA-LUZ; PIRANI, 2015). No Brasil, *M. urundeuva* é encontrada nos biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, no entanto é mais frequente no Nordeste do país (SILVA; RODRIGUES; AGUIAR, 2002; SILVA-LUZ *et al.*, 2020).

Quanto à fisiologia, é uma árvore dioica, alógama e decídua, que apresenta entre 5 e 10 m de altura, com caule podendo atingir um metro de diâmetro. A copa é ampla, com folhas alternas, compostas e imparipenadas, flores unissexuais e frutos do tipo drupa (FIGUEIRÔA; CARVALHO; SIMABUKURO, 2004; GIRÃO, 2013; SILVA-LUZ *et al.*, 2020).

A casca, folhas e raízes de *M. urundeuva* são bastante utilizadas na prevenção e cura de diversas enfermidades, pois apresentam propriedades anti-inflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes, sendo indicadas para o tratamento de reumatismo e úlceras (COSTA, 2011; SILVA, 2014). Em sua composição química, cita-se a presença de hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, taninos entre outros (VITTI; BRITO, 2003).

2.2.2.5 *Sideroxylon obtusifolium*

Sideroxylon obtusifolium (Roem. & Schult.) T.D.Penn., conhecida popularmente como quixabeira, pertence à família Sapotaceae Juss., gênero *Sideroxylon* L., que possui cerca de 70 espécies descritas, distribuídas amplamente na América do Sul. No Brasil o gênero é

representado apenas por *S. obtusifolium* (ALVES-ARAÚJO, 2020). As plantas estão presentes na Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, entretanto, apresentam maior concentração na região Nordeste (CARNEIRO *et al.*, 2015).

É uma árvore que pode atingir até 18 metros de altura, com tronco curto e cilíndrico, de coloração cinza ou castanho-acinzentado, casca rugosa e fissurada, e galhos pendentes com espinhos. As folhas são simples e coriáceas; as flores são aglomeradas, hermafroditas, de coloração verde-amareladas ou creme; e os frutos suculentos são do tipo drupa e de dispersão zoocórica (KIILL; LIMA, 2011; LIMA; MELO, 2015; SILVA; DANTAS, 2017).

As plantas de *S. obtusifolium* possuem atividade antibactericida e antifúngica (LEANDRO *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2016), sendo utilizadas na medicina popular para combater inflamações crônicas, problemas cardíacos, respiratórios e sanguíneos, distúrbios menstruais e dores no trato intestinal (ALBUQUERQUE *et al.*, 2011). Alguns metabólitos secundários importantes têm sido identificados por meio de prospecção fitoquímica, tais como fenóis, taninos pirogálicos, xantonas, flavonoides, catequinas e alcaloides (AQUINO *et al.*, 2016).

2.2.2.6 *Tocoyena formosa*

Tocoyena formosa (Cham. & Schltdl.) K.Schum., também chamada de jenipapo, é pertencente à família Rubiaceae Juss. e ao gênero *Tocoyena* Aubl., que apresenta distribuição na América Central e nos países Paraguai, Bolívia e Brasil na América do Sul. O gênero possui 16 espécies, das quais 13 são de ocorrência no Brasil, sendo *T. formosa* de origem sul-americana e com a região Amazônica como principal centro de diversidade. Entretanto, ocorre também em formações xeromórficas como Cerrado, Restinga e Caatinga (BORGES, 2020; GOTTSBERGER; EHRENDORFER, 1992).

As plantas apresentam-se em arbustos de até seis metros de altura, com caule em formato terete com superfície fissurada; as folhas possuem superfície lisa e coloração oliva a esverdeado ou acastanhada ou preta; flores em formato de cálice cupuliforme de branca a amarela; e os frutos são globosos (BORGES, 2020). A espécie é autoincompatível e por isso, depende de polinizadores para a sua reprodução (IZQUIERDO, 2017).

As diferentes partes de *T. formosa* são comumente utilizadas como analgésico e também para o tratamento de tosse, cistite, problemas renais e cardíacos, além de oferecerem propriedades acaricidas e antifúngicas (CESÁRIO *et al.*, 2018a; SANTOS *et al.*, 2013). Quimicamente, é descrita para a espécie a presença de saponina, flavonoide e iridoides (BOLZANI *et al.*, 1996, 1997).

2.2.2.7 *Ziziphus cotinifolia*

As plantas de *Ziziphus cotinifolia* Reissek são conhecidas como juazeiro, sendo encontradas unicamente na Caatinga brasileira, nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe e Minas Gerais. A espécie *Z. cotinifolia* é nativa do Brasil e pertence ao gênero *Ziziphus* Mill. e família Rhamnaceae Juss. (LIMA, 2015).

As características medicinais incluem atividades anticâncer, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, hipnótica-sedativa e ansiolítico, antioxidante, imunoestimulante e cicatrizante, além de agirem contra problemas gástricos, cognitivos e cardíacos (MAHAJAN; CHOPDA, 2009). Para isto, são descritos como compostos químicos de *Z. cotinifolia* antocianina e antocianidina, triterpenoides pentecíclicos livres e saponinas (SANTOS *et al.*, 2021).

Diante da escassez de informações sobre a etiologia da casca-preta no Nordeste do Brasil, associada às perdas provocadas por esta doença nas áreas de produção de inhame, o presente trabalho teve como objetivos: realizar a identificação morfológica, morfométrica e molecular das espécies de *Pratylenchus* associadas à casca-preta em áreas de produção de inhame localizadas no Nordeste do Brasil; avaliar a hospedabilidade da cultivar de sorgo forrageiro ‘BRS Ponta Negra’ a *P. coffeae*, como opção de manejo para a cultura do inhame; e analisar, sob condições *in vitro*, a atividade nematicida de extratos aquosos de sete espécies de plantas sobre *P. coffeae*.

Referências Bibliográficas

AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ALBUQUERQUE, U. P.; SOLDATI, G. T.; SIEBER, S. S.; LINS NETO, E. M. F.; SÁ, J. C.; SOUZA, L. C. Use and extraction of medicinal plants by the Fulni-ô indians in northeastern Brazil - implications for local conservation. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, Feira de Santana v. 11, n. 2, p. 309-320, 2011.

ALLEN, M. W.; JENSEN, H. J. *Pratylenchus vulnus*, new species (Nematoda: Pratylenchidae), a parasite of trees and vines in California. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, Washington, v. 18, n. 1, p. 47-50, 1951.

ALMEIDA, A. V. D. L.; MUNIZ, M. F. S.; MOURA FILHO, G.; CARVALHO, V. N.; NASCIMENTO, E. S. Manejo da casca-preta-do-inhame com produto à base de *Purpureocillium lilacinum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50. 2017. Uberlândia. **Anais...** Brasília: SBF, 2017.

ALMEIDA, C. F. C. B. R.; LIMA E SILVA, T. C.; AMORIM, E. L. C.; MAIA, M. B. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, Londres, v. 62, n. 1, p. 127–142, 2005.

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIS, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, Canadá, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

ALVES, R. M. **Caracterização de ingredientes obtidos de cará (*Dioscorea alata*), por moagem úmida e seca, e proposta de aplicações na indústria de alimentos**. 2000. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2000.

ALVES-ARAÚJO, A. *Sideroxylon* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB21027>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

ANDRADE, D. E. G. T.; ASSIS, T. C.; SILVA JÚNIOR, W. J.; SILVA, E. J.; SILVA, E. J. Manejo alternativo da casca-preta e da queima das folhas do inhame. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 7, p. 209-223, 2010.

ANDRADE-LIMA, D. **Plantas das Caatingas**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989. 243 p.

ANDRÁSSY, I. *Hoplolaimus tylenchiformis* Daday, 1905 (syn. *H. coronatus* Cobb, 1923) und die gattungen der unterfamilie Hoplolaiminae Filipjev, 1936. **Nematologica**, Leiden, v. 3, n. 1, p. 44-46, 1958.

ANVISA. **Consulta Pública, nº 63, de 23 de setembro de 2009. D.O.U de 24/09/09**.

Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2009. Disponível em:

<<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 19 dez. 2021.

AQUINO, P.; FIGUEREDO, F. G.; PEREIRA, N.; NASCIMENTO, E.; MARTIN, A.; VERAS H.; OLIVEIRA, C.; FERREIRA, S.; LEANDRO, L.; SILVA, M.; MENEZES, I. Avaliação da atividade anti-inflamatória tópica e antibacteriana do extrato metanólico das folhas de *Sideroxylon obtusifolium*. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 21, n. 1, p. 131-140, 2016.

AYALA, A.; ACOSTA, N. Observations on yam (*Dioscorea alata*) nematodes.

Nematropica, Bradenton, v. 1, n. 2, p. 39-40, 1971.

BARRETO, G. P. M.; BENASSI, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 20, n. 10, p. 1856-1861, 2009.

BEZERRA, E. S.; LOPES, A. V.; MACHADO, I. C. Biologia reprodutiva de *Byrsonima gardnerana* A. Juss. (Malpighiaceae) e interações com abelhas *Centris* (Centridini) no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 95-108, 2009.

BOLZANI, V. D. S.; IZUMISAWA, C. M.; YOUNG, M. C. M.; TREVISAN, L. M. V.; KINGSTON, D. G. I.; GUNATILAKA, A. L. Iridoids from *Tocoyena formosa*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 305-308, 1997.

BOLZANI, V. D. S.; TREVISAN, L. M. V.; IZUMISAWA, C. M.; YOUNG, M. C. M. Antifungal iridoids from the stems of *Tocoyena formosa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 7, n. 3, p. 157-160, 1996.

BORGES, R. L. *Tocoyena* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14335>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

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. (ed.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CABI, 2005. p. 221-228.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Willey & Sons, 1990.

CARMO, D. O. **Gama de hospedeiras e controle do nematoide do inhame, *Scutellonema bradys***. 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

CARNEIRO, C. E.; ALVES-ARAUJO, A.; ALMEIDA JUNIOR, E. B.; TERRA-ARAUJO, M. H. Sapotaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21028>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

CESÁRIO, F. R. A. S.; ALBUQUERQUE, T. R. D.; LACERDA, T. M. D.; OLIVEIRA, M. R. C. D.; SILVA, B. A. F. D.; RODRIGUES, L. B.; MARTINS, A. O. B. P. B. M.;

ALMEIDA, J. R. S. G.; VALE, M. L.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. D.

Chemical fingerprint, acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves from *Tocoyena formosa* (Cham. and Schlecht.) K. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riad, v. 26, n. 5, p. 01-08, 2018a.

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

COBB, N. A. A new parasitic nema found infesting cotton and potatoes. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 11, n. 1, p. 27-33, 1917.

COELHO, A. A. M.; DE PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi* Carvalho, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 133-138, 2006.

COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. D.; SOUSA, C. S.; RIBEIRO, F. L. B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 7, p. 1209-1211, 2006.

COSTA, C. O. S. **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de Myracrodruon urundeuva Allemão e Schinus terebinthifolius Raddi**. 2011. 64 f. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) - Universidade Federal da Bahia, Salvador.

DE LUCA, F.; REYES, A.; TROCCOLI, A.; CASTILLO, P. Molecular variability and phylogenetic relationships among different species and populations of *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae) as inferred from the analysis of the ITS rDNA. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 130, n. 3, p. 415-426, 2011.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 288 p.

DOUCET, M.; BAUJARD, P.; PINOCHET, J.; DI RIENZO, J.; LAX, P. Temperature-induced morphometrical variability in an isolate of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida). **Nematology**, Leiden, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2001.

DOUCET, M.; LAX, P. Caracterización de una población y un aislado de *Pratylenchus vulnus* Allen et Jensen, 1951 (Nematoda: Tylenchida) provenientes de la Provincia de Córdoba, Argentina. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 25, n. 2, p. 287-298, 1997.

DOUCET, M.; PINOCHET, J.; DI RIENZO, J. A. Comparative analysis of morphological and morphometrical characters in six isolates of *Pratylenchus vulnus* Allen & Jensen, 1951 (Nemata: Tylenchida). **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge, v. 19, n. 1, p. 79-84, 1996.

DUNCAN, L. W.; MOENS, M. Migratory Endoparasitic Nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. **Plant Nematology**. Boston: CABI International, 2013. 2 ed., cap 5, p. 144-178.

ESTEVAM, C. S. **Estudo fitoquímico biomonitorado da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae)**. 2006. 192 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

FARIAS, S. P.; ALMEIDA, A. V. D. L.; NASCIMENTO, E. S.; SOLETTI, J. I.; BALLIANO, T. L.; MOURA, G.; MUNIZ, M. F. S. *In vitro* and *in vivo* control of yam dry rot nematodes using pyroligneous extracts from palm trees. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 67, p. 482-490, 2020.

FAO. **FAOSTAT**. Statistical Databases. Roma: Food Agriculture Organization, 2020. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>. Acesso em: 03 jan. 2022.

FERNANDES, M. F.; QUEIROZ, L. P. Vegetação e flora da Caatinga. **Ciência e cultura**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 51-56, 2018.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Principais nematoides endoparasitas migradores: nematoides das lesões radiculares e nematoides cavernícolas. In: FERRAZ, L. C. C. B.;

BROWN, D. J. F. (ed.). **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. p. 151-166.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 2010.

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. p. 153-186.

FERREIRA, P. A.; NEVES, W. S.; LOPES, E. A. Controle cultural de nematoides. In: VENZON, M.; NEVES, W. S.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças: opção ou necessidade?**. Belo Horizonte: Epamig, 2021. p. 102 – 107.

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

FIGUEIRÔA, J. M.; CARVALHO, P. E. R.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 18, n. 3, p. 573-580. 2004.

FILIPJEV, I. N. On the classification of the Tylenchinae. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, Washington, v. 3, n. 2, p. 80-82, 1936.

FILIPJEV, I. N.; SCHUURMANS STEKHOVEN Jr, J. H. **A manual of agricultural helminthology**. Leiden: E. J. Brill, 1941. 878 p.

FRANCENER, A. *Byrsonima* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB19422>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

GHOSH, S.; DERLE, A.; AHIRE, M.; MORE, P.; JAGTAP, S.; PHADATARE, S. D.; PATIL, A. B.; JABGUNDE, A. M.; SHARMA, G. K.; SHINDE, V. S.; PARDESI, K.; DHAVALE, D. D.; CHOPADE, B. A. Phytochemical Analysis and Free Radical Scavenging Activity of Medicinal Plants *Gnidia glauca* and *Dioscorea bulbifera*. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 12, e82529, 2013.

GIRÃO, K. T. **Biometria de sementes, morfologia de plântulas e crescimento inicial de mudas de quimiotipos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

GODFREY, G. H. A destructive root disease of pineapples and other plants due to *Tylenchus brachyurus* n. sp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 19, p. 611-629, 1929.

GONÇALVES, N. P.; LUCENA, E. M. P. de; BONILLA, O. H. Fenologia da *Byrsonima gardneriana* (Malpighiaceae) ocorrente no Jardim Botânico de São Gonçalo do Amarante-Ceará-Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 64. 2013. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: PPG/SBB, 2013. p. 1.

GONZAGA, V.; SANTOS, J. M.; MENDONÇA, R. S.; SANTOS, M. A. Gênero *Pratylenchus*. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (ed.). **Diagnose de Fitonematoides**. 1. ed. Campinas: Millenium Editora, 2016. p. 71-98.

GOTTSBERGER, G.; EHRENDORFER, F. Hybrid speciation and radiation in the neotropical woody genus *Tocoyena* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 181, n. 3, p. 143-169, 1992.

GRAHAM, T. W. **Nematode root rot of tobacco and other plants**. South Carolina: Agricultural Experiment Station/Clemson Agricultural College, 1951. 22 p. (Bulletin, 390).

GUILHON-SIMPLICIO, F.; PEREIRA, M. M. Aspectos químicos e farmacológicos de *Byrsonima* (Malpighiaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 1032-1041, 2011.

GUIMARÃES, M. M.; SILVA, M. S. Valor nutricional e características químicas e físicas de frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 817-821, 2008.

HALBRENDT, J. M.; LaMONDIA, J. A. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKSON, D. W. (ed.). **Nematology – Advances and perspectives**. Volume 2: Nematode Management and Utilization. Wallingford: CABI Publishing, 2004. p. 909-930.

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

INSERRA, R. N.; DUNCAN, L. W.; TROCCOLI, A.; DUNN, D.; SANTOS, J. M.; KAPLAN, D.; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp.n. from citrus in Brazil and its relationship with *P. coffeae* and *P. loosi* (Nematode Pratylenchidae). **Nematology**, Leiden, v. 3, n. 7, p. 653-665, 2001.

IZQUIERDO, J. V. **The role of the association between ants and extranuptial nectaries on the fitness of *Tocoyena formosa* (Rubiaceae)**. 2017. 64 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.

JENKINS, W. R.; BIRD, C.W. Nematodes associated with wild yam, *Dioscorea* sp., with special reference to the pathogenicity of *Meloidogyne incognita incognita*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 46, n. 12, p. 858-860, 1962.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 14, n.9, p. 946-961, 2013.

JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO, J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 164, n. 2, p. 163-181, 2014.

KIILL, L. H. P.; LIMA, P. C. F. **Plano de manejo para espécies da caatinga ameaçadas de extinção na reserva legal do projeto salitre**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011. 55 p. (Documentos, 243).

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.

LEANDRO, L. M. G.; AQUINO, P. E. A.; MACEDO, R. O.; RODRIGUES, F. F. G.; GUEDES, T. T. A. M.; FRUTUOSO, A. D.; COUTINHO, H. D. M.; BRAGA, J. M. A.; RIBEIRO, T. R. G.; MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico da casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **Revista E-Ciência**, Juazeiro do Norte, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2013.

LIMA, E. A.; MELO, J. I. M. Biological spectrum and dispersal syndromes in an area of the semi-arid region of north-eastern Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 37, n. 1, p. 91-100, 2015.

LIMA, R. B. *Rhamnaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB20673>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

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

LIMA, R. S.; MUNIZ, M. F. S.; COSTA, J. G.; SILVA, K. B.; BEHLING, A. Extratos aquosos de *Annona* spp. e *Croton heliotropiifolius* sobre *Scutellonema bradys* e prospecção química dos compostos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 45, n. 2, p. 223-224, 2019.

LIRA, E. S. **Análise espaço-temporal da estrutura e fenologia da espécie *Byrsonima gardneriana* A. Juss em área de Caatinga no Semiárido alagoano**. 2016. 93 f. Dissertação

(Mestrado em Geografia: Dinâmica Socioambiental e Geoprocessamento) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

LIRA, V. L.; MOURA, R. M. Gramíneas e leguminosas para o controle do nematoide *Pratylenchus coffeae*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 13, p. 191-199, 2017.

LORDELLO, L. G. E. A nematosis of yam in Pernambuco, Brazil, caused by a new species of the genus *Scutellonema*. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 19, n. 1, p. 35-41, 1959.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006, 640 p.

LOOF, P. A. A. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus*. **Tijdschrift voor Plantenziekten**, Wageningen, v. 66, n. 2, p. 29-60, 1960.

LUC, M. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 10, n. 2, p. 203-218, 1987.

MADEIRA, N. R.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; GIORDANO, L. B. Contribuição portuguesa à produção e ao consumo de hortaliças no Brasil: uma revista histórica. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 428-432, 2008.

MAGALHÃES, I. C. S.; MUNIZ, M. F. S.; MOURA FILHO, G.; RAMÍREZ, C. H.; ARAÚJO, A. S.; SOARES, E. N. H. M. Extrato aquoso de folhas de pinheira no manejo da casca-preta-do-inhame. **Nematropica**, Bradenton, v. 50, p. 127-133, 2020.

MAHAJAN, R. T.; CHOPDA, M. Z. Phyto-Farmacologia de *Ziziphus jujuba* Mill-Uma revisão de plantas. **Pharmacognosy Reviews**, Raipur, v. 3, n. 2, p. 320-329, 2009.

MANTILA, J. E.; VARGAS, G. Propagacion del ñame (*Dioscorea alata* L.) a partir de estacas herbáceas. **Revista de la Facultad de Agronomia**, Maracay, n. 33, p. 385-396, 1984.

MAPA. **AGROFIT**. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 05 de fev. de 2022.

MARQUES, L.C. Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, São Paulo, v. 3, p. 74- 76, 2005.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: EMBRAPA/AGROBIOLOGIA, 2005. 32 p. (Documentos, 205).

MORAIS, A. C. M.; MUNIZ, M. F. S.; LIMA, R. S.; MOURA FILHO, G.; CASTRO, J. M. C. Organic-matter effects on populations of dry rot of yam nematodes. **African Journal of Agricultural Research**, Ago-Iwoye, v. 11, n. 17, p. 1494-1498, 2016.

MOURA, F. M. L.; ARREGUY BAPTISTA, R. I. A.; SANTOS, V. V. M.; MOURA, A. P. B. L.; COSTA, M. M. Utilização de plantas do bioma caatinga no controle de patógenos de interesse na área de alimentos—uma revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 7, n. 2, p. 125-136, 2013.

MOURA, R. M. A podridão seca, uma séria doença do inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.) no Estado da Paraíba. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, Brasília, v. 3, p. 76, 1969.

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. v. 2. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. p. 477-483.

MOURA, R. M.; MONTEIRO, A. R. *Pratylenchus coffeae* on yams in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 256, 1995.

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

MORO, M. F.; NIC-LUGHADHA, E.; FILER, D. L.; ARAÚJO, F. S.; MARTINS, F. R. A catalogue of the vascular plants of the Caatinga Phytogeographical domain: a synthesis of floristic and phytosociological surveys. **Phytotaxa**, Auckland, v. 160, n. 1, p.1-118, 2014.

MUNIZ, M. F. S.; SILVA, E. J.; CASTRO, J. M. C.; ROCHA, F. S.; ALENCAR, L. M. C.; GONZAGA, V. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. **Nematropica**, Bradenton, v. 42, n. 2, p. 198-200, 2012.

MURAYAMA, S. **Horticultura**. 2. ed. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1999. P. 201-205.

NGO-NGWE, M. F. S.; JOLY, S.; BOURGE, M.; BROWN, S.; OMOKOLO, D. N. Nuclear DNA content analysis of four cultivated species of yams (*Dioscorea* spp.) from Cameroon. **Journal of Plant Breeding and Genetics**, Berlin, v. 2, n. 2, p. 87-95, 2014.

OLIVEIRA, A. N. P.; OLIVEIRA, F. A.; SOUSA, L. C.; OLIVEIRA, A. P.; SILVA, J. A.; SILVA, D. F.; SILVA, N. V.; SANTOS, R. R. Adubação fosfatada em inhame em duas épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 456-460, 2011.

OLIVEIRA, A. P.; FREITAS NETO, A. P.; SANTOS, E. S. Yam yield as a result of organic, mineral fertilization and harvest time. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 144–147, 2001.

OLIVEIRA, A. P.; SILVA, D. F.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, A. N. P.; SANTOS, R. R.; SILVA, N. V.; OLIVEIRA, F. J. M. Tecnologia alternativa para produção de túberas-semente de inhame e seus reflexos na produtividade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 553- 556, 2012.

PALMEIRA JÚNIOR, S. F.; CONSERVA, L. M.; BARBOSA FILHO, J. M. Clerodane diterpenes from *Croton* species: Distribution and a compilation of their ¹³C-NMR spectral data. **Natural Product Communications**, Westerville, v. 1, n. 4, p. 319–344, 2006.

PENNINGTON, R. T.; LAVIN, M.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Woody plant diversity, evolution and ecology in the tropics: perspectives from seasonally dry tropical forests. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Stony Brook, v. 40, p. 437-457, 2009.

PEREIRA, J. V.; FREIRES, I. A.; CASTILHO, A. R.; CUNHA, M. G.; ALVES, H. S.; ROSALEN, P. L. Antifungal potential of *Sideroxylon obtusifolium* and *Syzygium cumini* and their mode of action against *Candida albicans*. **Pharmaceutical Biology**, London, v. 54, n. 10, p. 2312-2319, 2016.

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

ROCHA, C. S.; PIMENTEL, R. M. M.; RANDAU, K. P.; XAVIER, H. S. Morfoanatomia de folhas de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae); uma espécie utilizada como medicinal no nordeste do Brasil. **Acta Farmacologica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 23, n. 4, p. 472-476, 2004.

ROMÁN, J.; SOSA-MOSS, C. Observaciones sobre la asociacion de *Pratylenchus brachyurus* com la pudricion seca del barbasco, *Dioscorea floribunda*, em la region tropical de México. **Nematropica**, Bradenton, v. 7, p. 25-26, 1977.

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

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**, Campinas, v. 1, p. 13-16, 2003.

SANTOS, E. S. **Inhame (*Dioscorea* spp.): aspectos básicos da cultura**. João Pessoa: Embrapa, 1996. 158p.

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. **Anais [...]**. João Pessoa: Emepa-PB, 2002. p. 181-196.

SANTOS, E. S.; CAZÉ FILHO, J.; LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Inhame (*Dioscorea* sp.): tecnologias de produção e preservação ambiental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 31-36, 2007.

SANTOS, E. S.; LACERDA, J. T.; MATIAS, E. C.; BARBOSA, M. M. **Cultivo do inhame em base agroecológica**. João Pessoa: EMEPA-PB, v. 1, 2012. 60p.

SANTOS, E. S.; MACEDO, L. S.; MATIAS, E. C.; MELO, A. S. **Contribuição tecnológica para a cultura do inhame no estado da Paraíba**. João Pessoa: EMEPA/PB, 1998. 84p. (Documentos, 23).

SANTOS, F. G.; RODRIGUES, J. A. S.; SCHAFFERT, R. E.; LIMA, J. M. P.; PITTA, G. V. E.; CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. **BRS Ponta Negra Variedade de Sorgo Forrageiro**. Sete Lagoas: EMBRAPA/MILHO E SORGO, 2007. 6 p. (Comunicado Técnico, 145).

SANTOS, L. B. D.; SOUZA, J. K.; PAPASSONI, B.; BORGES, D. G. L.; DAMASCENO JUNIOR, G. A.; SOUZA, J. M. E. D.; CAROLLO, C. A.; BORGES, F. D. A. Efficacy of extracts from plants of the Brazilian Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jobitacabal, v. 22, n. 4, p. 532-538, 2013.

SANTOS, M. G. S.; SILVA, T. C.; COSTA, R. R.; BARBOSA, J. P. F.; SANTOS, A. F. Análise da prospecção fitoquímica da espécie *Ziziphus cotinifolia* Reissek. **Diversitas Journal**, Arapiraca, v. 6, n. 2, p. 2839–2858, 2021.

SANTOS FILHO, L. C. **Efeito de extratos de *Croton* spp. sobre *Scutellonema bradys* e *Pratylenchus* sp. e caracterização fitoquímica de extratos de *C. heliotropiifolius***. 2019. 44 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo.

SARTIE, A.; ASIEDU, R.; FRANCO, J. Genetic and Phenotypic Diversity in a Germplasm Working Collection of Cultivated Tropical Yams (*Dioscorea* spp.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 59, n. 8, p. 1753–1765, 2012.

SHER, S. A. Revision of the Hoplolaiminae (Nematoda) III. *Scutellonema* Andrassy, 1958. **Nematologica**, Leiden, v. 9, n. 3, p. 421–443, 1963.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 178 p.

SILVA, F. F. S.; DANTAS, B. F. *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) T.D. Penn. **QUIXABEIRA**. Maringá: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 2017. 7 p. (Nota Técnica, 1).

SILVA, L. L. H. **Avaliação das características dendrométricas, físicas, químicas e energéticas da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) e da leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) R. de Wit)**. 2014. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

SILVA, L. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na emergência de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 691-697, 2002.

SILVA, L. R. G.; BAJAY, M. M.; MONTEIRO, M.; MEZETTE, T. F.; NASCIMENTO, W. F.; ZUCCHI, M. I.; PINHEIRO, J. B.; VEASEY, E. A. Isolation and characterization of microsatellites for the yam *Dioscorea cayenensis* (Dioscoreaceae) and cross-amplification in *D. rotundata*. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 13, n 2, p. 2766-2771, 2014.

SILVA, M. E.; MUNIZ, M. F. S.; SILVA, A. B.; CASTRO, J. M. C.; MOURA FILHO, G.; ROCHA, F. S.; LIRA, A. D.; SILVA, M. B. Crop sequence in the management of dry rot disease of yam under field conditions. **Nematropica**, Bradenton, v. 44, n. 1, p. 57-63, 2014.

SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J. R. *Anacardiaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB44>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J. R.; PELL, S. K.; MITCHELL, J. D. *Anacardiaceae* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4394>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

SIQUEIRA, M. V. B. M. Yam: a neglected and underutilized crop in Brazil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 16–20, 2011.

SOUSA, R. L. **Nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) no cerrado brasileiro com ênfase nos danos causados à cultura do arroz**. 2018. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

SOUZA, L. C. D.; SÁ, M. E.; MORAES, S. M. B.; CARVALHO, M. A. C.; SILVA, M. P.; ABRANTES, F. L. Composição química e nutrientes em sementes das espécies florestais pente de macaco, flor de paca, itaúba, jatobá e murici manso. **Revista bioscience journal**, Uberlândia, v. 28, n. 3, p. 478-483, 2012a.

SOUZA, M. A. **Fitossociologia em áreas de caatinga e conhecimento etnobotânico do murici (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.), Semiárido Alagoano**. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia.

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

STEINER, G.; LEHEW, R. R. *Hoplolaimus bradys* n. sp. (Tylenchidae, Nematodes), the cause of a disease of yam (*Dioscorea* sp.). **Zoologischer Anzeiger**, Jena, v. 101, n. 9/10, p. 260-264, 1933.

STIRLING, G. R.; WILSON, E. J.; STIRLING, A. M.; PANKHURST, C. E.; MOODY, P. W.; BELL, M. J. Organic amendments enhance biological suppression of plant-parasitic

nematodes in sugarcane soils. **Proceeding of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**, Brisbane, v. 25, p. 11, 2003.

TAIZ, L. Metabolismo secundário e defesa vegetal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (ed.). **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 309-332.

TARTE, R.; MAI, W. F. Sex expression and tail morphology of female progenies of smooth-tail and crenate-tail females of *Pratylenchus penetrans*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 8, n. 3, p. 196, 1976.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: Funep, 1993, 372p.

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, Fortaleza.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. **Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba: USP/Esalq, 2003. 30 p. (Documentos Florestais, 17).

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: EMBRAPA/CLIMA TEMPERADO, 2010. 16 p. (Documentos, 316).

VON DADAY, E. Untersuchungen ueber die Susswasser-Mikrofauna Paraguays. *Zoologica*, Stuttgart, v. 18, n. 44, p. 1-374, 1905.

WANG, E. L. H.; BERGESON, G. B. Biochemical changes in root exsudate and xylem sap of tomato plants infected with *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 6, n. 4, p. 194-202, 1974.

WU, X. A.; ZHAO, Y. M. Advance on chemical composition and pharmacological action of *Croton* L. **Natural Product Research and Development**, Chengdu, v. 16, n. 5, p. 467–472, 2004.

XU, W. H.; LIU, W. Y.; LIANG, Q. Chemical constituents from *Croton* species and their biological activities. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 2333, 2018

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F. X. R. Efeito da nutrição mineral sobre doenças de plantas causadas por patógenos de solo. *In*: ZAMBOLIM, L. (ed.). **Manejo integrado fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: UFV, 2001. p. 347-408.

ZIMMERMANN, A. De nematoden der koffiewortels. Deel I. Buitenzorg: Mededeel.'s Lands Plantentuin, 1898. 64 p.

CAPÍTULO II

Pratylenchus species associated with yam in Northeast Brazil

Artigo para submissão: **Journal of Nematology**

Qualis CAPES: B1, Fator de Impacto: 1.402

Mayara Castro Assunção

Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Departamento de Agronomia, Universidade
Federal Rural de Pernambuco, 52.171-900, Recife, PE, Brazil

E-mail: mayara_castroa@hotmail.com

PRATYLENCHUS SPECIES ASSOCIATED WITH YAM IN NORTHEAST BRAZIL

Mayara Castro Assunção^{1*}; Francisco Jorge Carlos de Souza Junior¹; Jaime Corbiniano dos
Santos Neto²; Liany Regina Bezerra de Oliveira Silva², Arielena Augusta Rodrigues Mello²;
Rosana Blawid¹; Elvira Maria Régis Pedrosa³; Lilian Margarete Paes Guimarães¹

Received for publication

¹Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Departamento de Agronomia, Universidade
Federal Rural de Pernambuco, 52.171-900, Recife, PE, Brazil.

²Graduando em Agronomia, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de
Pernambuco, 52.171-900, Recife, PE, Brazil.

³Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Departamento de Engenharia Agrícola,
Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52.171-900, Recife, PE, Brazil.

To the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for
granting a scholarship to the first author.

E-mail: mayara_castroa@hotmail.com

This paper was edited by

Running Head: *Pratylenchus* species associated with yam in northeast Brazil: Assunção et al.

Abstract: Yam (*Dioscorea* spp.) in Brazil is relevant since it has a sociocultural and economic role for producing regions, such as the Northeast region, which is the largest national producer. However, phytosanitary problems affect this crop, among which the dry rot, the main disease caused mostly by *Pratylenchus* spp. Thus, the objective of this work was to identify *Pratylenchus* species, through morphometric and molecular characters, in yam cultivation areas located in the Northeast region of Brazil. The populations of *Pratylenchus* spp. were collected in yam production areas present in the states of Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte and Sergipe. Morphometric characterization was based on 20 females and molecular analysis on the ITS and 28S regions of the rDNA. The species *P. coffeae*, *P. brachyurus* and *P. zae* were identified in all production areas sampled, with prevalence of *P. coffeae* and being the first report of *P. zae* associated with dry rot in Brazil. The occurrence of these *Pratylenchus* species highlights the importance of these nematodes as damage-inducing agents in *Dioscorea* spp., admitting the need for this knowledge for the adoption of effective management measures.

Keywords: *Dioscorea* spp., molecular biology, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus coffeae*, *Pratylenchus zae*, root-lesion nematode

Yam is a monocotyledonous plant it belongs to the family Dioscoreaceae, genus *Dioscorea* L. and has about 600 species distributed in subtropical or tropical areas of Africa, Asia, Oceania, and the Americas, precisely in South America (Ngo-Ngwe et al., 2014). The main areas of world production are in West Africa, however, among the South American countries, Brazil has a planted area of approximately 25 thousand hectares with a production of 250 thousand tons (Food Agriculture Organization (FAO), 2020).

The Northeast region of Brazil is the largest national producer, trader, and consumer of yam, cultivating mainly the species *D. cayenensis* Lam. and *D. alata* L. (Brito et al., 2011). However, despite being expressive, production losses are estimated between 23% and 56%, and one of the responsible factors is the occurrence of diseases. Among these the dry rot, distributed in the main producing areas of the region, whose etiological agents are nematodes of the genus *Pratylenchus* Filipjev, with featured on species *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven and *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, in addition to *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew) Andr  ssy (Oliveira et al., 2012; Moura, 2016).

Dry rot is the main disease of yam due to the permanent spread of nematodes, provided by the commercialization and successive planting of contaminated seed tubers; low resistance of infected tubers; management difficulties; and the impossibility of commercialization the product (Moura, 2006). Recently, in yam cultivation areas in the Northeast region, the presence of *S. bradys*, associated with this disease, has been restricted, thus, *Pratylenchus* spp. becomes the causal agent of major economic importance, since it is present in all the producing States of the culture (Muniz et al., 2012).

The genus *Pratylenchus*, also known as root-lesion nematode, has a wide geographic distribution, is polyphagous and, among the plant-parasitic nematodes, occupies the third position in the world ranking, and in Brazil, it is considered the second of plant parasite importance (Lordello, 1981; Jones et al., 2013). For the identification of this genus, the morphology and morphometric characteristics are remarkable, however, identifying the species is complex, as the specimens are similar, presenting a small number of characters to distinguish them, in addition to inter and intraspecific variability (Loof, 1960; Luc, 1987).

Given the limitations of morphometric identification, the use of molecular methods becomes an important tool for a taxonomy of nematodes of the genus *Pratylenchus*. Through DNA analysis, performed at any stage of development, and PCR amplification can obtain several nucleotides of interest for the target study, which, for the most part, search the specific

diagnosis and the analysis of phylogenetic relationships between species from ribosomal DNA sequences (rDNA) (Gonzaga et al., 2016).

Currently, for the genus *Pratylenchus*, a polyphasic identification is applied, mainly through the ITS and 28S regions of the rDNA (Jones and Fosu-Nyarko, 2014). The simultaneous use of different regions with different properties for the evaluation of populations is applied to provide a more robust molecular diagnosis, in addition to analyzing evolutionary hypotheses. However, the morphometric characterization continues to be aggregated to compose the diagnosis, of both new species and species described, to obtain larger confidence of the data and a broader understanding of the relationships (Gonzaga et al., 2016).

Given the losses caused by the dry rot in the yam production areas in the Brazilian Northeast and the search for a broader understanding of the interaction of culture with nematodes of the genus *Pratylenchus* that cause this disease, this work aimed at the morphometric and molecular characterization of *Pratylenchus* species associated with the disease in *Dioscorea* spp.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining the populations:

The collections were carried out between September and December 2019, using rhizospheric soil samples and tubers of *D. cayenensis*, with 224 samples, and *D. alata*, with 35 samples, in yam production areas in the states of Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, and Sergipe in Northeast Brazil.

For the sampling, areas with a history of low productivity were chosen, being carried out the zig-zag, collecting four points size of the area, to form a composite sample, collecting approximately 1.0 kg of soil and a yam tuber to compose the isolates from each area.

The samples pattern were processed to extract the nematodes from the soil, following the methodology of Jenkins (1964), 100 cm³ being used as the final volume. In the extraction of specimens from the tubers, all the tuber peel was processed, then weighed, and followed the protocol of Coolen and D'Herde (1972).

Morphometric characterization:

For the morphometric identification, 20 adult females were used, being analyzed the characters: body length (L), stylet length, a (body length divided by the greatest width), b (body length divided by esophagus length), b' (body length divided by the distance from anterior end to esophagus end), c (body length divided by tail), c' (tail length divided by body width in the anal region) e V% (distance from anterior end to vulva, as a percentage of total body length), according to Castillo and Vovlas (2007), observed under inverted light microscopy.

Permanently mounted slides followed the protocol described by Jenkins and Taylor (1967), for recording morphometric and morphological characteristics in addition to keeping the species in the collection.

Molecular analysis:

For molecular characterization, 16 samples from Alagoas, 10 samples from Pernambuco, 9 samples from Maranhão, 9 samples from Rio Grande do Norte, 7 samples from Bahia, 7 samples from Paraíba, 6 samples from Sergipe, 2 samples from Ceará and 1 sample from Piauí were used. The extraction of genomic DNA was performed by selecting a specimen for each population of *Pratylenchus* and in a microcentrifuge tube it was macerated with a buffer, centrifuged at 14,000 rpm, and heated at 65 °C for 2 hours and at 99 °C for 5 min; then, the samples were kept frozen.

PCR amplifications were performed with the master mix kit according to the manufacturer's recommendations and 1 µL of genomic DNA, totaling a final volume of 12.5 µL. After DNA amplification, a PCR product was used for electrophoresis in 1% agarose gel, visualized in a transilluminator of UV light.

The primers VRain2F (5'-CTTTGTACACACCGCCCGTCGCT-3') and VRain2R (5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGGAGAATC-3') (Vrain et al., 1992) were used for the ITS region and D2A (5'-ACAAGTGTGAGGGAAAGTTG-3') and D3B (5'-TCGGAAAGACAGCTACTAGGATA-3') (De Ley et al., 1999) for D2–D3 28S rDNA.

Consensus sequences were formed from forward and reverse sequences using the Staden package (Staden et al., 2000). All consensus sequences obtained were used for comparison with the NCBI nucleotide database, based on research with the blastn algorithm. Multiple sequence alignments were performed with the online version of MAFFT 7 with the iterative refinement method L-INS-i (Katoh and Standley, 2013).

Phylogenetic analysis used maximum likelihood (ML) methods for single genes, performed via RAxML-HCP2 v.8.2.8 (Stamatakis, 2014) implemented in the CIPRES Portal v.2.0 (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>) with 1,000 replications in the GTR-GAMMA model.

RESULTS

In all yam production areas sampled, the presence of the genus *Pratylenchus* was observed. According to the morphometric and molecular characterization observed for the populations of *Pratylenchus*, three species were identified: *P. coffeae*, *P. brachyurus*, and *P. zaeae* Graham with a predominance in soil and tuber of *P. coffeae*, corresponding to 49% of all specimens (127 populations), *P. brachyurus* with 46% of the total (119 populations) and *P.*

zeae in only 5% of the isolates (13 populations) (Figure 1A).

In relation to the distribution of *Pratylenchus* spp. for *Dioscorea* species, for *D. cayenensis* from the total of 224 samples, 52% were *P. coffeae*, 44% *P. brachyurus* and 5% *P. zae*, while for *D. alata*, from the total of 35 samples, *P. brachyurus* prevailed with 57% of the sample, *P. coffeae* was present in 31% of the samples and *P. zae* obtained 12% of the total sampled (Figure 1B, C).

For the prevalence of *Pratylenchus* species per state, in Alagoas, Maranhão, Paraíba, Pernambuco and Sergipe there was presence of the species *P. coffeae*, *P. brachyurus* and *P. zae*; while Bahia, Ceará and Rio Grande do Norte noticed the occurrence of *P. coffeae* and *P. brachyurus*; in the state of Piauí only the species *P. coffeae* was found (Figure 2 and Table 1).

For the states of Maranhão, Sergipe and Paraíba there was a prevalence of the species *P. brachyurus*, followed by *P. coffeae* and *P. zae*. The states of Alagoas and Pernambuco had more populations of *P. coffeae*, followed by *P. brachyurus* and *P. zae*. In the states of Ceará and Rio Grande do Norte, *P. brachyurus* occurred in greater numbers, followed by *P. coffeae*. In Bahia there was a prevalence of *P. coffeae*, followed by *P. brachyurus*. Piauí presented only populations of *P. coffeae* (Figure 2).

Morphometric characterization:

The females of *P. coffeae* presented measuring stylet 16.8 μm ; the position of the vulva was 83.2% of body length; $c = 23.1 \mu\text{m}$ and $c' = 1.9 \mu\text{m}$. The total body length was 731.9 μm , with $a = 27.8 \mu\text{m}$, $b = 7.1 \mu\text{m}$, and $b' = 5.7 \mu\text{m}$. The tail shape of females was predominantly truncated and males were present (Figure 3).

For *P. brachyurus* the total body length was 557.3 μm , with $a = 25.8 \mu\text{m}$, $b = 8.7 \mu\text{m}$ and $b' = 4.7 \mu\text{m}$; the stylet obtained 20.3 μm of length; the position of the vulva corresponded to 86.2% of body length; tail measurements were $c = 20.3 \mu\text{m}$ and $c' = 2.4 \mu\text{m}$. The tail was hemispherical with a smooth end, commonly marked for this species, and males were not observed (Figure 4).

The females of *P. zae* showed a body length of 600.4 μm , with $a = 22.2 \mu\text{m}$, $b = 6.2 \mu\text{m}$ and $b' = 3.3 \mu\text{m}$; the stylet measured 16.9 μm of length; the position of the vulva was 70.3% of body length; the tail measurements were $c = 17.3 \mu\text{m}$ and $c' = 2.1 \mu\text{m}$. The tail was subacute with a smooth end (Figure 5).

Molecular analysis:

Alignments included 259 *Pratylenchus* sequences and one outgroup sequences for ITS and two outgroups for D2-D3 28S. Populations CN044 to CN077 used for molecular analysis showed 99% sequence identity with *P. coffeae* from Australia and China; CN078 to CN110

showed 98% homology coverage with *P. brachyurus* sequences from Brazil and Kenya; and populations CN0033 to CN0043 showed 90% sequence homology with *P. zae* from Brazil for the ITS region and 93% identity with *P. zae* sequences from Kenya and China for sequence D2-D3 28S (Figure 6 and Figure 7).

DISCUSSION

A survey conducted in the state of Alagoas, Brazil, in the main yam producing regions, also recorded the presence of the species *P. coffeae* and *P. brachyurus* in tubers of *Dioscorea* spp., based on morphometric characterization (Muniz et al., 2012). In 2019, also morphometrically identified nematodes associated with yam, *Dioscorea* spp., in production areas in the state of Alagoas, among which, *P. coffeae* and *Pratylenchus* sp. (Almeida et al., 2019).

For the state of Pernambuco, Brazil, research carried out in *D. cayenensis* crops in producing municipalities, only *P. coffeae* populations were obtained, being identified through morphometric characters (Moura et al., 2005). Also, in the state of Pernambuco, a survey carried out based on morphometric and molecular data of the D2-D3 28S rDNA sequences, regarding the occurrence of *Pratylenchus* associated with the tubers and yam roots, only the occurrence of the species *P. coffeae* was recorded (Lira et al., 2014).

In 2017, *P. coffeae*, *P. brachyurus*, and *P. zae* were also described in association with *Dioscorea* spp. in production fields in Costa Rica (Humphreys-Pereira et al. 2017), in addition to *P. gutierrezii*. In West Africa, research in yam areas in Nigeria, regarding the presence of nematodes, the occurrence of *Pratylenchus* spp. parasitizing the evaluated tubers (Isegbe et al., 2017).

In work carried out on the West Coast of Africa, the main yam producing region in the world, the occurrence of *P. brachyurus* and *P. zae* in tubers was reported, together with the species *P. hexincisus* (Kolombia et al., 2020). The data highlight the potential threat of *Pratylenchus* for the planting of this culture in Brazil, as well as for the world production areas, being essential to estimate the situation of the crops about the prevalence of the species.

In addition to yam, the root lesion nematode is also found parasitizing roots and tubers of other tuber crops. In a survey carried out by Lima-Medina et al. (2014) in areas of commercial production of potato (*Solanum tuberosum* L.) in the states of Rio Grande do Sul, Santa Catarina, and Paraná, in Brazil, the species *P. brachyurus* was identified. While Silva (2009) described the occurrence of *P. brachyurus* and *P. coffeae* associated with potato tubercles in the main producing regions of Brazil.

In cassava (*Manihot esculenta* Crantz), *Pratylenchus* species are also found parasitizing

the roots. When evaluating cassava growing areas located in the states of Acre, Amapá, Pará, and Rondônia, in Brazil, Rosa et al. (2014) recorded the presence of the species *P. brachyurus* and *P. zae*. Work realized by Almeida (2009) found that there is a prevalence of the species *P. brachyurus* parasitizing cassava tubers in the Recôncavo region of Bahia.

In addition to Brazil, as well as in yam, *Pratylenchus* spp. it is also present in tuberose producing areas around the world. It has been reported in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Poir.) in Kenya (Karuri et al., 2017), in potato in the producing regions of Peru (Flores-Choque et al., 2017) and cassava in Nigeria (Ekine et al., 2018). All are crops of interest, as they have economic importance and in subsistence for their respective countries.

The *Pratylenchus* species also parasitize other plant species that, in Northeast Brazil, commonly precede or follow yam areas, or are located nearby, such as sugarcane, pastures, and bean. The nematode remains in the field and infects the yam when it is planted since these cultures are hosts and share the *Pratylenchus* species: *P. zae* and *P. brachyurus* in sugarcane and pastures (Carvalho et al., 2013; Noronha et al., 2017) and *P. brachyurus* in bean (Bonfim Junior et al., 2021).

The nematodes *Pratylenchus* spp. can survive in weeds, both in the absence of the main crop and when yam is present, which can increase the population level of inoculum in the soil and cause severe damage (Claudius-Cole and Aworetan, 2007; Braz et al., 2016). In a survey carried out by Almeida et al. (2019) the occurrence of *P. coffeae* in weeds in the areas of *Dioscorea* spp. and it was found that the nematode was associated with most of the plant species analyzed, confirming the polyphagous habit and survival strategies of *Pratylenchus*.

However, this is the first record of *P. coffeae*, *P. brachyurus*, and *P. zae*, using integrative taxonomy - morphometric and molecular characterization -, associated with yam in producing areas of all states in Northeast Brazil. Thus, the work updates information on the occurrence of *Pratylenchus* species parasitizing *D. cayenensis* and *D. alata*, causing dry rot, and contributes to the adoption of more strategic management measures in yam production fields.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for granting a scholarship to the first author.

LITERATURE CITED

- Almeida, A. V. D. L., Muniz, M. F. S., Noronha, M. A., Souza, R. C., Moura Filho, G., and Farias, S. P. 2019. *Scutellonema bradys* and *Pratylenchus* spp. associated with weeds in yam fields. *Nematology* 21:805-811.
- Almeida, N. S. 2009. Dinâmica populacional de nematóides patogênicos ao inhame e à mandioca no Recôncavo da Bahia. M.S. dissertation, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.
- Bonfim Junior, M. F., Inomoto, M. M., and Araújo Filho, J. V. D. 2021. Phytonematodes infesting common bean fields in Brazil, and pathogenicity tests with *Pratylenchus brachyurus*. *Arquivos do Instituto Biológico* 88:1-11.
- Braz, G. B. P., Oliveira Jr, R. S., Constantin, J., Raimondi, R. T., Ribeiro, L. M., Gemelli, A., and Takano, H. K. 2016. Plantas daninhas como hospedeiras alternativas para *Pratylenchus brachyurus*. *Summa Phytopathologica* 42:233-238.
- Brito, T. T., Soares, L. S., Furtado, M. C., Castro, A. A., and Carnelossi, M. A. G. 2011. Composição centesimal de inhame (*Dioscorea* sp.) in natura e minimamente processado. *Scientia Plena* 7:1-7.
- Carvalho, C. D., Fernandes, C. D., Santos, J. M. D., and Macedo, M. C. M. 2013. Densidade populacional de *Pratylenchus* spp. em pastagens de *Brachiaria* spp. e sua influência na disponibilidade e na qualidade da forragem. *Revista Ceres* 60:30-37.
- Castillo, P., and Vovlas, N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. Leiden: Brill.
- Claudius-Cole, A. O., and Aworetan, A.O. 2007. Survival of the yam nematode, *Scutellonema bradys* in soil and roots of some weed hosts between the yam-growing seasons. *Journal of Agriculture, Forestry and the Social Sciences* 5:132-142.
- Coolen, W. A., and D'Herde, C. J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Agricultural Research Center.
- De Ley, P., Felix, M. A., Frisse, L. M., Nadler, S. A., Sternberg, P. W., and Thomas, W. K. 1999. Molecular and morphological characterization of two reproductively isolated species with mirror-image anatomy (Nematoda: *Cephalobidae*). *Nematology* 1:591-612.
- Ekine, E. G., Gboeloh, L. B., and Elele, K. 2018. Plant parasitic nematode of cassava, *Manihot esculenta*, cultivated in Ahoadaeast local government area in rivers state, Nigeria. *Applied Science Report* 21:38-42.
- Flores-Choque, Y., Bravo Portocarrero, R., Lima-Medina, I., and Machaca Calsin, C. 2017.

Prospección de nematodos fitoparásitos en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la Región Puno. *Revista de Investigaciones Altoandinas* 19:11-20.

Food Agriculture Organization (FAO) 2020. FAOSTAT. Statistical Databases, available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (accessed January 03, 2022).

Gonzaga, V., Santos, J. M., Mendonça, R. S., and Santos, M. A. 2016. Gênero *Pratylenchus*. Pp. 71-98 in C. M. G. Oliveira, M. A. Santos, and L. H. S. Castro, ed. *Diagnose de Fitonematoides*. Campinas: Millenium Editora.

Humphreys-Pereira, D. A., Flores-Chaves, L., Salazar, L., and Gómez-Alpízar, L. 2017. Plant-parasitic nematodes associated with yams (*Dioscorea* spp.) and identification of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in three yam-growing regions of Costa Rica. *Nematropica* 47:120-134.

Isegbe, V., Habib, M. A., and Solomon, S. 2017. Regular article studies on the occurrence and population distribution of nematodes with yam (*Dioscorea rotundata* Poir) tubers in Benue state, Nigeria. *Journal of Ecobiotechnology* 9:24-30.

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

Jenkins, W. R., and Taylor, D. P. 1967. *Plant Nematology*. London: Reinhold Publishing Corporation.

Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G. K., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J. E., Wesemael, W. M. L., and Perry, R. N. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 14:946-961.

Jones, M. G. K., and Fosu-Nyarko, J. 2014. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. *Annals of Applied Biology* 164:163-181.

Karuri, H. W., Olago, D., Neilson, R., Njeri, E., Opere, A., and Ndegwa, P. 2017. Plant parasitic nematode assemblages associated with sweet potato in Kenya and their relationship with environmental variables. *Tropical Plant Pathology* 42:1-12.

Katoh, K., and Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30:772-780.

Kolombia, Y. A., Ogundero, O., Olajide, E., Viaene, N., Kumar, P. L., Coyne, D. L., and Bert, W. 2020. Morphological and molecular characterization of *Pratylenchus* species from Yam (*Dioscorea* spp.) in West Africa. *Journal of Nematology* 52:1-25.

- Lima-Medina, I., Gomes, C. B., and Gonzaga, V. 2014. Caracterização de espécies do nematoide das lesões em batata na região sul do Brasil e reação de genótipos a *Pratylenchus brachyurus*. *Nematropica* 40:101-106.
- Lira, V. L., Rosa, J. M. O., Oliveira, S. A., Oliveira, C. M. G., and Moura, R. M. 2014. Morphometric and molecular analysis of *Pratylenchus coffeae* populations from yam tubers, Pernambuco State, Brazil. *Nematropica* 44:152- 165.
- Lordello, L. G. E. 1981. Nematóides das plantas cultivadas. São Paulo: Nobel.
- Loof, P. A. A. 1960. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus*. *Tijdschrift voor Plantenziekten* 66:29-60.
- Luc, M. 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. *Revue de Nématologie* 10:203-218.
- Moura, R. M. 2016. Doenças do inhame-da-costa. Pp. 477-483 in L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamin Filho, and L. E. A. Camargo, ed. *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. Ouro Fino: Agronômica Ceres.
- Moura, R. M. 2006. Principais doenças do inhame-da-costa no Nordeste do Brasil. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica* 3:180-199.
- Moura, R. M., Oliveira, I. S., and Torres, G. R. C. 2005. Fitonematóides associados ao inhame da costa em seis municípios produtores da Zona da Mata do Estado de Pernambuco, Brasil. *Nematologia Brasileira* 29:299-302.
- Muniz, M. F. S., Silva, E. J., Castro, J. M. C., Rocha, F. S., Alencar, L. M. C., and Gonzaga, V. 2012. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. *Nematropica* 42:198-200.
- Ngo-Ngwe, M. F. S., Joly, S., Bourge, M., Brown, S., and Omokolo, D. N. 2014. Nuclear DNA content analysis of four cultivated species of yams (*Dioscorea* spp.) from Cameroon. *Journal of Plant Breeding and Genetics* 2:87-95.
- Noronha, M. A., Muniz, M. F. S., Cruz, M. M., Assunção, M. C., Castro, J. M. C., Oliveira, E. R. L., Miranda, C. G. S., and Machado, A. C. Z. 2017. *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in sugarcane fields in the state of Alagoas, Brazil. *Ciência Rural* 47:e20151402.
- Oliveira, A. P., Silva, D. F., Silva, J. A., Oliveira, A. N. P., Santos, R. R., Silva, N. V., and Oliveira, F. J. M. 2012. Tecnologia alternativa para produção de túberas-semente de inhame e seus reflexos na produtividade. *Horticultura Brasileira* 30:553- 556.
- Rosa, J. M. O., Oliveira, S. A. D., Jordão, A. L., Siviero, A., and Oliveira, C. M. G. D. 2014. Nematoides fitoparasitas associados à mandioca na Amazônia brasileira. *Acta Amazonica* 44:271-275.

- Silva, A. R. 2009. Fitonematóides na cultura da batata: reação de genótipos a *Meloidogyne* spp., distribuição de espécies e caracterização dos sintomas. Ph.D. thesis, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Staden, R., Beal, K. F., and Bonfield, J. K. 2000. The Staden package, 1998. *Methods in Molecular Biology* 132:115-30.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313.
- Vrain, T. C., Wakarchuk, D. A., Levesque, A. C., and Hamilton, R. I. 1992. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology* 15:563-573.

TABLES

Table 1. *Pratylenchus* species on yam growing areas in Northeast region, Brazil.

State	Municipality	Yam species	<i>Pratylenchus</i> species	Sample
Alagoas	Chã Preta	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Alagoas	Chã Preta	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Alagoas	Chã Preta	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Alagoas	Viçosa	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Alagoas	Viçosa	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Alagoas	Viçosa	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Alagoas	Paulo Jacinto	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Alagoas	Paulo Jacinto	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Alagoas	Paulo Jacinto	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Alagoas	Atalaia	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Alagoas	Atalaia	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Alagoas	Atalaia	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. zae</i>	Soil
Alagoas	Mar Vermelho	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Alagoas	Mar Vermelho	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Alagoas	Quebrangulo	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Alagoas	Quebrangulo	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Alagoas	Quebrangulo	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Alagoas	Quebrangulo	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. zae</i>	Soil
Bahia	São Felipe	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Bahia	São Felipe	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Bahia	Maragogipe	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Bahia	Maragogipe	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Bahia	Cruz das Almas	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Bahia	Cruz das Almas	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Bahia	Cruz das Almas	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Ceará	Morada Nova	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Ceará	Morada Nova	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Maranhão	São João dos Patos	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Maranhão	São João dos Patos	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Maranhão	São João dos Patos	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. zae</i>	Soil

Maranhão	Colinas	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Maranhão	Colinas	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Maranhão	Colinas	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Maranhão	Paraibano	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Maranhão	Paraibano	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Maranhão	Fortuna	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Maranhão	Fortuna	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Paraíba	Conde	<i>D. alata</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Paraíba	Conde	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Paraíba	Conde	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Paraíba	Conde	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. zeae</i>	Soil
Paraíba	Condado	<i>D. alata</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Paraíba	Sapé	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Paraíba	Mataraca	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Paraíba	Sousa	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Pernambuco	Chã Grande	<i>D. alata</i>	<i>P. zeae</i>	Tuber
Pernambuco	Goiana	<i>D. alata</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Pernambuco	Goiana	<i>D. alata</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Pernambuco	Goiana	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Pernambuco	Goiana	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Pernambuco	Goiana	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Pernambuco	Goiana	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. zeae</i>	Soil
Pernambuco	Bonito	<i>D. alata</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Pernambuco	Bonito	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Tuber
Pernambuco	Bonito	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Pernambuco	Bonito	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Pernambuco	Bonito	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. zeae</i>	Soil
Pernambuco	Recife	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Piauí	Picos	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Rio Grande do Norte	Vera Cruz	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Rio Grande do Norte	Vera Cruz	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Rio Grande do Norte	Vera Cruz	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Rio Grande do Norte	Bom Jesus	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Rio Grande do Norte	Bom Jesus	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber

Rio Grande do Norte	Bom Jesus	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Rio Grande do Norte	Macaíba	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Rio Grande do Norte	Macaíba	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Rio Grande do Norte	Macaíba	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Sergipe	Malhador	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. coffeae</i>	Soil
Sergipe	Malhador	<i>D. alata</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Sergipe	Malhador	<i>D. alata</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soil
Sergipe	Malhador	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Sergipe	Malhador	<i>D. alata</i>	<i>P. zeae</i>	Tuber
Sergipe	São Cristovão	<i>D. cayenensis</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber
Sergipe	São Cristovão	<i>D. alata</i>	<i>P. brachyurus</i>	Tuber

LEGENDS FOR FIGURES

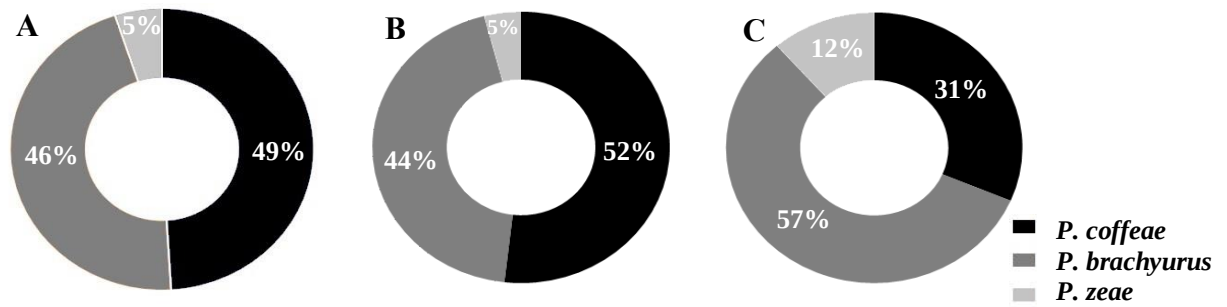


Fig. 1 Proportion of *Pratylenchus* species associated with yam in Northeast Brazil. A: Total amount of *Pratylenchus* spp. in all sampled areas. The total number of isolates is 259; B: Sampling in *D. cayenensis*. Total of 224 samples; C: Sampling in *D. alata*. Total of 35 samples.

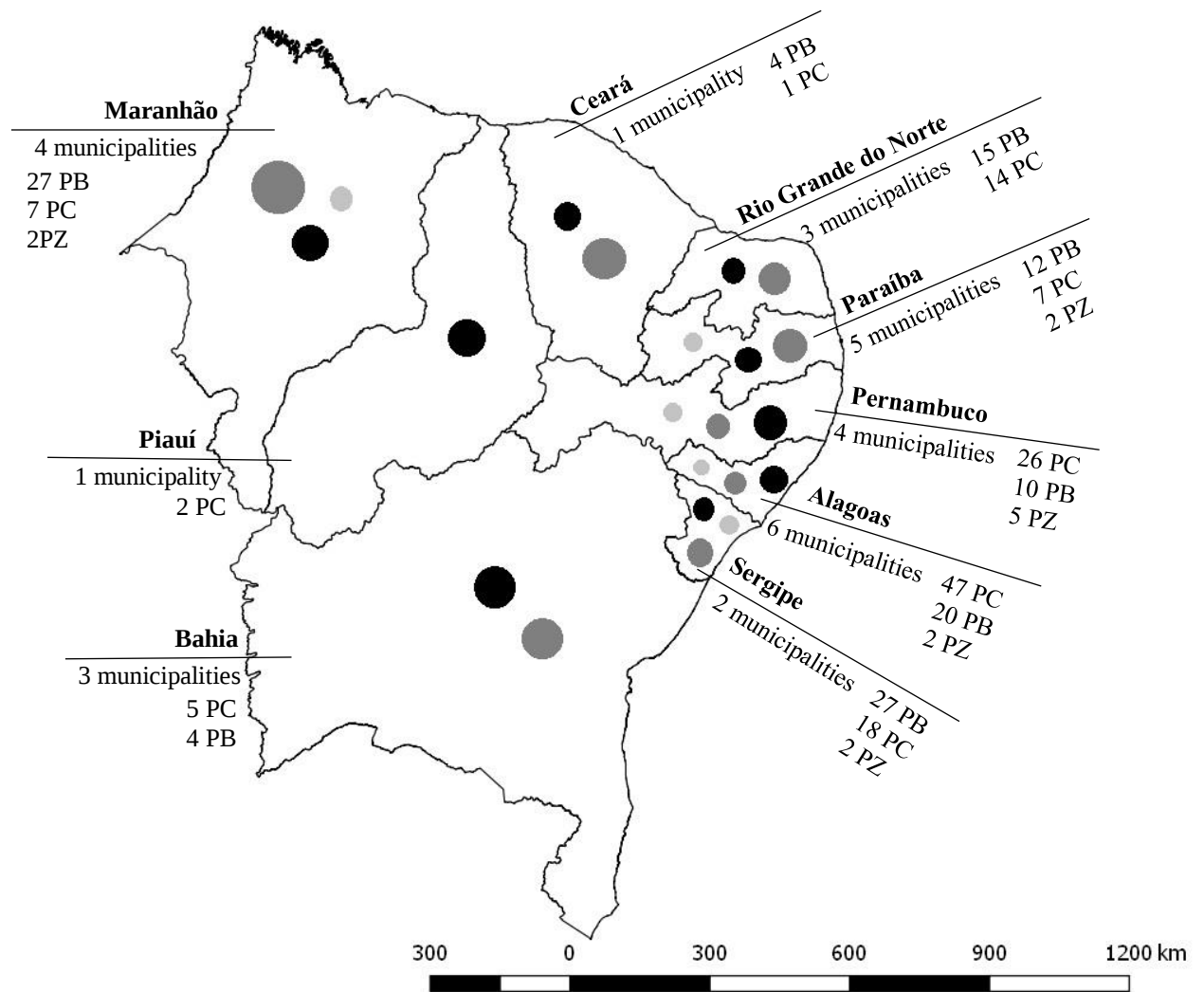


Fig. 2 Distribution of *Pratylenchus* species associated with yam in Northeast Brazil. The sizes of the circles are proportional to the amount of each species per state. The total number of isolates is 259. Cartographic basis: IBGE. PC = *Pratylenchus coffeae*; PB = *Pratylenchus brachyurus*; PZ = *Pratylenchus zeae*.

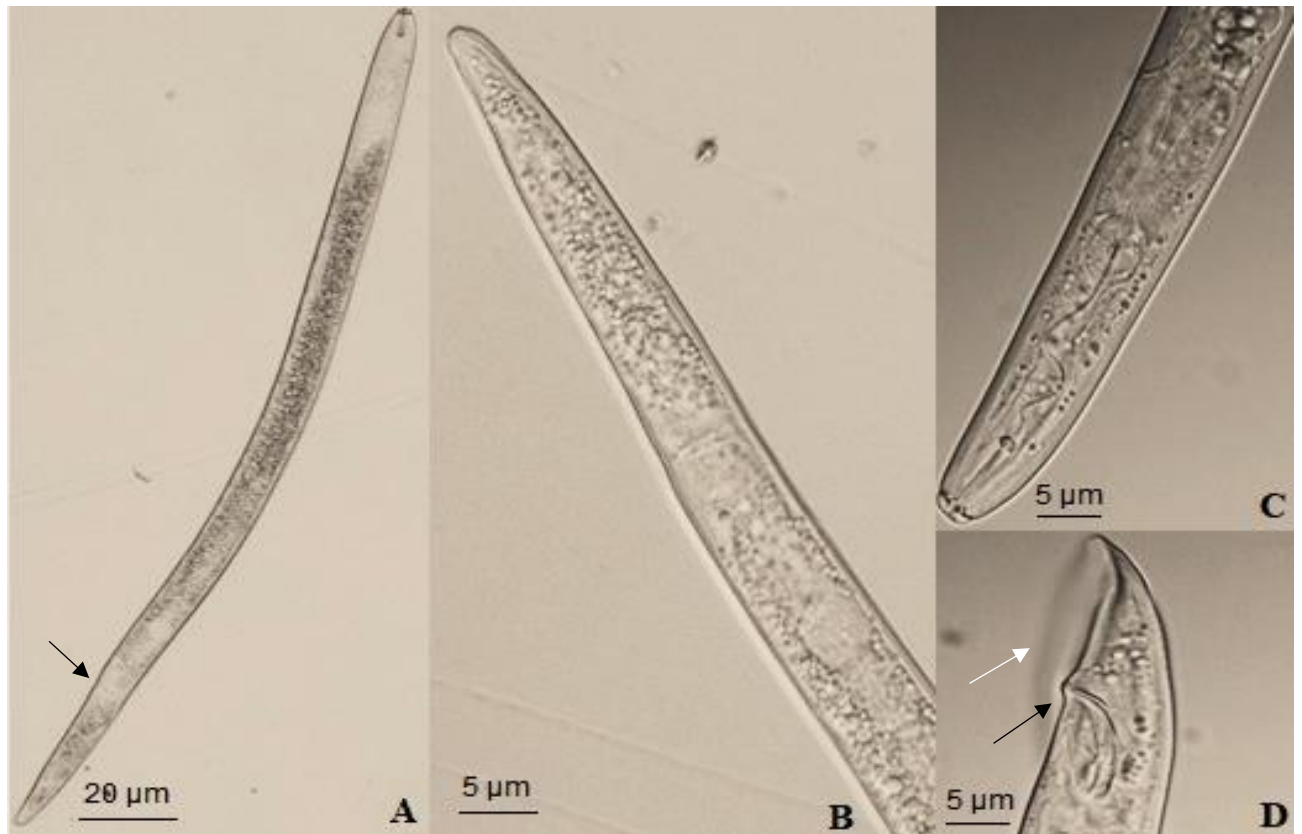


Fig. 3 Morphological characters of *Pratylenchus coffeae*. A: Entire body female, visualization of the ventral overlap of the esophageal glands over the intestine and the position of the vulva (arrow); B: Tail morphology; C: Anterior region; D: Tail region of males, visualization of the spicule (black arrow) and bursa (white arrow).

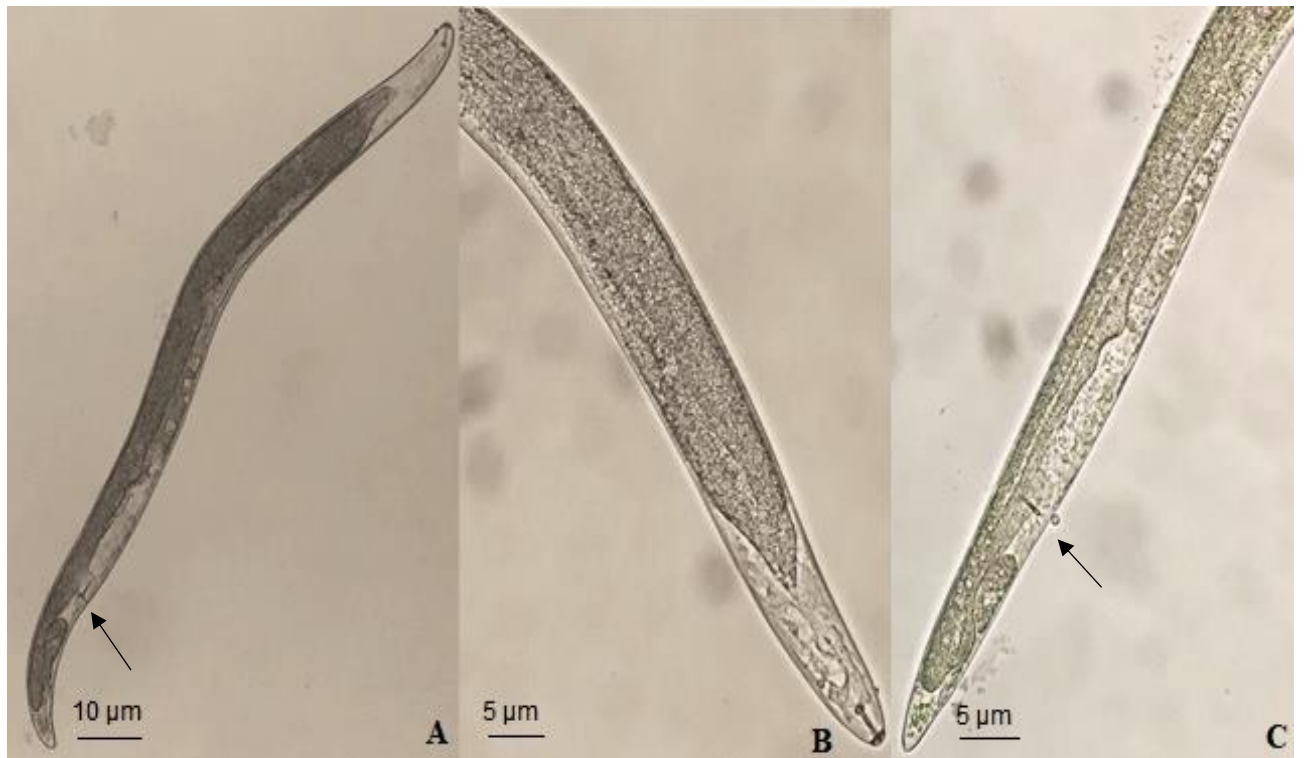


Fig. 4 *Pratylenchus brachyurus* female. A: Entire body female, visualization of the ventral overlap of the esophageal glands over the intestine and the position of the vulva (arrow); B: Anterior region; C: Tail morphology, with visualization of the vulva (arrow). Males are rare.



Fig. 5 Morphological characters of *Pratylenchus zeae*. A: Entire body female, visualization of the ventral overlap of the esophageal glands over the intestine and the position of the vulva (arrow); B: Tail morphology, with visualization of the vulva (arrow); C: Anterior region; D: Tail region of males, spicule visualization (arrow).

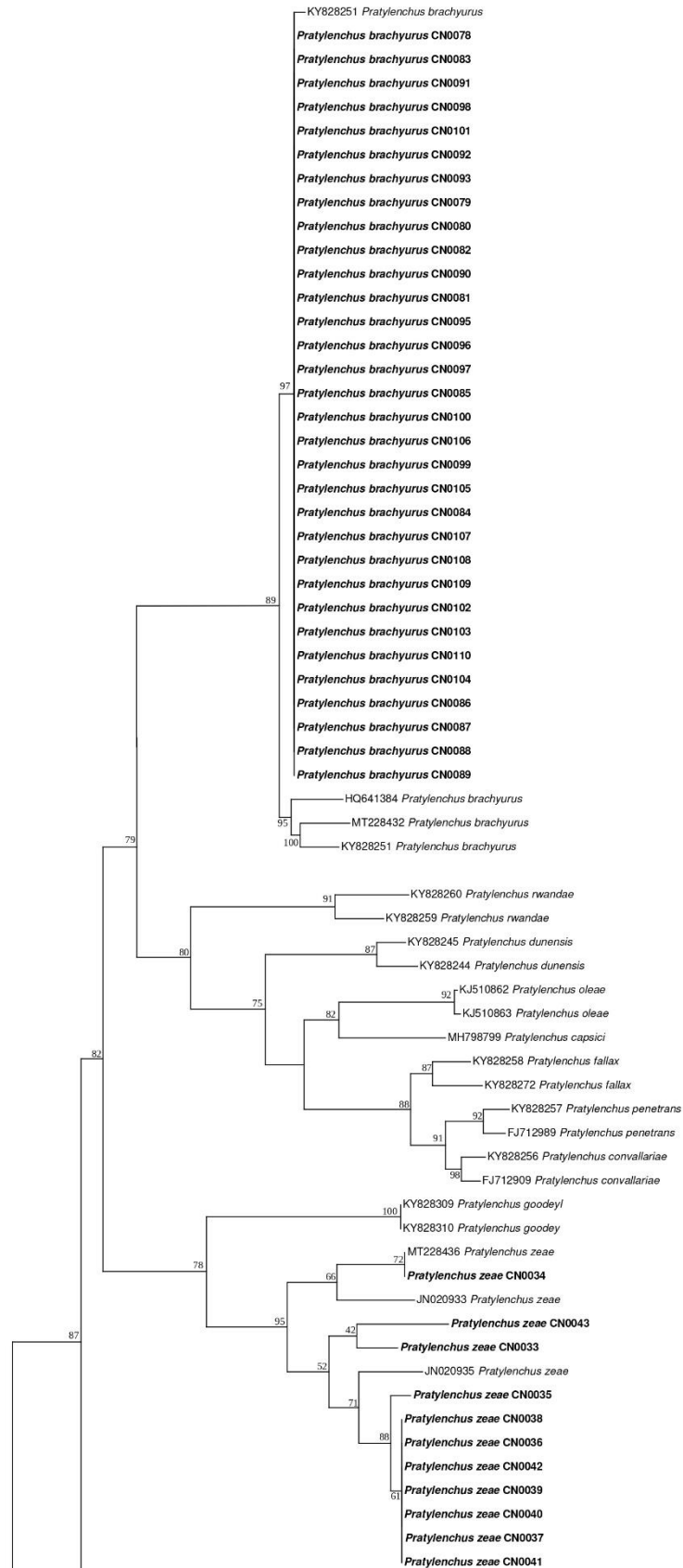
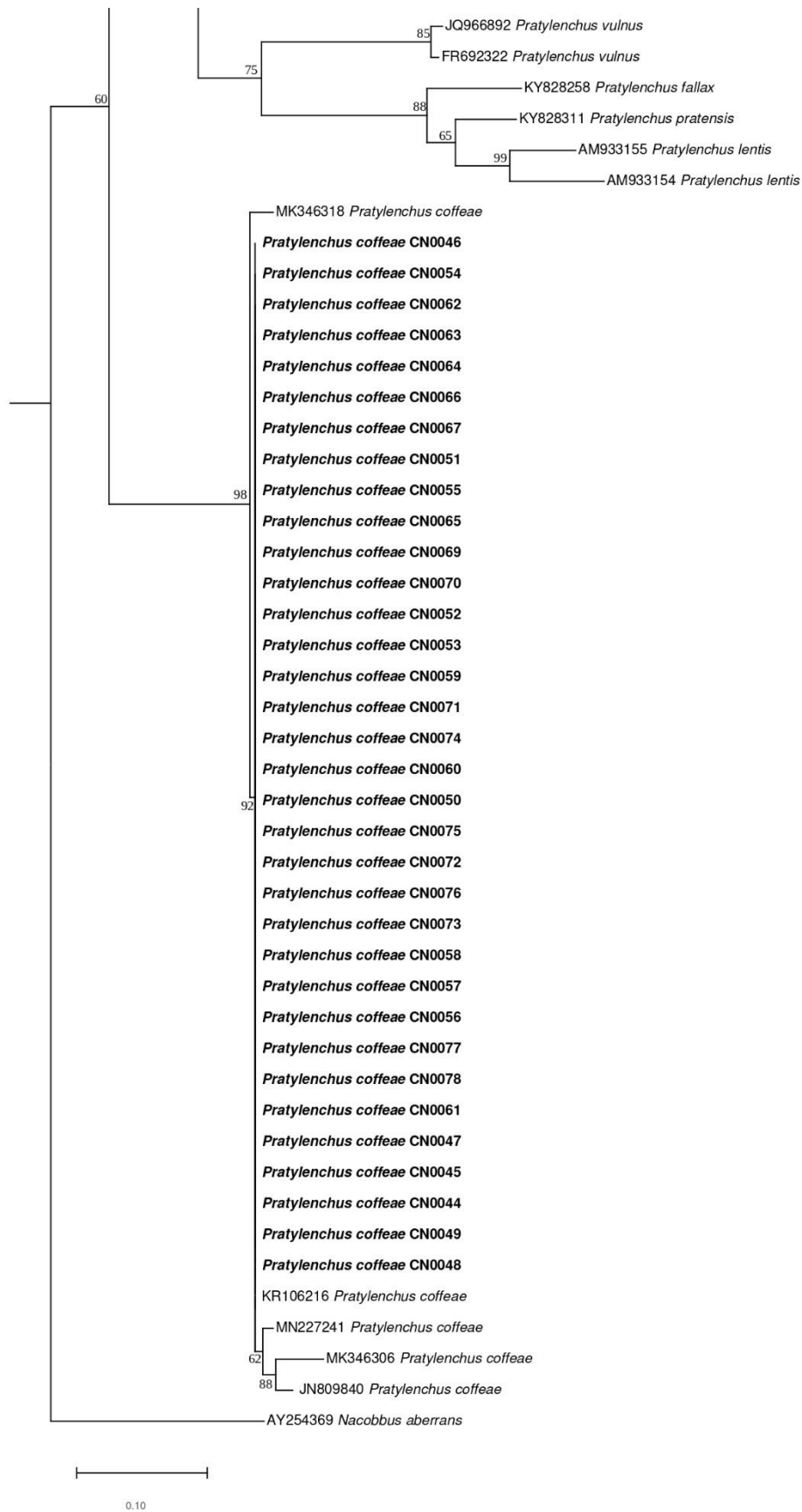


Fig. 6 Phylogenetic tree from the relationships of *Pratylenchus brachyurus*, *P. zeae*, and *P. coffeae* from Northeastern Brazil and other populations of *Pratylenchus* spp. by inference from the maximum likelihood analysis of ITS. *Nacobbus aberrans* was used as an outgroup.

Cont. Fig. 6



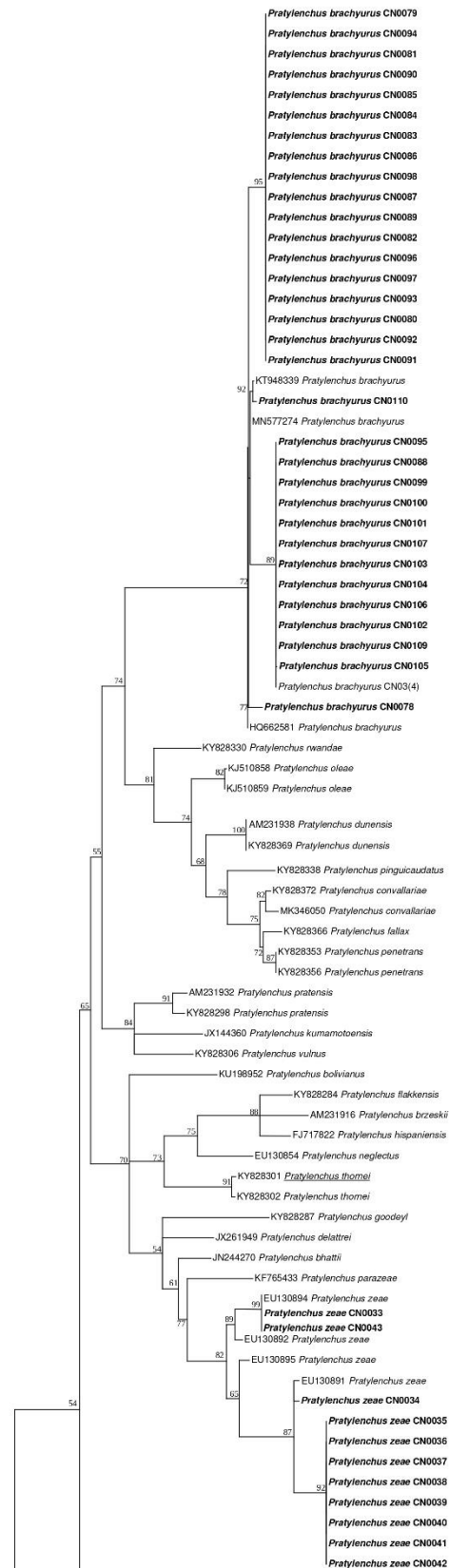
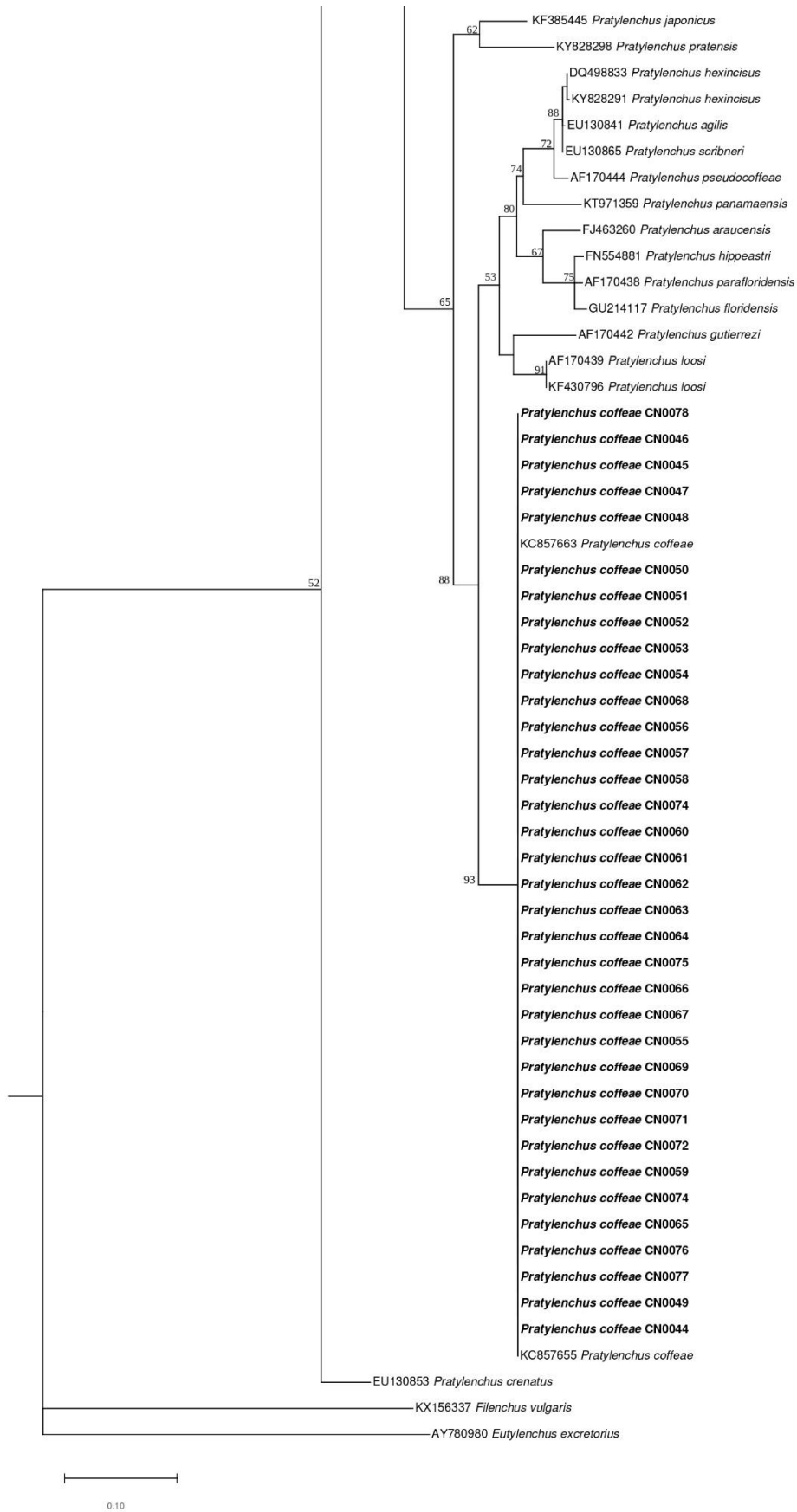


Fig. 7 Phylogenetic tree from the relationships of *Pratylenchus brachyurus*, *P. zaeae*, and *P. coffeae* from Northeastern Brazil and other populations of *Pratylenchus* spp. by inference from maximum likelihood analysis of 28S rDNA. *Filenchus vulgaris* and *Eutylenchus excretorius* were used as outgroups.

Cont. Fig. 7



CAPÍTULO III

First report of *Pratylenchus zae* on *Dioscorea cayenensis* and *D. alata* in Brazil

Artigo para submissão: **Australasian Plant Disease Notes**

Qualis CAPES: B2, Fator de Impacto: 0.831

First report of *Pratylenchus zae* in *Dioscorea cayenensis* and *D. alata* in Brazil

Mayara Castro Assunção¹; Francisco Jorge Carlos de Souza Junior¹; Jaime Corbiniano dos Santos Neto¹; Arielena Augusta Rodrigues Mello¹; Liany Regina Bezerra de Oliveira Silva¹; Rosana Blawid¹; Elvira Maria Regis Pedrosa²; Lilian Margarete Paes Guimarães¹

¹Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE

²Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE

*Author for correspondence: Mayara C Assunção

mayara_castroa@hotmail.com

Abstract

From September to December 2019, samples of tubers and soil of *Dioscorea cayenensis* and *D. alata* were collected in the states of Alagoas, Maranhão and Pernambuco, Brazil. Through morphometric characterization and molecular analysis of the ITS and 28S rDNA regions, the nematode *Pratylenchus zae* was identified. This is the first report of *P. zae* in yam in Brazil.

Keywords Root-lesion nematode, Identification, Molecular, Morphometric

The yam (*Dioscorea* spp.) is a monocotyledonous plant that belongs to the Dioscoreaceae family, cultivated in Africa, Asia, and South America, standing out as the fourth most important tuberose in the world (Ngo-Ngwe et al. 2014). In Brazil, production is 250 thousand tons, with 25 thousand hectares planted (FAO 2020), and the states of Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, and Maranhão are the main producers, concentrating on commercialization and consumption, planting the species *D. cayenensis* and *D. alata* (Brito et al. 2011). However, the yam is subject to the occurrence of diseases, among them, the dry rot, caused by nematodes *Scutellonema bradys* (Steiner e LeHew, 1933) Andrassy (1958) and *Pratylenchus* spp., considered one of the important problems for the crop, as it significantly reduces its productivity (Moura 2016).

The genus *Pratylenchus*, also known as root-lesion nematode, is the third plant-parasitic nematode of agricultural importance in the world, with wide geographic distribution and extensive host range (Jones et al. 2013; Gonzaga et al. 2016). This nematode is disseminated throughout all yam producing regions in Brazil, associating, until then, the species *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev and Schuurmans Stekhoven and *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev and Schuurmans Stekhoven to parasitism in culture. From September to December 2019, samples of tubers and soil of *Dioscorea cayennensis* and *D. alata* were collected in the states of Alagoas, Maranhão and Pernambuco, Brazil (Fig. 1). Tubers and soil were processed for nematode extraction by Coolen and D'Herde (1972) and Jenkins (1964), respectively, to obtain specimens.

Morphometric characterization was performed in individuals dead by heat fixed in modified FAA - 38% formaldehyde, glacial acetic acid, and distilled water - following the permanent mounting method of Jenkins and Taylor (1967). The morphometric characteristics and V%, a, b, b', c and c' were obtained from adult females (n = 20), compatible with *P. zae* (Gonzaga et al. 2016). The stylet measured 16.9 µm in length; the vulva position was 70.3% of body length; and tail measurements were c = 17.3 µm and c' = 2.1 µm. Total body length was 600.4 µm, with a = 22.2 µm, b = 6.2 µm and b' = 3.3 µm (Fig. 2). The permanent slides of *P. zae* were deposited in the Nematological Collection of UFRPE, Recife, Pernambuco, Brazil, with accession numbers CN0033 to CN0035.

Molecular identification of specimens of *Pratylenchus* populations was performed through amplification and sequencing of the ITS region using primers VRAIN2F (5'-CTTTGTACACACCGCCCGTCGCT-3') and VRAIN2R (5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGGGA ATC-3') (Vrain et al. 1992) and the segment D2-D3 of the 28S gene of the rDNA with the primers D2A (5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-

3') and D3B (5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3') (De Ley et al. 1999). Consensus sequences were formed from forward and reverse sequences using the Staden package (Staden et al. 2000). All consensus sequences obtained were used for comparison with the NCBI nucleotide database, based on research with the blastn algorithm. Multiple sequence alignments for each gene were generated with the online version of MAFFT version 7 (Katoh and Toh 2008; Katoh and Standley 2013).

Phylogenetic analysis used maximum likelihood (ML) methods for individual genes, performed via RAxML-HCP2 v.8.2.8 (Stamatakis 2014) implemented in the CIPRES Portal v.2.0 (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>) with 1,000 repetitions in the GTR-GAMMA model. The sequences of the regions studied were submitted to GenBank. Populations CN0033 to CN0035 used for molecular analysis showed a high degree of sequence identity (90%) with *P. zeae* from Brazil for the ITS region and 93% coverage with *P. zeae* sequences from Kenya and China for the D2- D3 28S (Fig. 3).

The *P. zeae* populations obtained from yam production areas were inoculated, with eggs and juveniles, in *D. cayenensis* and *D. alata* plants kept in 8 L pots containing sterilized soil, under greenhouse conditions at medium temperature of $25.5 \pm 1^\circ\text{C}$. Inoculation was carried out with the inoculum suspension in holes approximately 4 cm deep in the rhizosphere of each plant. The inoculated plants showed symptoms of necrosis and increased population density of *P. zeae* associated with the rhizosphere, while plants without inoculation did not show this reaction.

This is the first report of *P. zeae* associated with *D. cayenensis* and *D. alata* in Brazil. However, this species has already been described for cultivation in the main yam production areas of Costa Rica (Humphreys-Pereira et al., 2017) and parasitizing tubers of *Dioscorea* spp. in West Africa (Kolombia et al., 2020). The present research presents a new panorama on the etiology of the dry rot of the yam in Brazil, through accurate identification methods, which is essential for the implementation of effective management programs.

Acknowledgment

To National Council for Research (CNPq), for providing scholarship for the first author.

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Research involving human participants and/or animal The authors declare that no human participants and animals were involved in this study.

References

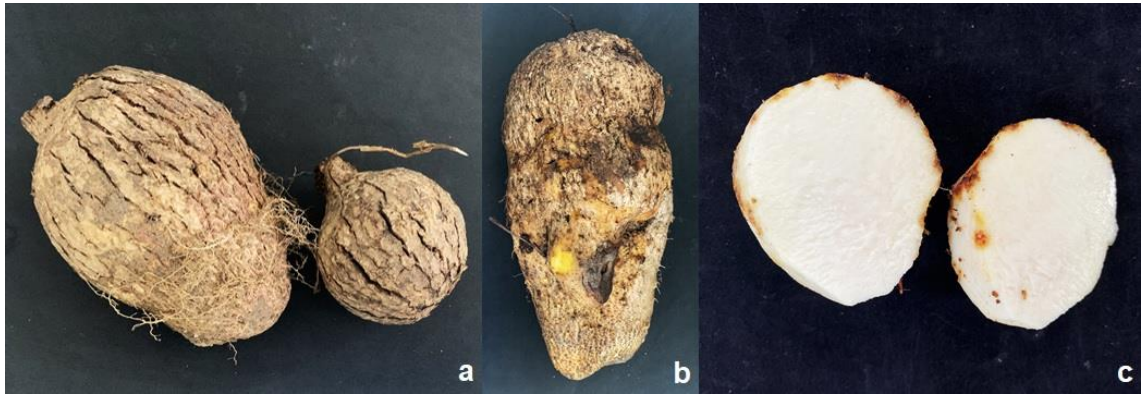
- Brito TT, Soares LS, Furtado MC, Castro AA, Carnelossi MAG (2011) Composição centesimal de inhame (*Dioscorea* sp.) in natura e minimamente processado. *Scientia Plena* 7:1-7
- Coolen WA, D'Herde CJ (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Agricultural Research Center, Ghent
- De Ley P, Felix MA, Frisse LM, Nadler SA, Sternberg PW, Thomas WK (1999) Molecular and morphological characterization of two reproductively isolated species with mirror-image anatomy (Nematoda: *Cephalobidae*). *Nematology* 1:591–612
- FAO (2020) Food Agriculture Organization. Statistical Databases. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acessado em 03 janeiro de 2022
- Gonzaga V, Santos JM, Mendonça RS, Santos MA (2016) Gênero *Pratylenchus*. In: Oliveira CMG, Santos MA, Castro LHS (eds) *Diagnose de Fitonematoides*. 1ª ed. Millenium Editora, Campinas, pp 71-98
- Humphreys-Pereira DA, Flores-Chaves L, Salazar L, Gómez-Alpízar L (2017) Plant-parasitic nematodes associated with yams (*Dioscorea* spp.) and identification of *Meloidogyne* and *Pratylenchus* species in three yam-growing regions of Costa Rica. *Nematropica* 47:120-134
- Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis Reporter* 48:692
- Jenkins WR, Taylor DP (1967) *Plant Nematology*. Reinhold Publishing Corporation, Londres
- Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ, Gaur HS, Helder J, Jones MGK, Kikuchi T, Manzanilla-López R, Palomares-Rius JE, Wesemael WML, Perry, RN (2013) Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 14:946-961. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
- Katoh K, Toh H (2008) Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Brief Bioinform* 9:286–98. <https://doi.org/10.1093/bib/bbn013>
- Katoh S, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 30:772–80. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

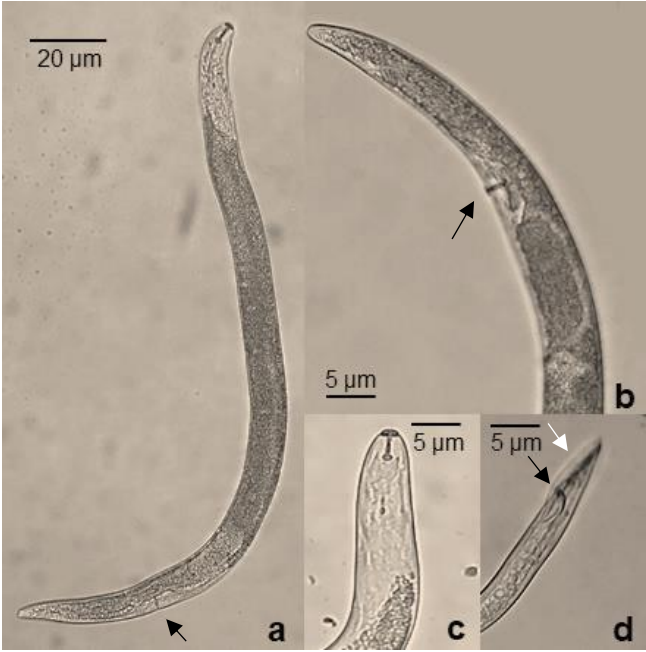
- Kolombia YA, Ogundero O, Olajide E, Viaene N, Kumar PL, Coyne DL, Bert W (2020) Morphological and molecular characterization of *Pratylenchus* species from Yam (*Dioscorea* spp.) in West Africa. *J Nematol* 52:e2020-126. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-126>
- Moura RM (2016) Doenças do inhame—da—costa. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (eds) Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 5ª ed. Agronômica Ceres, Ouro Fino, pp 477-483
- Ngo-Ngwe MFS, Joly S, Bourge M, Brown S, Omokolo DN (2014) Nuclear DNA content analysis of four cultivated species of yams (*Dioscorea* spp.) from Cameroon. *J Plant Breed Genet* 2:87-95
- Staden R, Beal KF, Bonfield JK (2000) The Staden package. *Methods Mol Biol* 132:115-30. <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:115>
- Stamatakis A (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Vrain TC, Wakarchuk DA, Levesque AC, Hamilton RI (1992) Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundam Appl Nematol* 15:563-573

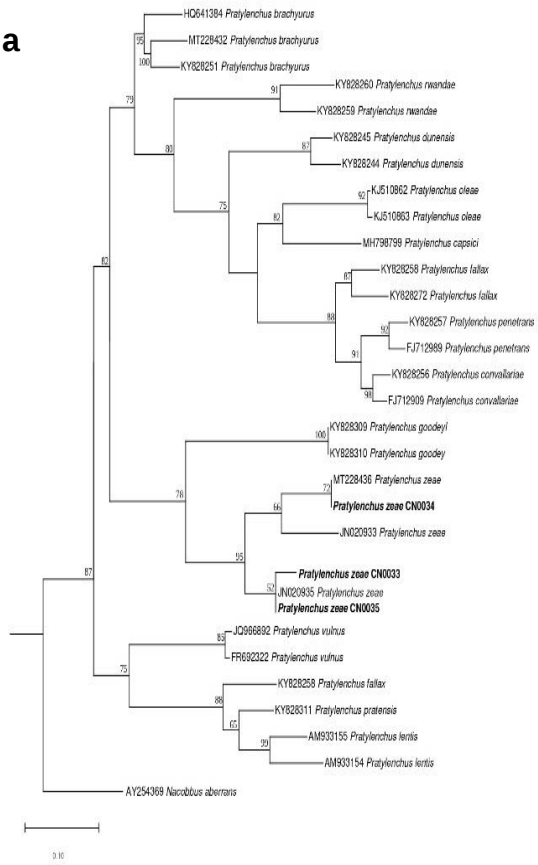
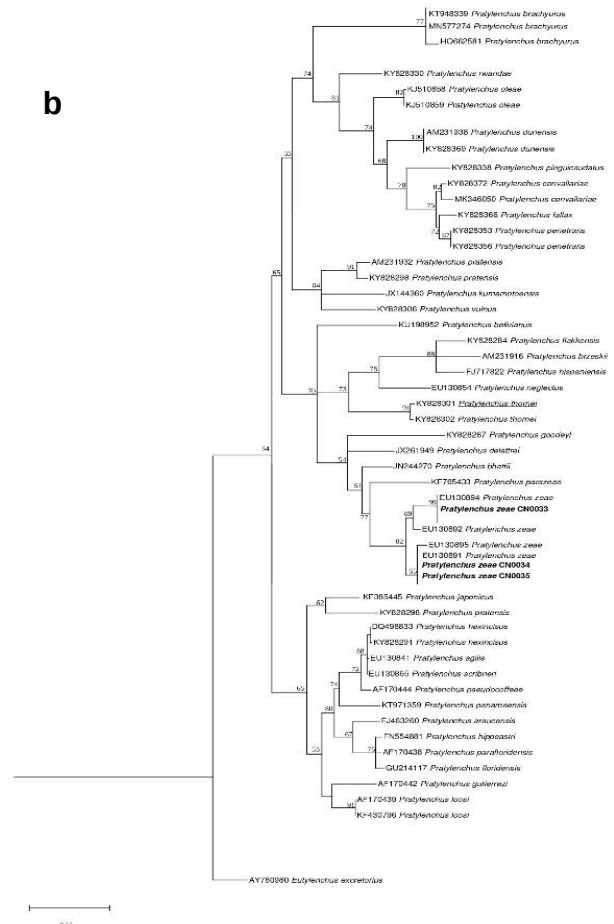
Fig. 1 Yam tubers with dry rot disease. (a) *Dioscorea cayenensis* tubers, (b) *D. alata* tubers, (c) Internal symptoms of dry rot

Fig. 2 *Pratylenchus zae* female. (a) Entire body female, visualization of the ventral overlap of the esophageal glands over the intestine and the position of the vulva (arrow), (b) Tail morphology of *Pratylenchus zae* visualization of the vulva (arrow), (c) Anterior region of *Pratylenchus zae*, (d) Tail region of males, visualization of the spicule (black arrow) and bursa (white arrow).

Fig. 3 Tree of the phylogenetic relationships of *Pratylenchus zae* from Northeastern Brazil and populations with other *Pratylenchus* spp. as inferred from the maximum likelihood analysis of (a) ITS and (b) 28S rDNA. *Nacobbus aberrans* was used as outgroups for ITS. *Eutylenchus excretorius* were used as outgroups for 28S rDNA





a**b**

CAPÍTULO IV

Influence of forage sorghum ‘BRS Ponta Negra’ and plant extracts on *Pratylenchus coffeae*, the causal agent of yam dry rot disease

Artigo para submissão: **Pesquisa Agropecuária Tropical**
Qualis CAPES: B1, Fator de Impacto: 0.992

Influence of forage sorghum ‘BRS Ponta Negra’ and plant extracts on *Pratylenchus coffeae*, the causal agent of yam dry rot disease¹

Mayara Castro Assunção², William Acioly de Gouveia³, Alverlan da Silva Araújo⁴, Aldenir Feitosa dos Santos⁵, Tassiano Maxwell Marinho Câmara⁶, Marissônia de Araujo Noronha⁶,
Maria de Fátima Silva Muniz³, Lilian Margarete Paes Guimarães²

¹Received: ---. --, 2022. Accepted: ---. --, ----. Published: ---. --, ----. DOI:

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, PE, Brasil. *E-mail/ORCID*: mayara_castroa@hotmail.com/0000-0002-3127-7817; lilian.guimaraes@ufrpe.br/0000-0003-1740-6077.

³Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, AL, Brasil. *E-mail/ORCID*: william.gouveia@ceca.ufal/0000-0001-8956-0255; f.muniz@ceca.ufal.br/0000-0003-1748-4569.

⁴Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Maceió, AL, Brasil. *E-mail/ORCID*: alverlanaraujo134@gmail.com/0000-0001-7784-3266.

⁵Universidade Estadual de Alagoas, Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais pelo Centro Universitário Cesmac, Maceió, AL, Brasil. *E-mail/ORCID*: aldenirfeitosa@gmail.com/0000-0001-6049-9446.

⁶ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Tabuleiros Costeiros), Rio Largo, AL, Brasil. *E-mail/ORCID*: tassiano.camara@embrapa.br/0000-0002-2253-4527; marissonia.noronha@embrapa.br/0000-0002-5074-3019.

ABSTRACT

Pratylenchus coffeae occurs in yam (*Dioscorea* spp.) production areas, reducing tuber yield and quality. The objectives of this work were to evaluate the host suitability of the forage sorghum ‘BRS Ponta Negra’ to *P. coffeae* and the nematicidal activity of aqueous extracts from *Croton* sp., *Maytenus rigida*, *Ziziphus cotinifolia*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Byrsonima gardneriana*, *Myracrodruon urundeuva* and *Tocoyena formosa* against the nematode. In two greenhouse experiments, 37 days old sorghum plants were inoculated with the nematode at population densities of 250; 500; 750; and 1,000 specimens. Yam plants were used as susceptible control. Eighty days after inoculation the number of nematodes in the roots and soil from each plant, and the reproduction factor (FR), were evaluated. In a second experiment,

aqueous concentrations from plant extracts (0% - control; 0.5%; 1.0%; 1.5% and 2.0%) were tested, adding 200 μ L of each extract concentration and 25 nematodes per cavity in Kline plates. After 24 h the immobile specimens were counted and transferred to distilled water for 24 h to determine nematode mortality. The forage sorghum 'BRS Ponta Negra' was rated as a poor host for *P. coffeae*, with a RF value of 0.0025. All plant extracts caused immobility and mortality to *P. coffeae*, with the most effective extract being obtained from leaves of *S. obtusifolium*, with mortality rate of over 90%, at all concentrations tested. The results observed in this study represent important information for the management of yam dry rot nematodes.

KEYWORDS: *Dioscorea* spp., root-lesion nematode, cultural control, alternative control

RESUMO

Influência do sorgo forrageiro 'BRS Ponta Negra' e extratos vegetais sobre *Pratylenchus coffeae*, agente causal da casca-preta-do-inhame

Pratylenchus coffeae ocorre em áreas de produção de inhame (*Dioscorea* spp.), reduzindo o rendimento e a qualidade dos rizóforos. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a hospedabilidade do sorgo forrageiro 'BRS Ponta Negra' a *P. coffeae* e a atividade nematicida de extratos aquosos de *Croton* sp., *Maytenus rigida*, *Ziziphus cotinifolia*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Byrsonima gardneriana*, *Myracrodruon urundeuva* e *Tocoyena formosa* sobre o nematoide. Em dois experimentos conduzidos em casa de vegetação, plantas de sorgo com 37 dias de cultivo foram inoculadas com as densidades populacionais de 250, 500, 750 e 1.000 espécimes do nematoide. O inhame foi utilizado como padrão de suscetibilidade. Oitenta dias após a inoculação, foram avaliados o número de nematoides no sistema radicular e solo de cada planta e o fator de reprodução (FR). Em outro experimento foram testadas concentrações aquosas dos extratos vegetais (0% - testemunha; 0,5%; 1,0%; 1, 5% e 2,0%). Em cavidades de placas de Kline, foram colocados 200 μ L de extrato e 25 nematoides e, após 24 horas de incubação, foi quantificada a imobilidade dos espécimes. Aqueles imóveis foram transferidos para água destilada por mais 24 horas para avaliação da mortalidade. A cultivar BRS Ponta Negra reagiu como má hospedeira a *P. coffeae*, com FR = 0,0025. Todos os extratos causaram imobilidade e mortalidade de *P. coffeae*, tendo o extrato proveniente de folhas de *S. obtusifolium* sido o mais efetivo, com mortalidade acima de 90%, em todas as concentrações

testadas. Os resultados observados neste trabalho representam importante informação para o manejo da casca-preta-do-inhame.

PALAVRAS-CHAVE: *Dioscorea* spp., nematoide-das-lesões-radiculares, controle cultural, controle alternativo

INTRODUCTION

In Brazil, yams (*Dioscorea* spp.), represent an important food crop as a valuable source of carbohydrates. Yams also have a prominent sociocultural role by generating employment and incomes with their production concentrated mostly in the Northeastern region. In 2020, an estimated 250.268 tons of tubers were produced on 25.428 hectares (FAO 2022).

One of the major constraints to yams production are plant-parasitic nematodes, among them, the migratory endoparasites *Scutellonema bradys* (Steiner & LeHew) Andrassy, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Schuurmans Stekhoven and *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, known to cause the tuber dry rot disease which results in serious damage to the crop, mainly by reducing tuber yield and quality (Moura, 2016). Of these species, *P. coffeae* is widely distributed in yam fields in the Northeast Brazil (Moura et al. 2005, Muniz et al. 2012, Lira et al. 2014). *Pratylenchus* spp. can survive under adverse conditions as eggs, or through anhydrobiosis (Jones et al. 2013).

Among the nematode management methods, crop rotation and crop sequences with non-host plants or plants showing low values of reproduction factor should be recommended. Plants such as sunn hemp (*Crotalaria* spp.) and lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) reduced populations of *P. coffeae* in yam fields (Silva et al. 2014).

A promising alternative approach for the management of dry rot disease of yam is the use of plant extracts (Coimbra et al. 2006, Farias et al. 2020, Magalhães et al. 2020). This method displays low toxicity, does not enhance the occurrence of resistance to pathogens, and can be used combined with other management options (Ferraz et al. 2010). Many plant species can be used to obtain extracts against plant-parasitic nematodes, due to the presence of compounds showing nematicidal activity in their composition (Singh & Prasad 2014), such as native plants from the Caatinga biome, in the Brazilian Northeast. Nevertheless, there are few studies on their biological activities against yam dry rot nematodes, for instance, the research performed by Lima et al. (2019) with *Croton heliotropiifolius* Kunth.

Considering losses caused by the dry rot disease are significant, the objectives of this work were to evaluate the host suitability of the forage sorghum cultivar 'BRS Ponta Negra' to

P. coffeae and the nematicidal activity of aqueous extracts of seven plant species from Caatinga on *P. coffeae*.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were performed at the Nematology Laboratory and greenhouse, at the Center for Agrarian Sciences (CECA) from the Federal University of Alagoas (UFAL), Rio Largo, AL, Brazil. Average temperature during the *in vivo* tests was of 28.1 ± 3.8 °C, and relative air humidity of $79.6 \pm 11.3\%$.

Pratylenchus coffeae populations were obtained from infected yam tubers, collected in the state of Alagoas, and nematodes were extracted according Coolen & D'Herde (1972). Nematode identification was based on its morphological characteristics (Gonzaga et al. 2016).

Forage sorghum seeds, *Sorghum bicolor* L. Moench 'BRS Ponta Negra' were sown in plant substrate and 30 days later the plants were transplanted into 3.8-liter pots containing sterilized soil, and seven days after these plants were inoculated with different *P. coffeae* population densities: 250, 500, 750 and 1,000 specimens, added to the soil, close to the plants. Sprouting yam seed tubers (*D. cayenensis* cv. Da Costa) were included as susceptible control and were planted four months before sorghum due to the growth cycle. The inoculation was made 30 days after planting with 1,000 specimens of the nematode. The experiments were carried out twice, simultaneously, and arranged in a completely randomized design, with four *P. coffeae* population densities and eight replications.

Eighty days after inoculation, sorghum roots were collected and nematodes were extracted according Coolen and D'Herde (1972), while 100 cm³ of soil were processed using the technique described by Jenkins (1964). The evaluation of the susceptible control was performed seven months after inoculation, following these procedures.

After extraction, the number of nematodes was counted using Peters slides under a light microscope. The total number of nematodes counted per each replication from roots or tubers and soil was used to calculate the reproduction factor ($RF = \text{final population}/\text{initial population}$), classifying plants as good host ($RF > 1$), non-host ($RF = 0$) or poor host ($RF < 1$) (Seinhorst 1965).

For the *in vitro* experiment, stock solutions were obtained from seven plant extracts at the Chemistry Laboratory from the Centro Universitário CESMAC, Maceio, AL. These materials consisted of *Croton* sp. (alecrim-de-vaqueiro), *Maytenus rigida* Mart. (bonome), *Ziziphus cotinifolia* Reissek (juazeiro) and *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult) T.D. Penn)

(quixabeira) leaves; *Byrsonima gardneriana* A. Juss (murici) bark; *Myracrodruon urundeuva* Allem (aroeira) leaves and bark; and leaves and fruits from *Tocoyena formosa* (Cham & Schltdl) K. Schum) (jenipapo).

The extracts were diluted in distilled water at different concentrations, as follows: 0% - control, 0.5%, 1.0%, 1.5% and 2.0%. In Kline plates, 200 μ L of each extract concentration were added and 25 nematodes (juveniles and adults) were individually transferred from the nematode suspension to each cavity. Afterwards, the plates were placed in plastic boxes containing filter paper soaked in distilled water in order to retain humidity and incubated at 24 ± 1 °C in a growth chamber. Twenty-four hours later the immobile specimens were counted under an inverted light microscope (Labomed TCM 400) at 100X magnification, and transferred to distilled water. Specimens which did not recover motility after 24 hours in water were considered dead.

The bioassay was performed in a completely randomized design in a 9x5 factorial scheme, nine extracts x five concentrations for each extract, plus the control and five replications. The control was represented by the treatment with only water. Data were submitted to the analysis of variance and means were compared by the Scott-Knott test at 5% probability, and linear regressions were used to evaluate the effect of different concentrations of the extracts on nematode immobility and mortality. The analysis was performed using the statistical software Sisvar version 5.8 (Ferreira 2019).

RESULTS AND DISCUSSION

Populations of *P. coffeae* in roots of sorghum ‘BRS Ponta Negra’ and in the soil were low, with values near zero for all inoculum densities tested (Table 1). Based on the RF value this cultivar was considered as poor host ($0 < RF < 1$), compared to the susceptible host, which showed $RF = 2.517$ (based on population density in tuber peel+root+soil).

Table 1. Host suitability of sorghum cultivar ‘BRS Ponta Negra’ 80 days after inoculation (DAI), with different *Pratylenchus coffeae* densities, in two experiments under greenhouse conditions.

Treatment (nematodes/plant)	Experiment I			Experiment II		
	Nematodes/g root	Nematodes in soil (100 cm ³)	Rf (Pf/Pi)	Nematodes/g root	Nematodes in soil (100 cm ³)	Rf (Pf/Pi)
250	0 ¹	0.125	0.004	0	0	0
500	0	0	0	0.005	0	0.002

750	0.088	0	0.005	0.025	0	0.002
1,000	0.011	0	0.002	0.033	0.375	0.005

¹Mean of eight replications.

These findings demonstrate that *P. coffeae* was not able to multiply in sorghum ‘BRS Ponta Negra’. Therefore, this cultivar shows potential for crop rotation in yam production areas with prevalence of this nematode species as the causal agent of dry rot disease. Other studies accomplished under greenhouse conditions have demonstrated its resistance to *P. brachyurus* (Particular communication of not-published document), a nematode species also infecting yam.

Under greenhouse conditions, while evaluating grass genotypes to be used in crop rotation on *P. coffeae* populations in yam fields, Lira & Moura (2017) demonstrated that graniferous and forage sorghum were classified as non-host and poor host, respectively, however the cultivars were not mentioned, difficulting comparison.

Beside its potential for the management of *P. coffeae* in yam cropping areas, the cultivar BRS Ponta Negra also constitutes important forage source, adapted to the Brazilian Northeast, showing good agronomic characteristics. In addition, this cultivar is considered resistant to anthracnose [*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils], rust (*Puccinia purpurea* Cooke) and cercosporiosis (*Cercospora fusimaculans* G.F. Atk.), and also moderately resistant to Helminthosporium leaf disease [*Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard & Suggs] (Santos et al. 2007).

According to the analysis of variance there was significant interaction ($P \leq 0.05$) for plant extracts and concentrations for both, immobility and mortality of *P. coffeae*. This result indicates the efficacy of these products varies with their concentration, being important to evaluate the response of each extract according each concentration.

The extracts caused nematode immobility from 24 to 99.2%, and mortality from 20 to 99.2%, being the extract from leaves of *S. obtusifolium* the most effective treatment at all concentrations tested, with a nematode immobility and mortality of over 90%, followed by the extract from *T. formosa* fruits which showed 92.8 and 92.0% immobility and mortality, respectively, but at higher concentrations (Table 2).

Table 2. Immobility and mortality of *Pratylenchus coffeae* specimens after 24 hours of exposure in aqueous extracts from seven plant species, followed of incubation in water.

Plant species/Plant part	Immobility (%)			
	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
<i>Croton</i> sp. (leaf)	29.6 c ¹	76.8 c	76.0 d	80.8 c

<i>Myracrodruon urundeuva</i> (bark)	55.2 b	67.2 d	72.8 d	70.4 d
<i>M. urundeuva</i> (leaf)	28.0 d	32.0 f	32.0 f	30.4 e
<i>Maytenus rigida</i> (leaf)	53.6 b	65.6 d	49.6 e	73.6 d
<i>Tocoyena formosa</i> (leaf)	32.8 c	88.0 b	87.2 c	88.0 b
<i>T. formosa</i> (fruit)	32.0 c	88.0 b	92.8 b	92.0 b
<i>Ziziphus cotinifolia</i> (leaf)	50.4 b	54.4 e	53.6 e	69.6 d
<i>Byrsonima gardneriana</i> (bark)	24.0 d	61.6 d	56.0 e	74.4 d
<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (leaf)	92.8 a	96.8 a	98.4 a	99.2 a
CV (%) = 8.28				
Plant species/Plant part	Mortality (%)			
	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
<i>Croton</i> sp. (leaf)	21.6 d	76.0 c	72.5 c	76.0 d
<i>Myracrodruon urundeuva</i> (bark)	48.0 b	57.6 d	62.4 d	64.8 e
<i>M. urundeuva</i> (leaf)	20.0 d	28.0 f	28.8 g	29.6 f
<i>Maytenus rigida</i> (leaf)	48.0 b	62.4 d	41.6 f	69.6 e
<i>Tocoyena formosa</i> (leaf)	30.4 c	79.2 c	77.6 c	84.0 c
<i>T. formosa</i> (fruit)	28.0 c	87.2 b	92.0 b	92.0 b
<i>Ziziphus cotinifolia</i> (leaf)	43.2 b	51.2 e	53.6 e	66.4 e
<i>Byrsonima gardneriana</i> (bark)	20.0 d	60.8 d	55.2 e	65.6 e
<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (leaf)	92.8 a	96.8 a	98.4 a	99.2 a
CV (%) = 10.23				

¹Means followed by the same letters within the column do not differ significantly by the Scott-Knott test at 5% probability. CV= coefficient of variation.

Sideroxylon obtusifolium is widely distributed in Northeast Brazil, commonly found in the Caatinga biome, being the only plant species of the genus in this country (Alves-Araújo 2020) and showing pharmacological properties widely known and recommended against several microorganisms (Alves et al. 2000, Aquino et al. 2017). Their aqueous leaf extracts show a phytochemical profile constituted by triterpens, flavonoids, flavones, flavononoids, and xanthenes in moderate quantity; tannins and saponins in high levels; and also glucosides and flavonoids (Araujo-Neto et al. 2010, Oliveira et al. 2012, Carnevale Neto 2017).

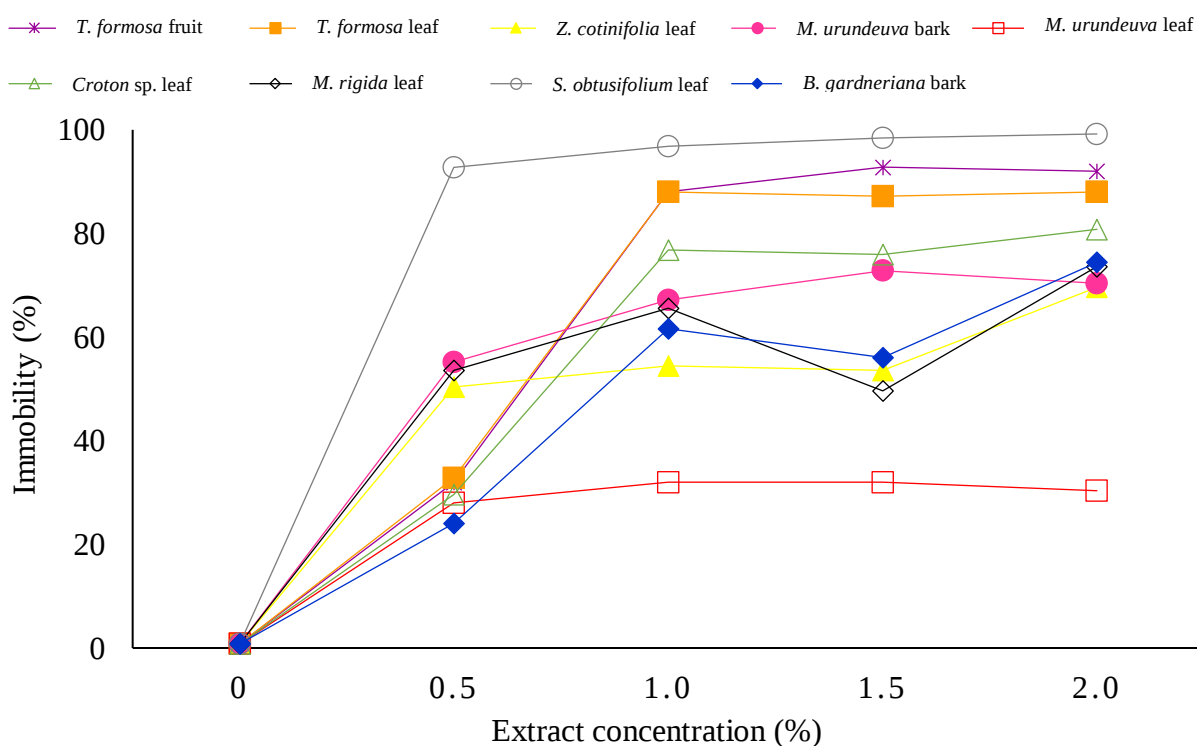
The aqueous leaf extract from *T. formosa* and *Croton* sp. possess tannins and saponins similar to *S. obtusifolium*, and in addition, flavonoids and phenolic acids in *T. formosa* and triterpenoids in *Croton* sp. (Mesquita Neto et al. 2010, Cesário et al. 2018, 2019).

Terpenes as triterpenes represent the largest and more complex class of natural products and are the most relevant bioactive compounds (Aharoni et al. 2005; Brock & Dickschat 2013), with effects on tyramine receptor, causing immobility and interference in the pharyngeal pumping rate, affecting the feeding process (Lei et al. 2010, Pinto et al. 2018).

Plant phenols form a chemically heterogeneous group and include tannins, flavonoids and others which act against pathogens, once these compounds reduce the microbial activity and juveniles' hatching (Özeker 1999, Pereira et al. 2015, Borges et al. 2017), together with saponins, which besides these effects also cause nematode mortality once it may disturb the membrane and its function, leading to membrane perforation or lysis (Adegbite & Adesiyun 2005, Böttger et al. 2012).

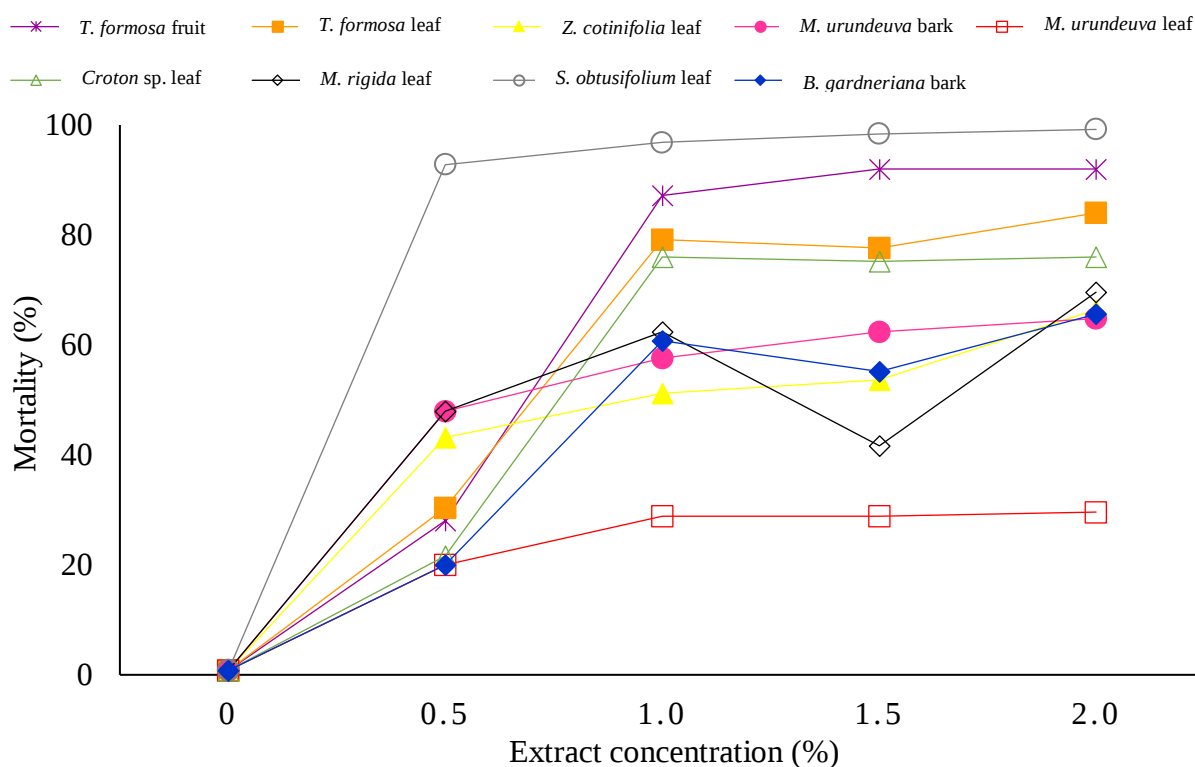
The management of plant-parasitic nematodes by the use of plant extracts have been evaluated, with positive findings involving the root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. (Adegbite & Adesiyun 2005, Nimbalkar & Rajurkar, 2009, Kuhn et al. 2015); the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne (Jesus et al. 2014); *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (Gardiano et al. 2011); and on a mixed nematode population with predominance of *Pratylenchus* sp. (Paz Filho et al. 2021), on major crops.

According to the analyses of linear and polynomial regressions, in general, the higher rate of immobility and mortality of *P. coffeae* were influenced by the increase in the extract concentration from 0.5% to 1.0% (Figures 1 and 2).



T. formosa fruit: $y = 48.64x + 12.48$, $R^2 = 82.53\%$; *M. urundeuva* bark: $y = -34.286x^2 + 99.931x + 4.7771$, $R^2 = 96.18\%$; *M. rigida* leaf: $y = -24.457x^2 + 77.234x + 8.0914$, $R^2 = 78.41\%$; *T. formosa* leaf: $y = 45.76x + 13.6$, $R^2 = 79.92\%$; *M. urundeuva* leaf: $y = -17.6x^2 + 47.84x + 3.2$, $R^2 = 91.58\%$; *S. obtusifolium* leaf: $y = -52.8x^2 + 146.08x + 10.72$, $R^2 = 88.36\%$; *Z. cotinifolia* leaf: $y = 28.16x + 17.6$, $R^2 = 72.16\%$; *Croton* sp. leaf: $y = 41.28x + 11.52$, $R^2 = 82.87\%$; *B. gardneriana* bark: $y = 35.84x + 7.52$, $R^2 = 88.17\%$.

Figure 1. Effect of concentration of aqueous extracts obtained from seven plant species on the immobility of *Pratylenchus coffeae*.



T. formosa fruit: $y = 49.28x + 10.72$, $R^2 = 82.98\%$; *M. urundeuva* bark: $y = -26.971x^2 + 82.423x + 4.7543$, $R^2 = 95.11\%$; *M. rigida* leaf: $y = 54.4x^3 - 184.23x^2 + 185.26x - 0.4343$, $R^2 = 96.30\%$; *T. formosa* leaf: $y = 42.72x + 11.68$, $R^2 = 83.28\%$; *M. urundeuva* leaf: $y = -13.029x^2 + 39.337x + 1.8057$, $R^2 = 97.77\%$; *S. obtusifolium* leaf: $y = -13.2x^2 + 99.44x - 75.52$, $R^2 = 88.36\%$; *Z. cotinifolia* leaf: $y = 28.32x + 14.72$, $R^2 = 79.95\%$; *Croton* sp. leaf: $y = 40.8x + 9.12$, $R^2 = 79.81\%$; *B. gardneriana* bark: $y = 32.96x + 7.52$, $R^2 = 83.45\%$.

Figure 2. Effect of concentration of aqueous extracts obtained from seven plant species on mortality of *Pratylenchus coffeae*.

Promising results were showed by the reduction of the reproduction factor and population density of *Pratylenchus* sp. and *P. coffeae* in yam roots or tubers, under greenhouse conditions, by the use of pyroligneous extract from *Cocos nucifera* L. (Farias et al. 2020), and aqueous leaf extract from *Annona squamosa* L. (Magalhães et al. 2020), respectively.

Based on the present research, additional studies are needed in yam cropping areas with prevalence of *P. coffeae* and/or mixed populations with *P. brachyurus*, in order to confirm the

reaction of the sorghum cv. BRS Ponta Negra. Further studies under greenhouse and field conditions need to be implemented in order to evaluate the efficacy of the plant extracts tested in this study in the management of yam dry rot disease.

CONCLUSIONS

1. The sorghum cultivar 'BRS Ponta Negra' was a poor host to *Pratylenchus coffeae*, showing $0 < RF < 1$.
2. The leaf extract from *Sideroxylon obtusifolium* resulted in higher *P. coffeae* mortality at the lowest concentration (0.5%).

ACKNOWLEDGMENTS

To National Council for Research (CNPq), for providing scholarship for the first author.

REFERENCES

- ADEGBITE, A. A.; ADESIYAN, S. O. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. *World Journal of Agricultural Sciences*, v. 1, n. 1, p. 18-21, 2005.
- AHARONI, A.; JONGSMA, M. A.; BOUWMEESTER, H. J. Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. *Trends in Plant Science*, v. 10, n. 12, p. 594–602, 2005.
- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95, p. 367-373, 2000.
- ALVES-ARAÚJO, A. *Sideroxylon in Flora do Brasil*. 2020. Available at: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB32765>. Access on: 22 Dec. 2021.
- AQUINO, P. E. A.; MAGALHÃES, T. R.; NICOLAU, L. A. D.; LEAL, L. K. A. M.; AQUINO, N. C.; SANTOS, S. M.; NEVES, K. R. T.; SILVEIRA, E. R.; VIANA, G. S. B. The anti-inflammatory effects of N-methyl-(2S, 4R)-trans-4-hydroxy-l-proline from *Syderoxylon obtusifolium* are related to its inhibition of TNF-alpha and inflammatory enzymes. *Phytomedicine*, v. 24, p. 14-23, 2017.
- ARAUJO-NETO, V.; BOMFIM, R. R.; OLIVEIRA, V. O. B.; PASSOS, A. M. P. R.; OLIVEIRA, J. P. R.; LIMA, C. A.; MENDES, S. S.; ESTEVAM, C. S. THOMAZZI, S. M. Therapeutic benefits of *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. Ex Roem. & Schult.) T.D Penn.,

Sapotaceae in experimental models of pain and inflammation. *Revista Brasileira de Farmacognasia*, v. 20, n. 6, p. 933-8, 2010.

BORGES, D. F.; LOPES, E. A.; SOARES, M. S.; PINHEIRO, L. M.; ALBINO, R. E. A.; DIAS, W. M. L.; INÁCIO, F. M.; BORGES, E. J. S. Substâncias de origem vegetal e seu potencial para controlar fitonematoides. In: LOPES, E. A.; CARVALHO FILHO, A.; NOBRE, D. A. C.; MENDES, F. Q.; FERNANDES, F. L.; PINTO, F. G.; SILVA, G. H.; TRONTO, J.; VISÔTTO, L. E.; BORGES, P. D.; GOD, P. I. V. G.; RUAS, R. A. A.; NOVAIS, R. F. (org.). *A química na produção vegetal*. Rio Paranaíba, MG: UFV, 2017. p. 227-262.

BÖTTGER, S.; HOFMANN, K.; MELZIG, M. F. Saponins can perturb biologic membranes and reduce the surface tension of aqueous solutions: a correlation?. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 20, n. 9, p. 2822-2828, 2012.

BROCK, N. L.; DICKSCHAT, J. S. Biosynthesis of Terpenoids. In: RAMAWAT, K.; MÉRILLON, J. M. (org.). *Natural Products*. Berlin: Springer, 2013. p. 2693–2732.

CARNEVALE NETO, F.; FERNANDES, F. H. A.; KOGAWA, A. C.; SALGADO, H. R. N. Antimicrobial activity of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. and Schult) TD Penn. (Sapotaceae). *EC Microbiology*, v. 11, n. 6, p. 250-256, 2017.

CESÁRIO, F. R. A. S.; ALBUQUERQUE, T. R.; LACERDA, G. M.; OLIVEIRA, M. R. C.; SILVA, B. A. F.; RODRIGUES, L. B.; MARTINS, A. O. B. P. B.; ALMEIDA, J. R. G. S.; VALE, M. L.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Chemical fingerprint, acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves from *Tocoyena formosa* (Cham. and Schlecht.) K. Schum. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 26, n. 5, p. 01-08, 2019.

CESÁRIO, F. R. A. S.; ALBUQUERQUE, T. R.; LACERDA, G. M.; OLIVEIRA, M. R. C.; SILVA, B. A. F.; RODRIGUES, L. B.; MARTINS, A. O. B. P. B.; BOLIGON, A. A.; QUINTANS JÚNIOR, L. J.; ARAÚJO, A. A. S.; VALE, M. L.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Phytochemical profile and mechanisms involved in the anti-nociception caused by the hydroethanolic extract obtained from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K. Schum (Jenipapo-bravo) leaves in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 97, p. 321-329, 2018.

COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; SOUSA, C. S. RIBEIRO, F. L. B. 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: State Agricultural Research Centre, 1972

- FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). FAOSTAT, *Statistical Databases*. 2020. Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Access on: 03 January 2022.
- FARIAS, S. P.; ALMEIDA, A. V. D. L.; NASCIMENTO, E. S.; SOLETTI, J. I.; BALLIANO, T. L.; MOURA FILHO, G.; MUNIZ, M. F. S. *In vitro* and *in vivo* control of yam dry rot nematodes using pyroligneous extracts from palm trees. *Revista Ceres*, v. 67, n. 6, p. 482-490, 2020.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. *Manejo sustentável de fitonematoides*. 1. ed. Viçosa, MG: UFV, 2010.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- GARDIANO, C. G.; MURAMOTO, S. P.; KRZYZANOWSKI, A. A.; ALMEIDA, W. P.; SAAB, O. J. G. A. Efeito de extratos aquosos de espécies vegetais sobre a multiplicação de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 78, n. 4, p. 553-556, 2011.
- GONZAGA, V.; SANTOS, J. M.; MENDONCA, R. S.; SANTOS, M. A. Gênero *Pratylenchus*. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (org.). *Diagnose de Fitonematoides*. Campinas, SP: Millenium Editora, 2016. p. 71-98.
- JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, v. 48, p. 692, 1964.
- JESUS, F. N.; DAMASCENO, J. C. A.; BARBOSA, D. H. S. G.; MALHEIRO, R.; PEREIRA, J. A.; SOARES, A. C. F. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 35, n. 2, p. 783-791, 2014.
- JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- KUHN, P. R.; BELLÉ, C.; REINEHR, M.; KULCZYNSKI, S. M. Extratos aquosos de plantas daninhas, aromáticas e oleaginosas no controle de *Meloidogyne incognita*. *Nematropica*, v. 45, n. 2, p. 150-157, 2015.
- LEI, J.; LESER, M.; ENAN, E. Nematicidal activity of two monoterpenoids and SER-2 tyramine receptor of *Caenorhabditis elegans*. *Biochemical Pharmacology*, v. 79, n. 7, p. 1062-1071, 2010.

- LIMA, R. S.; MUNIZ, M. F. S.; COSTA, J. G.; SILVA, K. B.; BEHLING, A. Extratos aquosos de *Annona* spp. e *Croton heliotropiifolius* sobre *Scutellonema bradys* e prospecção química dos compostos. *Summa Phytopathologica*, v. 45, n. 2, P. 223-224, 2019.
- LIRA, V. L.; MOURA, R. M. Gramíneas e leguminosas para o controle do nematoide *Pratylenchus coffeae*. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, v. 13, p. 191-199, 2017.
- LIRA, V. L.; ROSA, J. M. O.; OLIVEIRA, S. A.; OLIVEIRA, C. M. G.; MOURA, R. M. Análises morfológica e molecular de isolados de *Pratylenchus coffeae* ocorrentes no Estado de Pernambuco, Brasil, em inhame. *Nematropica*, v. 44, n. 2, p. 152-165, 2014.
- MAGALHÃES, I. C. S.; MUNIZ, M. F. S.; MOURA FILHO, G.; RAMÍREZ, C. H.; ARAÚJO, A. S.; SOARES, E. N. H. M. Extrato aquoso de folhas de pinheira no manejo da casca-preta-do-inhame. *Nematropica*, v. 50, n. 2, p. 127-133, 2020.
- MESQUITA NETO, R.; MONTEIRO, H. F. C.; PEREIRA, T. P. N.; PARACAMPO, N. E. N. P. Perfil fitoquímico dos extratos de cascas do caule e folhas de sacaca comum (*Croton* spp.). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA, 14., 2010, Belém. **Anais [...]**. Belém, 2010.
- MOURA, R. M. Doenças do inhame-da-costa. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (org.). *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 5ª ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. p. 477-483.
- MOURA, R. M.; OLIVEIRA, I. S.; TORRES, G. R. C. Fitonematóides associados ao inhame da costa em seis municípios produtores da Zona da Mata do Estado de Pernambuco, Brasil. *Nematologia Brasileira*, v. 29, n. 2, p. 299-302, 2005.
- MUNIZ, M. F. S.; SILVA, E. J.; CASTRO, J. M. C.; ROCHA, F. S.; ALENCAR, L. M. C.; GONZAGA, V. Intensity of dry rot disease of yam in the state of Alagoas, Brazil. *Nematropica*, v. 42, n. 2, p. 198-200, 2012.
- NIMBALKAR, R. K.; RAJURKAR, S. K. Effect of plant root extracts to control root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) of soybean (*Glycine max*). *Biological Forum – An International Journal*, v. 1, n. 1, p. 65-68, 2009.
- OLIVEIRA, A. P.; RATH, M.; KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M.; HAMBURGER, M.; POTTERAT, O. Metabolite Profiling of the Leaves of the Brazilian Folk Medicine *Sideroxylon obtusifolium*. *Revista Planta Medica*, v. 78, n. 7, p. 703-710, 2012.
- ÖZEKER, E. Phenolic compounds and their importance. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, v. 9, n. 2, p. 114-124, 1999.

- PAZ FILHO, E. R.; SOARES, N. H. M.; DIAS, L. R. C.; MOURA FILHO, G.; ROCHA, F. S.; MUNIZ, M. F. S. Extratos aquosos de *Azadirachta indica* e de *Annona* spp. no controle de nematoides da bananeira. *Diversitas Journal*, v. 6, n. 3, p. 2984-2995, 2021.
- PEREIRA, A. V.; SANTANA, G. M.; GÓIS, M. B.; SANT'ANA, D. M. G. Tannins obtained from medicinal plants extracts against pathogens: antimicrobial potential. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (org.). *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*. Badajoz: Formatex Research Center, 2015. p. 228-235.
- PINTO, S.; SATO, V. N.; DE-SOUZA, E. A.; FERRAZ, R. C.; CAMARA, H.; PINCA, A. P. F.; MAZZOTTI, D. R.; LOVCI, M. T.; TONON, G.; LOPES-RAMOS, C. M. PARMIGIANI, R. B.; WURTELE, M.; MASSIRER, K. B.; MORI, M. A. Enoxacin extends lifespan of *C. elegans* by inhibiting *miR-34-5p* and promoting mitohormesis. *Redox Biology*, v. 18, p. 84-92, 2018.
- SANTOS, F. G.; RODRIGUES, J. A. S.; SCHAFFERT, R. E.; LIMA, J. M. P.; PITTA, G. V. E.; CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. *BRS Ponta Negra Variedade de Sorgo Forrageiro*. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. (Comunicado Técnico, 145).
- SEINHORST, J. W. The relation between nematode density and damage to plants. *Nematologica*, v. 11, n. 1, p. 137-154, 1965.
- SILVA, M. E.; MUNIZ, M. F. S.; SILVA, A. B.; CASTRO, J. M. C.; MOURA FILHO, G.; ROCHA, F. S.; LIRA, A. D.; SILVA, M. B. Crop sequence in the management of dry rot disease of yam under field conditions. *Nematropica*, v. 44, n. 1, p. 57-63, 2014.
- SINGH, A. U.; PRASAD, D. Management of plant-parasitic nematodes by the use of botanicals. *Journal of Plant Physiology & Pathology*, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2014.

CAPÍTULO V**Conclusões Gerais**

CONCLUSÕES GERAIS

- Em todas as áreas de produção de inhame amostradas foi constatada a presença do gênero *Pratylenchus*;
- As espécies *P. coffeae*, *P. brachyurus* e *P. zae* ocorreram nas áreas de produção de inhame localizadas nos Estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe do Nordeste do Brasil, com prevalência de *P. coffeae*;
- A espécie *P. zae* foi relatada pela primeira vez no Brasil associada ao inhame;
- Os estados de Alagoas, Paraíba, Pernambuco, Maranhão e Sergipe apresentam a maior diversidade de espécies de *Pratylenchus* associadas ao inhame no Nordeste brasileiro;
- Há a ocorrência de infecção mista de *Pratylenchus* spp. em áreas de produção de inhame nos Estados do Nordeste do Brasil;
- A cultivar de sorgo BRS Ponta Negra reagiu como má hospedeira de *P. coffeae*, apresentando $0 < FR < 1$;
- O extrato das folhas de *Sideroxylon obtusifolium* resultou em maior mortalidade de *P. coffeae* a partir da menor concentração (0,5%).