

Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis**

Effect of aqueous extract from turmeric (*Curcuma longa*) on *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*

Odair José Kuhn^{1a**}; Roberto Luiz Portz^{1a**}; José Renato Stangarlin^{1b***}; Ricardo Montalván Del Águila²; Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada^{3***}; Gilmar Franzener¹

Resumo

Avaliou-se o controle *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* mediante o uso de extrato aquoso de quatro genótipos de cúrcuma provenientes de cultivos de Jaboticabal-SP, Mara Rosa-GO, Maringá-PR e Mercedes-PR, bem como o efeito curativo, através do tratamento de manivas de mandioca infectadas com o patógeno e plantio em condições de campo. No experimento *in vitro*, o extrato de cúrcuma causou inibição total do crescimento da bactéria, na concentração de 10%, para o material proveniente de Mercedes, enquanto que, para a cúrcuma de Jaboticabal, houve controle total a 15% e o de Mara Rosa a 20%. A cúrcuma proveniente de Maringá não inibiu totalmente o crescimento, em nenhuma das concentrações utilizadas. No experimento *in vivo*, o brotamento das plantas foi pouco, devido ao grau de infecção das manivas. O extrato bruto de cúrcuma a 10% proveniente de Mercedes foi prejudicial para a mandioca em condição de campo, reduzindo o estande em relação aos tratamentos controle. Possivelmente, houve ação tóxica direta sobre a fisiologia da planta ou indução de suscetibilidade. Na concentração de 1% da cúrcuma proveniente de Maringá, não houve diferença estatística em relação às testemunhas, para o parâmetro estande de plantas. O controle químico utilizado não foi eficiente, pois se comportou igual à testemunha água. Com relação à severidade e à produtividade não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos. Os resultados indicam que, embora haja atividade antibacteriana a *X. axonopodis* pv. *manihotis*, os extratos de cúrcuma, nas concentrações utilizadas, não apresentam efeito curativo em manivas de mandioca infectadas pelo patógeno.

Palavras-chave: Bacteriose da mandioca, controle alternativo, planta medicinal

Abstract

The control of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* was evaluated *in vitro* by using aqueous extract of four turmeric genotypes from Jaboticabal-SP, Mara Rosa-GO, Maringá-PR and Mercedes-PR, as well as *in vivo*, by treatment of infected cassava stems and their cultivation at field conditions. The results showed that *in vitro* experiment, turmeric extract inhibited completely the bacteria growth in the concentration of 10% for the genotype from Mercedes, while for the Jaboticabal's turmeric there was a

¹ Mestrandos em Agronomia (a) e Professor Adjunto (b) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Centro de Ciências Agrárias, Rua Pernambuco 1777, Caixa Postal 1008, CEP 85.960-000, Marechal Cândido Rondon, PR. Tel. 45 3254-3216. E-mail: jrstangarlin@unioeste.br

² Pesquisador da EMBRAPA/Soja, Balsas, MA

³ Professora Adjunta do Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, CEP 87.020-900, Maringá, PR

* Parte da dissertação de Mestrado do 1º autor

** Bolsistas da Capes

*** Bolsistas do CNPq

Autor para correspondência: José Renato Stangarlin.

total control at 15% and for Mara Rosa at 20%. Turmeric genotype from Maringá did not show full inhibition of the bacterial growth in none of the extract concentrations used. At field conditions, sproutings were extremely low, due to the stems infection degree. Turmeric extract at 10%, from Mercedes, was harmful for the cassava, reducing stand regarding the control treatments. Possibly there was a direct toxic action on the plant physiology or susceptibility induction. But in the concentration of 1% of turmeric from Maringá, there was no statistical difference in relation to the control treatment for the plant stand. The chemical control was not completely efficient. There was no statistical difference among treatments for both severity and productivity. The results indicate that, although presenting antibacterial activity to *X. axonopodis* pv. *manihotis*, the turmeric extracts, in the used concentrations, did not present curative effect in cassava stems infected with the pathogen.

Key words: Bacterial blight of cassava, alternative control, medicinal plant

Introdução

Muitas são as doenças da mandioca, porém, poucas com a importância da bacteriose ou murcha bacteriana (POLTRONIERI; TRINDADE, 1999). Esta doença é causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (BONDAR, 1915 apud VAUTERIN et al., 1995), que coloniza os vasos do xilema, de onde retira seus nutrientes. Encontra-se espalhada em todas as regiões produtoras de mandioca do mundo, tendo como principal causa o modo de propagação da planta, o qual é realizado através de partes vegetativas (MASSOLA JUNIOR; BEDENDO, 1997). Escassas são as medidas de controle de bacterioses, pois desde a década de cinquenta até atualmente, os bactericidas são praticamente os mesmos e somente utilizados em culturas de alto valor econômico (LOPES, 1998).

O método de controle mais eficaz é o uso de manivas sadias, prática difícil para os agricultores, quando praticamente todas as regiões produtoras apresentam lavouras com sintomas da doença (MIURA; MONTEIRO, 1997). Outra alternativa é uso de resistência genética, mas a maioria das variedades com resistência são destinadas à indústria. Para consumo humano e animal são cultivadas variedades de mesa as quais, na sua maioria, são suscetíveis.

Assim, uma opção é o emprego de medidas para o controle alternativo, o qual pode incluir o uso de microrganismos antagonísticos/hiperparasitas (controle biológico) e a aplicação de produtos naturais com atividade antimicrobiana e/ou indutora de resistência

(SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003). As plantas medicinais apresentam vários metabólitos secundários capazes de exercerem essas últimas funções (STANGARLIN et al., 1999).

A cúrcuma ou açafrão (*Curcuma longa* L.), uma Zingiberacea originária do sudeste da Ásia, possui o corante curcumina como um dos principais componentes do rizoma (CECÍLIO FILHO; SOUZA, 1999; CECÍLIO FILHO et al., 2000). Pesquisas têm indicado o potencial de extratos de cúrcuma para o controle de fitopatógenos, especialmente fungos, a exemplo de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani* e *Aspergillus* sp. (SAJU; VENUGOPAL; MATHEW, 1998), *Fusarium udum* (SINGH; RAI, 2000) e *Macrophomina phaseolina* (RAJA; KURUCHEVE, 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito bactericida do extrato aquoso de rizomas de diferentes genótipos de cúrcuma sobre *X. axonopodis* pv. *manihotis* *in vitro* e o efeito do tratamento de manivas para o controle da murcha bacteriana da mandioca.

Material e Métodos

Isolamento, cultivo e manutenção da bactéria

Em lavouras da região Oeste do Paraná foram coletadas ramas de plantas de mandioca apresentando lesões características da forma sistêmica provocadas por *X. axonopodis* pv. *manihotis*.

O isolamento foi a partir das ramas e a caracterização bioquímica e patogênica do isolado bacteriano foi realizada através de reação de hipersensibilidade em folhas de fumo, hidrólise do amido, coloração de gram e reprodução de sintomas pela inoculação do patógeno em folhas de mandioca.

O cultivo foi em meio 523 de (KADO; HESKETT, 1970), constituído de 10 g de sacarose, 8 g de caseína ácida hidrolisada, 4 g de extrato de levedura, 2 g de K_2HPO_4 , 0,3 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e 15 g de ágar para 1000 mL de água destilada e os isolados da bactéria preservados através do armazenamento em glicerina a $-20^\circ C$ (MARIANO; ASSIS, 2000a).

Obtenção da curva de crescimento bacteriano

A curva de crescimento bacteriano foi obtida pelo método de determinação da concentração do inóculo pela contagem em placas de Petri (MARIANO; ASSIS, 2000b). Foram ajustadas suspensões bacterianas (em solução salina – NaCl 0,85%) para obter leituras de absorbância a 580 nm de 2,4; 2,0; 1,6; 1,2; 0,8 e 0,4. Para as absorbâncias 2,4; 2,0 e 1,6 foram realizadas diluições de até 10^8 e, para as demais absorbâncias diluições de até 10^7 , tendo sido plaqueados 100 mL das três últimas diluições no meio 523 sólido. O cálculo da concentração da suspensão foi efetuado com base no número de unidades formadoras de colônia (UFC).

Obtenção do extrato de cúrcuma

Foram empregados rizomas de cúrcuma de quatro diferentes regiões produtoras do Brasil: Jaboticabal/SP, Mara Rosa/GO, Maringá/PR e Mercedes/PR, os quais foram colhidos na época de colheita recomendada para cada região, e armazenados a $-20^\circ C$. O extrato bruto foi obtido de acordo com Stangarlin et al. (1999), a partir da trituração de rizomas (200 g/L de água destilada) em liquidificador, filtragem em gaze e em papel Whatman nº 41, obtendo-se o extrato líquido a 20%. A partir deste

foram feitas diluições, para obter-se o extrato nas concentrações de 15%, 10%, 5% e 1%, empregados no preparo do meio de cultura para medir o crescimento bacteriano.

Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do extrato de cúrcuma

O meio de cultura 523 líquido foi preparado contendo 20%, 15%, 10%, 5% e 1% de extrato de cúrcuma, de cada uma das procedências. O controle negativo foi com o meio sem a presença de extrato e o controle positivo com a presença de antibiótico (22,5 mg/L de oxitetraciclina + 225 mg/L de estreptomicina). Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições. A bactéria foi repicada pipetando-se uma alíquota de 0,1 mL de solução contendo 10^8 UFC/mL, sendo então incubada a $25^\circ C$, por 48 h, sob agitação. A avaliação do número de bactérias foi em espectrofotômetro a 580 nm.

Tratamento das manivas com extrato de cúrcuma

Na tentativa de separar possíveis efeitos de atividade antimicrobiana e indutora de resistência, ramas de mandioca infectadas, da variedade Verdinha, foram cortadas em manivas com aproximadamente 12 cm e tratadas com extrato de cúrcuma nas concentrações de 1% e 10% das duas procedências que apresentaram o melhor e o pior comportamento em relação à inibição do crescimento bacteriano *in vitro*. Foram realizados dois tratamentos controle: um com água destilada esterilizada (ADE) e outro com solução de 22,5 mg/L de oxitetraciclina + 225 mg/L de estreptomicina. Para cada tratamento foram utilizadas 144 manivas.

As manivas foram colocadas na posição vertical no interior de recipientes contendo os tratamentos, ficando uma porção correspondente à metade do seu comprimento submerso, por 72 h, em temperatura ambiente ($\pm 28^\circ C$) (FRANZENER et al., 2001).

Plantio a campo para avaliação da severidade e produtividade

O plantio foi na estação experimental Antônio Carlos dos Santos Pessoa, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon/PR, em área sob cultivo anterior com rotação milho/soja/trigo. As manivas tratadas com extrato foram plantadas a campo em espaçamento de 1 m entre linhas e 0,6 m entre plantas, com quatro linhas de nove plantas. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições sendo as parcelas constituídas por 36 manivas e consideradas como parcela útil as 14 centrais. O plantio foi efetuado sem o uso de adubação, seguindo-se prática utilizada na região Oeste do Paraná.

Foram avaliados: a) o percentual de brotamento das manivas; b) a presença de sintomas da doença nas plantas de acordo com a escala proposta por Miura et al. (1990), considerando-se notas de 0 a 5, onde 0: planta sem sintoma; 1: presença de pequenas manchas angulares nos folíolos; 2: aparecimento de lesões do tipo requeima nos folíolos e murcha de folhas; 3: exsudação de gomas nos pecíolos, murcha de folhas e queda de folhas; 4: lesões necróticas em hastes, com ou sem exsudação de goma, murcha de folha, desfolhamento parcial e morte dos brotos apicais e 5: presença de grandes lesões necróticas nas hastes, intenso desfolhamento, morte acentuada de hastes ou ainda, morte total da planta; c) a

produtividade um ano após o plantio pela determinação da massa de raízes produzidas.

Análise dos resultados

Os dados obtidos na avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* foram submetidos a análise de variância, segundo arranjo fatorial com dois fatores: genótipo (quatro subníveis: genótipos de cúrcuma: Mara Rosa, Jaboticabal, Maringá e Mercedes) e concentrações (seis subníveis: 0, 1, 5, 10, 15 e 20% de extrato bruto dos rizomas), com cinco repetições, comparados a testemunha com antibiótico.

Os dados do ensaio a campo foram submetidos a análise de variância de um delineamento em blocos ao acaso, sendo os tratamentos: ADE, antibiótico, genótipos de Maringá e de Mercedes em concentrações de 1 e 10%, com quatro repetições.

Resultados e Discussão

Caracterização bioquímica e patogênica do isolado bacteriano

O isolado de *X. axonopodis* pv. *manihotis* avaliado foi caracterizado como gram negativo, apresentou consumo de amido, não induziu reação de hipersensibilidade em folhas de fumo e induziu sintomas típicos da doença em folhas de mandioca inoculadas.

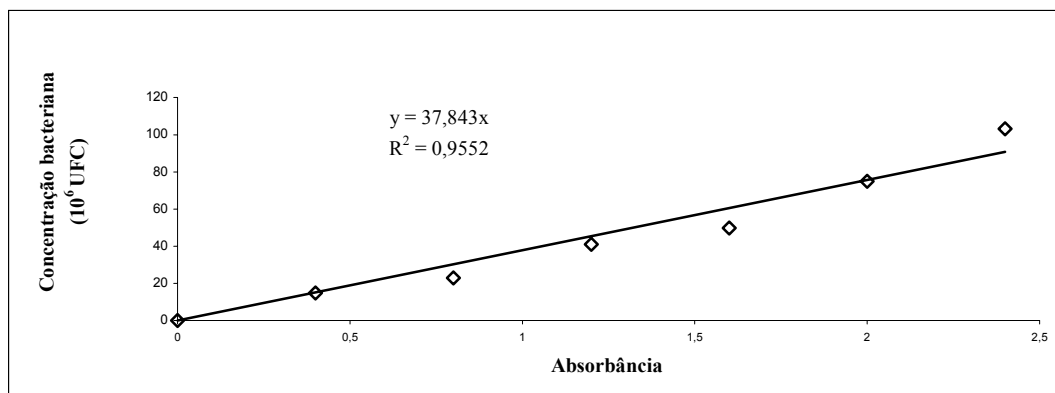


Figura 1. Ajuste da curva de concentração bacteriana (em unidades formadoras de colônia – UFC) em função da absorbância a 580 nm.

Ação antibacteriana in vitro

A curva de crescimento bacteriano do isolado é apresentada na Figura 1. O comportamento da concentração bacteriana em relação à absorbância foi linear, com equação da reta $y = 37,843x$, a qual apresentou coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9552.

O efeito da concentração do extrato aquoso dos rizomas de cúrcuma sobre *X. axonopodis* pv. *manihotis* é apresentado na Figura 2. Para os quatro genótipos de cúrcuma avaliados foi observado efeito das dosagens utilizadas indicado pela regressão significativa a 1%, tendo sido observada inibição do crescimento nas doses crescentes do extrato de cúrcuma.

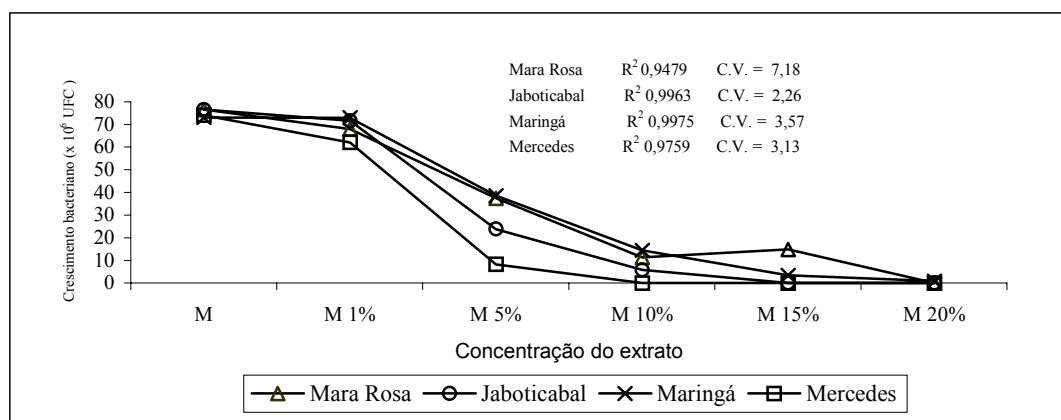


Figura 2. Crescimento de *X. axonopodis* pv. *manihotis* (UFCs) em diferentes concentrações de extrato bruto aquoso de quatro genótipos de *C. longa* *in vitro*

Para os valores de unidades formadoras de colônias (UFC) observados para cada concentração e genótipo de cúrcuma utilizado, foi observado que o genótipo de Mercedes reduziu o crescimento bacteriano a partir da concentração 5% em comparação a testemunha com antibiótico (Tabela 1). O máximo de inibição foi na concentração de 10% de extrato bruto da cúrcuma. Para os demais genótipos avaliados o controle foi apenas a partir da concentração de 10%, observado para Mara Rosa, Jaboticabal e Maringá. O genótipo de cúrcuma proveniente de Maringá foi o único que não inibiu totalmente o crescimento bacteriano na concentração máxima de 20%. Os genótipos de Mara Rosa, Jaboticabal e Maringá, todos a partir de concentração de 10%, e o de Mercedes, a partir da concentração de 5%, promoveram inibição do crescimento bacteriano maior do que o tratamento com antibiótico.

As diferenças no comportamento entre os genótipos de cúrcuma avaliados estão intimamente ligadas aos compostos presentes nos rizomas, não identificados neste trabalho, mas com ação antibacteriana, uma vez que o extrato bruto possui composição complexa. Foi observado que o efeito *in vitro* pode estar associado à coloração do extrato, uma vez que extrato de coloração mais alaranjada resultou em maior efeito inibidor quando comparado ao de coloração amarelada. Os rizomas provenientes de Mercedes (alaranjado) inibiram mais que o de Maringá (amarelo claro), e os extratos de Jaboticabal e Mara Rosa, com tonalidade intermediária de amarelo, apresentaram também valores intermediários de inibição.

Tabela 1. Crescimento de *X. axonopodis* pv. *manihotis* (10^6 UFC mL⁻¹), em meio de cultivo com diferentes concentrações do extrato bruto aquoso de quatro genótipos de *C. longa* (cúrcuma).

Genótipos	Concentrações do extrato					
	0	1%	5%	10%	15%	20%
	UFCs					
Mara Rosa	76,61 a ⁽⁺⁾	68,00ab ⁽⁺⁾	37,20 a ⁽⁺⁾	11,32 a ⁽⁻⁾	14,27a ⁽⁻⁾	0,00 b ⁽⁻⁾
Jaboticabal	76,54 a ⁽⁺⁾	71,60 a ⁽⁺⁾	23,87 b ⁽⁺⁾	5,79 b ⁽⁻⁾	0,00 c ⁽⁻⁾	0,00 b ⁽⁻⁾
Maringá	73,05 a ⁽⁺⁾	72,97 a ⁽⁺⁾	38,53 a ⁽⁺⁾	14,45 a ⁽⁻⁾	3,40 b ⁽⁻⁾	0,40 a ⁽⁻⁾
Mercedes	74,02 a ⁽⁺⁾	62,06 b ⁽⁺⁾	8,26 c ⁽⁻⁾	0,00 c ⁽⁻⁾	0,00 c ⁽⁻⁾	0,00 b ⁽⁻⁾
Testemunha*	16,42					

Médias seguidas de letras distintas nas colunas indicam diferenças pelo teste de Tukey a 1%;

⁽⁺⁾ Indica diferença significativa da testemunha, sendo superior a esta;

⁽⁻⁾ Indica diferença significativa da testemunha, sendo inferior a esta;

* Testemunha: antibiótico (22,5 mg/L de oxitetraciclina + 225 mg/L de estreptomicina).

Pereira e Stringheta (1998) relatam que curcuminóides (curcumina, desmetoxicurcumina e bis-desmetoxicurcumina) e o óleo essencial (contendo tumerona e zingibereno, entre outros) possuem ação bacteriostática (MARTINS; RUSIG, 1992; ZWAVING; BOS, 1992). Os curcuminóides, apresentam coloração amarelada e o óleo essencial pode variar de amarelo pálido a alaranjado. Desse modo, a influência da coloração dos rizomas no controle do patógeno observado no presente estudo indica que está associada com a concentração desses compostos.

Ação terapêutica in vivo sobre manivas em condições de campo

O percentual de plantas remanescentes no período de condução (um ano) estão apresentados na Tabela 2. Percebe-se os mesmos percentuais de plantas para manivas sem tratamento, tratadas com antibiótico ou tratadas com extrato de cúrcuma proveniente de Maringá na concentração de 1%. Coincidentemente, esse genótipo foi o que apresentou o menor controle da bactéria no teste *in vitro*. A cúrcuma de Maringá, na concentração de 10%, juntamente com o extrato proveniente de Mercedes a 1%, quando comparada a testemunha (água destilada), mostrou-se prejudicial

para a mandioca. Também o extrato do genótipo proveniente de Mercedes a 10% foi fitotóxico às manivas e resultou em menor percentual no estande de plantas. Os resultados indicam que os extratos foram prejudiciais para a bactéria e para as plantas de mandioca, possivelmente porque as plantas encontravam-se fisiologicamente debilitadas devido ao ataque do patógeno.

Os compostos presentes nos rizomas de cúrcuma podem ser prejudiciais para a mandioca de três modos que precisam ser melhores estudados: ação direta dos compostos da cúrcuma sobre os processos fisiológicos do brotamento; alteração do desenvolvimento fisiológico inicial da maniva com favorecimento do desenvolvimento do patógeno; indução do hospedeiro à suscetibilidade ao patógeno.

Na condição de campo plantas foram mortas pelo desenvolvimento da doença, não de modo significativo até o fim do período e não houve interação entre os tratamentos e épocas de avaliação do brotamento, aos 15, 90, 180 e 370 dias da emergência dos brotos. Esse resultado indica que os tratamentos não interferiram no processo patogênico e na morte após o estabelecimento das plantas, ficando seu efeito restrito ao período do plantio a emergência.

Tabela 2. Percentual de plantas de mandioca cv. Verdinha infectadas com *X. axonopodis* pv. *manihotis* e produtividade de plantas tratadas com extrato aquoso de rizomas de *C. longa* (cúrcuma) em condições de campo. Mal. Cândido Rondon/PR (2001/2002).

Tratamentos	Plantas no estande (%)	Produtividade (kg/ha)***
Água destilada	37,36 a**	10.386,9
Químico*	30,12 ab	10.535,7
Extrato de cúrcuma de:		
Maringá 1%	38,73 a	9.642,8
10%	25,01 bc	9.642,8
Mercedes 1%	20,36 bc	9.464,2
10%	16,39 c	7.232,1
C.V. (%)	19,38	44,48
Média geral	27,38	9.484,1

* 22,5 mg/L de oxitetraciclina + 225 mg/L de estreptomicina;

** Valores seguidos de letras distintas indicam diferença pelo teste de Tukey a 5%;

*** Sem diferença estatística.

Para a severidade da doença no campo constatou-se que todos os tratamentos apresentaram nível 4 da escala proposta por Miura et al. (1990) o qual compreende lesões necróticas nas hastes, com ou sem exsudação de goma, murcha de folha, desfolhamento parcial e morte dos brotos apicais e escurecimento de vasos abaixo da lesão apical.

Para a produtividade da mandioca não foram observadas diferenças significativas. Os valores de produtividade podem ser observados na Tabela 2. De acordo com Groxko (2001) a produtividade da mandioca no oeste do Paraná é de 25 t/ha, superior à observada neste experimento. Provavelmente a baixa produtividade obtida no ensaio deve-se ao baixo estande de plantas provocado pela ocorrência da bacteriose.

Franzener et al. (2001) utilizaram o extrato bruto de cânfora (*Artemisia camphorata*) em solo esterilizado e também não obtiveram controle satisfatório da bacteriose da mandioca quando do tratamento de manivas infectadas mas conseguiram resultados positivos quando do emprego da termoterapia no controle da bacteriose. Também o extrato de cânfora não proporcionou controle da

doença mas não foi fitotóxico, como observado no presente estudo com extrato do rizoma de cúrcuma nos experimentos.

Os resultados obtidos indicam que, embora a cúrcuma exerça atividade antibacteriana *in vitro* contra *X. axonopodis* pv. *manihotis*, são necessários novos ensaios para definir em que concentrações os extratos aquosos exercem efeito curativo sem provocar fitotoxidez em manivas de mandioca infectadas com o patógeno.

Referências

- CECÍLIO FILHO, A. B.; SOUZA, R. J. Caracterização dos estádios fenológicos da cúrcuma, em função da época e densidade de plantio. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.17, n.3, p.248-253, 1999.
- CECÍLIO FILHO, A.B.; SOUZA, R. J.; BRAZ, L. T.; TAVARES, M. Cúrcuma: medicinal, condimentar e outros usos potenciais. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.30, n.1, p.171-175, 2000.
- FRANZENER, G.; CASSOL, L.; STANGARLIN, J. R. ; PORTZ, KUHN, O.; FACCIONI, R.; FURLANETTO, C. ; SCHWANESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Ocorrência de doenças na cultura da mandioca em Marechal Cândido Rondon/PR e controle de *Xanthomonas axonopodis* pv

- manihotis* em manivas através de termoterapia e tratamento com extrato de *Artemisia camphorata*. *Scientia Agraria Paranaensis*, Cascavel, v.1, n.2, p.87-98, 2001.
- GROXKO, M. *Aspectos da Agropecuária Paranaense: Mandioca*. Disponível em: <<http://www.pr.gov.br/seab/aspectos/mandioca.html>>. Acesso em: 16 maio 2001.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, St. Paul, v.60, p.969-976, 1970.
- LOPES, C. A. Controle de fitobacterioses. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.23, supl., p.202-203, 1998.
- MARIANO, R. L. R.; ASSIS, S. M. P. Preservação de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R. L. R. (Coord.). *Manual de Práticas em Fitobacteriologia*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000a. p.37-47.
- MARIANO, R. L. R.; ASSIS, S. M. P. Quantificação de inóculo de bactérias fitopatogênicas. In: MARIANO, R. L. R. (Coord.) *Manual de Práticas em Fitobacteriologia*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000b. p.49-52.
- MARTINS, M. C.; RUSIG, O. Cúrcuma: um corante natural. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.6, n.1, p.56-65, 1992.
- MASSOLA JUNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P. Doenças da mandioca, In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p.501-503.
- MIURA, L.; FROSI, J. F.; MONDARDO, E.; TERNES, M. Seleção de germoplasma de mandioca resistente a *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* em Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.25 n. 8, p.1209-1214, 1990.
- MIURA, L.; MONTEIRO, A. J. A. Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) – Controle de doenças. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. *Controle de Doenças de Plantas: grandes Culturas*. Viçosa: UFV, 1997. v. 2, p.791-814.
- PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafrão. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.6, n.2, p.102-105, 1998.
- POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R. Doenças da cultura da mandioca, In: DUARTE, M. L. R. *Doenças de Plantas no Trópico Úmido Brasileira: plantas industriais*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999, v. 1, p.139-157.
- RAJA, J.; KURUCHEVE, V. Influence of plant extracts and buffalo urine on the growth and sclerotial germination of *Macrophomina phaseolina*. *Indian Phytopathology*, New Delhi, v. 51, n. 1, p.102-103, 1998.
- SAJU, K. A.; VENUGOPAL, M. N.; MATHEW, M. J. Antifungal and insect-repellent activities of essential oil of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Current Science*, Bangalore, v.75, n.7, p.660-662, 1998.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v.28, supl., p.554-556. 2003.
- SINGH, R.; RAI, B. Antifungal potential of some higher plants against *Fusarium udum* causing wilt disease of *Cajanus cajan*. *Microbios*, Cambridge, v.102, n.403, p.165-173, 2000.
- STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. *Biotechnologia. Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, n.11, p.16-21, 1999.
- VAUTERIN, L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.45, p.472-489, 1995.
- ZWAVING, J. H.; BOS, R. Analysis of the essential oils of five curcuma species. *Flavour and Fragrance Journal*, Chichester, v.7, p.19-22, 1992.