



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE



**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Croton grewioides BAILL. SOBRE O FITOPATÓGENO
Xanthomonas campestris pv. *campestris***

TAÍSE CONCEIÇÃO RODRIGUES

2022



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**



TAÍSE CONCEIÇÃO RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Croton grewoides* BAILL. SOBRE O FITOPATÓGENO
Xanthomonas campestris pv. *campestris***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientadora
Profª. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

R696c Rodrigues, Taíse Conceição.
Caracterização química e atividade antimicrobiana de óleos
essenciais de *Croton grewoides* Baill. sobre o fitopatógeno
Xanthomonas campestris pv. *campestris* / Taíse Conceição
Rodrigues; orientadora Maria de Fátima Arrigoni-Blank. – São
Cristóvão, SE, 2022.
48 f.; il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade) –
Universidade Federal de Sergipe, 2022.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Plantas aromáticas. 3.
Antioxidantes. 4. Inseticidas. I. Arrigoni-Blank, Maria de Fátima,
orient. II. Título.

CDU 665.52/.54

TAÍSE CONCEIÇÃO RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Croton grewoides* BAILL. SOBRE O FITOPATÓGENO
Xanthomonas campestris pv. *campestris***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 31 de janeiro de 2022.

Prof^ª. Dra. Rejane Rodrigues da Costa e
Carvalho
UFRPE

Prof^ª. Dra. Itamara Bomfim Gois
PPGAGRI-UFS
(Coorientadora)



Prof^ª. Dra. Maria de Fátima Arrigoni-Blank
PPGAGRI- UFS
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por me dar coragem para enfrentar todos os obstáculos encontrados.

A minha mãe Neide, minha avó Zelita e minha irmã Érica pelo carinho e por sempre me apoiarem em todos os momentos decisivos da minha vida.

A minha orientadora prof^a. Dra. Maria de Fatima Arrigoni- Blank pelos ensinamentos, conselhos, dedicação, confiança e por possibilitar mais um passo na minha vida acadêmica.

A minha coorientadora e amiga prof^a. Dra. Itamara Bomfim Gois, pelo apoio, amizade, dedicação, paciência, pela confiança depositada em mim e pela excelente orientação. Sua colaboração permitiu não somente o crescimento acadêmico, mas também o crescimento pessoal que levarei pra vida.

Aos professores Dra^a. Roberta Fernandes, Dr. Arie Fitzgerald Blank e Dra^a. Maria Terezinha Neta, que foram peças fundamentais na realização desse trabalho. Agradeço pela orientação, confiança, valiosas sugestões e por conceder a estrutura necessária para a realização dos experimentos.

Gostaria de expressar minha eterna gratidão a todos os meus amigos do Laboratório de Cultura de Tecidos: Sarinha, Cris, Laurinha e Lucas. Obrigada pela amizade e todos os momentos de diversão compartilhados.

Aos colegas do Laboratório de Fitotecnia e de Enzimologia pela colaboração no desenvolvimento dos experimentos.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade- PPGAGRI pelos conhecimentos compartilhados.

À Universidade Federal de Sergipe e ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade – PPGAGRI por fornecer toda infraestrutura para o desenvolvimento do trabalho. Ao CNPq pela concessão da bolsa.

A todos os familiares e amigos que se fizeram presentes em minha vida, sempre me incentivando.

A todos que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Gênero <i>Croton</i>	3
2.1.1. <i>Croton grewoides</i> Baill.....	4
2.2. Metabólitos secundários e caracterização química de óleos essenciais	5
2.3. Atividades bioativas dos óleos essenciais.....	6
2.4. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
4. ARTIGO 1: Caracterização química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de <i>Croton grewoides</i> Baill. sobre o fitopatógeno <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	17
Resumo.....	17
Abstract.....	18
4.1. Introdução	18
4.2. Material e Métodos.....	19
4.2.1. Material vegetal e extração de óleo essencial.....	19
4.2.2. Análise química dos óleos essenciais.....	20
4.2.3. Atividade antimicrobiana.....	21
4.2.3.1. Isolados bacterianos.....	21
4.2.3.2. <i>Screening in vitro</i> da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de <i>Croton grewoides</i> Baill.....	21
4.2.3.3. Determinação da concentração inibitória mínima e concentração mínima bactericida.....	21
4.2.3.4. Cinética do crescimento bacteriano.....	22
4.2.3.5. Ensaio de permeabilização de membrana.....	22
4.2.4. Análise dos dados.....	22
4.3. Resultados	23
4.3.1. Composição química dos óleos essenciais	23
4.3.2. <i>Screening in vitro</i> da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais dos acessos de <i>Croton grewoides</i> Baill.	26
4.3.3. Concentração inibitória mínima e concentração mínima bactericida	27
4.3.4. Cinética de crescimento bacteriano e ensaio de permeabilidade de membrana.....	28
4.4. Discussão	30
4.5. Conclusões.....	32
4.6. Referências Bibliográficas.....	32
5. Considerações Finais.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Acessos (A) presentes na coleção do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas localizado na Fazenda Experimental “Campus Rural” da UFS, frutos (B) e sementes (C) de <i>Croton grewioides</i> Baill.....	4
ARTIGO 1		
Figura		Página
1	Distribuição dos compostos químicos dos óleos essenciais de <i>Croton grewioides</i> Baill. em relação aos dois componentes principais por meio da análise de componentes principais (PCA).....	26
2	<i>Screening</i> dos óleos essenciais de <i>Croton grewioides</i> Baill. sobre o crescimento <i>in vitro</i> de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Campestris</i>	27
3	Valores de coeficientes (VIP scores) obtidos com o método PLS-DA para os compostos presentes nos óleos essenciais dos acessos de <i>Croton grewioides</i> Baill. em relação à concentração inibitória mínima (MIC) contra <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	29
4	Permeabilidade da membrana utilizando iodeto de propídio (A) e cinética de crescimento (B) de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> após exposição ao óleo essencial CGR 108 de <i>Croton grewioides</i> Baill.....	30

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela		Página
1	Código, origem e informações geográficas dos 29 acessos da coleção de <i>Croton grewoides</i> Baill. do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 2022.....	20
2	Composição química dos óleos essenciais dos acessos da coleção de <i>Croton grewoides</i> Baill. do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 2022.....	22
3	Concentrações inibitória mínima (MIC) e bactericida mínima (MBC) dos óleos essenciais de <i>Croton grewoides</i> Baill. e do composto eugenol sobre o crescimento <i>in vitro</i> de <i>Xantomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	28

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitros
ABTS	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
BAG	Banco Ativo de Germoplasma
CG	Cromatografia gasosa
CO ₂	Dióxido de Carbono
CGR	<i>Croton grewoides</i> Baill.
Da	Dalton
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FRAP	<i>Ferric Reducing Ability Power</i>
MS	Espectrometria de massas
MBC	Concentração bactericida mínima
MIC	Concentração inibitória mínima
mL	Mililitros
mM	Milimolar
Nm	Nanômetro
OE	Óleo essencial
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Iodeto de propídio
PQP	Praga quarentenária presente
pv.	Patovar
IR	Índice de retenção
rpm	Rotação por minuto
UFC	Unidade formadora de colônia
UV	Radiação ultravioleta
Xcc	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>

RESUMO

RODRIGUES, Taíse Conceição. **Caracterização química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. sobre o fitopatógeno *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***. São Cristóvão: UFS, 2022. 37p. (Dissertação– Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

Croton grewoides Baill. (alecrim-de-cabocla) é uma espécie endêmica do Brasil e ocorre nos estados de Alagoas, Bahia, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Minas Gerais, Goiás e Sergipe. É uma planta aromática, produtora de óleo essencial que apresenta propriedades bioativas, incluindo as atividades antioxidante, antifúngica e inseticida. Os Bancos de Germoplasmas (BAGs) apresentam suma importância para a conservação da variabilidade genética de espécies aromáticas, e a caracterização química dos acessos é fundamental para a prospecção de compostos bioativos. A busca por tais compostos corrobora com a identificação de atividades biológicas, as quais têm sido descritas para diferentes espécies do gênero *Croton* devido à diversidade da composição química de seus óleos essenciais. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização química dos óleos essenciais de acessos da coleção de *Croton grewoides* Baill. do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas da UFS, e avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* sobre *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Os óleos essenciais dos 29 acessos de *C. grewoides* foram extraídos pelo método da hidrodestilação e analisados por Cromatografia Gasosa acoplados à espectrometria de massas (CG/EM). Para a determinação das concentrações inibitória mínima (MIC) e bactericida mínima (MBC) dos óleos essenciais foi utilizado o método de microdiluição. As concentrações dos óleos essenciais e do composto majoritário eugenol variaram de 125 a 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Como controle positivo utilizou-se sulfato de estreptomicina (12,5 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). A cinética de crescimento foi avaliada para diferentes concentrações do óleo essencial ($2 \times$, $1 \times$, $1/2 \times$, $1/4 \times$ e $1/8 \times$ MIC) considerando os tempos: 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 180 min. No ensaio da permeabilidade da membrana com iodeto de propídio (PI) as bactérias foram expostas ao óleo essencial nas mesmas concentrações e tempos utilizados para o ensaio da cinética de crescimento. Os compostos majoritários identificados nos óleos essenciais analisados foram eugenol, metil eugenol e metil chavicol. O óleo essencial CGR 108 apresentou MIC de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto que a MBC foi de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os valores de MIC e MBC para o óleo essencial CGR 107 foi de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O óleo essencial CGR 125 apresentou MIC e MBC de 2000 e 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Para CGR 318 a MIC foi de 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e a MBC foi $> 4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Para o CGR 209 não se verificou atividade antibacteriana nas concentrações testadas. Para o composto eugenol, a MIC e MBC foram 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Na cinética de crescimento, para o óleo essencial CGR 108, a partir do tempo 30 minutos foi observada redução da densidade óptica para as concentrações $2 \times$ e $1 \times$ MIC. A maior intensidade de fluorescência com o PI foi observada quando as bactérias foram expostas às concentrações $2 \times$ e $1 \times$ MIC a partir de 30 minutos. Os óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. e o composto eugenol apresentam potencial antibacteriano contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Palavras-chave: Alecrim-de-cabocla, podridão negra, fitoquímicos, mecanismo de ação.

* Comitê Orientador: Maria de Fátima Arrigoni-Blank – UFS (Orientadora), Itamara Bomfim Gois (coorientadora – PNPd/CAPES/PPGAGRI/ UFS).

ABSTRACT

RODRIGUES, Taíse Conceição. **Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils from *Croton grewoides* Baill. on the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.** São Cristóvão: UFS, 2022. 37p. (Thesis - Master/Doctor of Science in Agriculture and Biodiversity)*

Croton grewoides Baill. (Alecrim-de-cabocla) is an endemic species from Brazil and occurs in the states of Alagoas, Bahia, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Minas Gerais, Goiás, and Sergipe. It is an aromatic, essential oil-producing plant that has bioactive properties, including antioxidant, antifungal and insecticidal activities. Germplasm Banks (BAGs) are extremely important for the conservation of the genetic variability of aromatic species, and the chemical characterization is essential for the prospecting of bioactive compounds. The search for such compounds corroborates with the identification of biological activities, such as have been described for different species of the *Croton* genus due to the diversity of chemical composition observed in their essential oils. The objective of this work was to carry out the chemical characterization of essential oils from accessions of *Croton grewoides* Baill. of the Active Germplasm Bank of Medicinal and Aromatic Plants of UFS, and to evaluate their *in vitro* antibacterial activity on *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. The essential oils from 29 accessions of *C. grewoides* were extracted by the hydrodistillation method and analyzed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC/MS). To determine the minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal (MBC) Concentrations of the essential oils, the microdilution method was used. Essential oils and the majoritarian compound eugenol concentrations ranged from 125 to 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. As a positive control, streptomycin sulfate (12.5 to 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) was used. The growth kinetics were evaluated for different concentrations of the essential oil ($2 \times$, $1 \times$, $1/2 \times$, $1/4 \times$ and $1/8 \times$ MIC) considering the times: 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 and 180 min. In the membrane permeability assay with Propidium Iodide (PI), the bacteria were exposed to the essential oil at the same concentrations and times used for the growth kinetic assay. The major compounds identified in the analyzed essential oils were eugenol, methyl eugenol, and methyl chavicol. The essential oil CGR 108 had a MIC of 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, while the MBC was 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. The MIC and MBC values for the essential oil CGR 107 were 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. The essential oil CGR 125 had MIC and MBC of 2000 and 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively. For CGR 318, the MIC was 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and MBC was $> 4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. For CGR 209 there was no antibacterial activity at the concentrations tested. For the compound eugenol, the MIC and MBC were 500 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively. In the growth kinetics, for the essential oil CGR 108, with 30 minutes a reduction in optical density was observed for the $2 \times$ and $1 \times$ MIC concentrations. The highest fluorescence intensity with PI was observed when bacteria were exposed to $2 \times$ and $1 \times$ MIC concentrations after 30 minutes. The essential oils of *Croton grewoides* Baill. and eugenol compound have antibacterial potential against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Key-words: Alecrim-de-cabocla, black-rot, phytochemicals, mechanism of action.

*Supervising Committee: Maria de Fátima Arrigoni-Blank– UFS (Orientadora), Itamara Bomfim Gois (coorientadora – PNPd/CAPES/PPGAGRI/ UFS).

1. INTRODUÇÃO GERAL

A crescente utilização dos recursos vegetais, objetivada por uma intensa prospecção de novos produtos, pode promover a perda da base genética de espécies bioativas (BLANK *et al.*, 2004; NIZIO *et al.*, 2015). Adicionalmente, alterações antrópicas, desmatamento e degradação dos ecossistemas têm contribuído para que haja perda da diversidade vegetal. Essas alterações podem, a médio e longo prazo, contribuir para o aumento da vulnerabilidade e extinção dessas espécies (SOUZA, 2015). Uma das alternativas utilizadas para a conservação de espécies vegetais é a criação de unidades conservadoras de material genético, como os Bancos de Germoplasmas (BAGs). Os BAGs apresentam como principais funções a identificação, caracterização e conservação de espécies com relevância econômica e ambiental (BRITO *et al.*, 2021).

Dentre as famílias de espécies vegetais que apresentam potencial econômico está a Euphorbiaceae. É composta por mais de 300 gêneros e 8000 espécies, com representantes em todos os tipos de vegetação (ISLAM *et al.*, 2019). Diferentes usos têm sido relatados para estas espécies, como produção de látex, alimentação, ornamentação, óleos essenciais, extratos, resinas, lubrificantes e atividades terapêuticas (CAVALCANTI *et al.*, 2020).

O gênero *Croton* é o segundo maior da família Euphorbiaceae, com aproximadamente 1.200 espécies, e o Brasil é um dos centros de diversidade do gênero reunindo cerca de 350 espécies (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011). O gênero abrange diversas espécies com potenciais bioativos, incluindo as atividades antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2011; SIQUEIRA *et al.*, 2021), antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2020), larvicida (SILVA *et al.*, 2019a), inseticida (CARVALHO *et al.*, 2016), acaricida (SIQUEIRA *et al.*, 2014) e formicida (BRITO *et al.*, 2020). Além disso, este gênero possui propriedades terapêuticas, incluindo as atividades anti-inflamatória, antinociceptiva (SOUZA *et al.*, 2010) e antitumoral (MEIRELES *et al.*, 2016).

Croton grewoides Baill., conhecida popularmente como alecrim-de-cabocla ou canelinha, é uma espécie endêmica do Brasil e ocorre nos biomas Caatinga e Cerrado (SiBBR, 2021) sobre solo arenoso e argiloso com afloramento rochoso. Possui hábito arbustivo ou subarbustivo e pode medir até 3 metros de altura (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011). É uma planta aromática, produtora de óleo essencial que apresenta propriedades bioativas cientificamente comprovadas (CAVALCANTI *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

A espécie tem demonstrado potencial terapêutico no tratamento de distúrbios intestinais, dores e como estimulante de apetite (SILVA *et al.*, 2015). Além disso, os óleos essenciais de *C. grewoides* possuem atividades antimicrobiana (CAVALCANTI *et al.*, 2020) e antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2020). A partir das análises químicas dos óleos essenciais da espécie, observou-se predominância de sesquiterpenos e fenilpropanoides, tornando-os fontes promissoras de substâncias bioativas a serem investigadas (MEDEIROS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Óleos essenciais são misturas complexas sintetizadas a partir do metabolismo secundário das plantas (ALMEIDA *et al.*, 2020). Quimicamente são formados por compostos voláteis, aromáticos, geralmente de baixo peso molecular e de natureza lipofílica (MOURA *et al.*, 2019). A diversidade na composição química encontrada em espécies bioativas tem intensificado os estudos relacionados à atividade biológica destas espécies devido ao crescente investimento em pesquisas para a descoberta de novos princípios ativos. Na agricultura, as espécies bioativas tem ganhado destaque principalmente no controle microbiano, assim como na descoberta de compostos para formulação de biopesticidas (NAZARRO *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2020).

A produção agrícola pode ser severamente comprometida devido à ocorrência de doenças como a podridão negra, causada pela fitobactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, comum em Brassicaceae (TILMISINA *et al.*, 2020). A fitobactéria penetra através de ferimentos mecânicos ou aberturas naturais e multiplicam-se intensamente nos espaços

intracelulares atingindo todos os órgãos da planta. Os principais sintomas da podridão negra são manifestados nas folhas com surgimento de lesões amareladas em forma de “V” e escurecimento das nervuras (ARAÚJO e TEBALDI, 2019).

As principais medidas de controle da podridão negra são o uso de material propagativo sadio e resistente, eliminação de restos culturais e controle químico, com o qual é realizado o tratamento de sementes e pulverização nas folhas com produtos à base de cobre e antibióticos (SILVA *et al.*, 2020; HURTADO *et al.*, 2021). Contudo, o uso indiscriminado de agroquímicos sintéticos pode causar impactos negativos ao meio ambiente e à saúde humana. Somado a isso, o uso excessivo destes, bem como a alta capacidade de mutação das bactérias, contribuem com a aquisição de resistência das fitobactérias. Este fato vem impulsionando a busca por antimicrobianos de baixo poder residual e com formulações à base de matérias-primas naturais, a exemplo dos óleos essenciais (ARAÚJO *et al.*, 2019).

Resultados promissores do uso de óleos essenciais no controle de bactérias Gram-negativas que apresentam diferentes mecanismos de ação têm sido relatados (SILVA *et al.*, 2019b; SIQUEIRA *et al.*, 2021). Dado o potencial da espécie *C. grewioides* como alternativa ao uso de produtos sintéticos e a necessidade de conservação de sua variabilidade genética, a qual, associada aos fatores ambientais, interfere na composição química e no teor dos óleos essenciais (MELITO *et al.*, 2019), observa-se a necessidade de estudos relacionados à caracterização química do material conservado. Tais informações são necessárias para o delineamento de estratégias de conservação, manejo e uso de forma sustentável deste recurso genético. Ademais, a caracterização química fornece informações relevantes para a seleção de indivíduos com alto teor de óleo essencial e para prospecção de compostos químicos destinados à formulação de bioprodutos (NASCIMENTO *et al.*, 2020; BRITO *et al.*, 2021).

Devido à escassez de estudos para investigar a propriedade bactericida de óleos essenciais em espécies do gênero *Croton*, objetivou-se avaliar a atividade antibacteriana e o mecanismo de ação dos óleos essenciais de *Croton grewioides* Baill. sobre a fitobactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Croton*

A família Euphorbiaceae é um dos grupos mais complexos e diversos em termos morfológicos e taxonômicos entre as angiospermas (OLIVEIRA, 2013). A família é composta por mais de 300 gêneros e 8000 espécies com ampla distribuição, possuindo representantes em todos os tipos de vegetação (LUCENA e ALVES, 2010; ISLAM *et al.*, 2019). No Brasil, estão entre as 10 famílias mais representativas das angiospermas, com 72 gêneros e cerca de 1100 espécies, sendo que 638 são endêmicas (SOUZA e LORENZI, 2008; NEERAJ e LAL, 2019). Na região Nordeste encontra-se cerca de 210 espécies e 45 gêneros, com 17 espécies endêmicas do bioma Caatinga (LUCENA e ALVES, 2010).

As espécies pertencentes à família Euphorbiaceae têm demonstrado significativa importância econômica, especialmente na alimentação, ornamentação, produção de látex, combustível, óleos essenciais, resinas, lubrificantes e atividades terapêuticas (TRINDADE e OSMAR, 2014; CAVALCANTI *et al.*, 2020).

Croton é o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae, pertence à subfamília Crotonoideae e à tribo Crotoneae (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2017). Possui cerca de 1.200 espécies com ampla distribuição nas regiões tropicais, mas também em áreas subtropicais e temperadas do hemisfério Norte. As espécies desta família são popularmente conhecidas como velames ou marmeleiro (SILVA *et al.*, 2009).

O Brasil é um dos principais centros de diversidade do gênero com aproximadamente 350 espécies, das quais 252 são endêmicas. A região Nordeste do Brasil possui alta diversidade do gênero, com cerca de 90 espécies, sendo que 69 ocorrem no bioma Caatinga. O gênero é representado por arbustos, subarbustos, árvores e lianas, presentes, principalmente, na vegetação secundária (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011; CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2017).

A identificação do gênero *Croton* pode ser realizada pela presença de tricomas estrelados, fasciculados ou conspicuos nas folhas; inflorescência racemosa ou pistilada; presença de cinco pétalas; filetes livres com grão de pólen esférico; presença de látex colorido ou incolor; folhas senescentes, geralmente alternas verticiladas com presença de glândulas na lâmina foliar, no ápice ou na base do pecíolo (LIMA e PIRANI, 2003; LIMA *et al.*, 2006).

O gênero *Croton* possui espécies aromáticas e produtoras de óleos essenciais que são constituídos por uma mistura complexa de compostos com propriedades bioativas características (SOUZA *et al.*, 2017). Dentre as espécies que constituem o gênero estão: *C. argyrophyllus* Kunth, *C. argyrophyllodes* Muell. Arg., *C. nepetaefolius* Baill., *C. sonderianus* Muell. Arg., *C. linearifolius* Muell. Arg., *C. triqueter* Lam., *C. tetradenius* Baill., *C. splendidus* Mart., *C. urucurana* Baill. e *C. grewioides* Baill. (LIMA e PIRANI, 2003; RANDAU *et al.*, 2004).

O perfil químico do gênero *Croton* é diversificado com metabólitos secundários que incluem terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos. Essas substâncias apresentam um grande potencial econômico, o que torna o gênero amplamente promissor para prospecção e estudos relacionados à atividade biológica dos princípios ativos (SILVA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2011).

Análises fitoquímicas realizadas com os óleos essenciais de espécies do gênero *Croton* identificaram 109 compostos pertencentes às mais diversas classes estruturais como: monoterpenoides, sesquiterpenoides e fenilpropanoides (SILVA *et al.*, 2008; ALMEIDA-PEREIRA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Nesse sentido, estudos têm demonstrado que diferentes espécies do gênero *Croton* apresentam substâncias com propriedades bioativas, como, por exemplo, atividade fungicida (SOUZA *et al.*, 2006; FONTENELLE *et al.*, 2008), anti-inflamatória, antinociceptiva, analgésica (SOUZA *et al.*, 2010), acaricida (SIQUEIRA *et al.*, 2014), antitumoral (MEIRELES *et al.*, 2016), inseticida (CARVALHO *et al.*, 2016),

larvicida (SILVA *et al.*, 2019a), antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2020), formicida (BRITO *et al.*, 2020) e antimicrobiana (ALMEIDA-PEREIRA *et al.*, 2019; SIQUEIRA *et al.*, 2021).

2.1.1 *Croton grewioides* Baill.

Croton grewioides Baill. é conhecida popularmente como alecrim-de-cabocla ou canelinha. É uma espécie endêmica do Brasil que ocorre nos biomas Caatinga, Cerrado e em solos arenosos com afloramentos rochosos, entre 440 a 600 metros de altitude. A espécie ocorre nos estados do Rio Grande do Norte, Bahia, Pernambuco, Ceará, Goiás, Minas Gerais e Sergipe (SILVA *et al.*, 2010; CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011; SiBBR, 2021).

A espécie apresenta hábito arbustivo ou subarbustivo ereto, possui caule pouco ramificado e pode medir de 0,7 a 3 metros de altura (Figura 1A). É uma planta monoica com inflorescência terminal, tirsoide e contínuas. As flores são pistiladas, diclamídeas, valvares, pentâmeras, de coloração creme e variando de 4,5 a 6 mm de comprimento (LIMA e PIRANI, 2003; SILVA *et al.*, 2010). Os estames são curtos, livres, com grão de pólen globosos e abertura do tipo elipsoide. Na inflorescência feminina o ovário é súpero, tricarpelar, trilocular e em cada lóculo possui apenas um único óvulo (WEBSTER, 1993). As folhas são alternas, simples, ápice agudo, base cuneada e limbo foliar levemente arredondado com margem serrilhada. Em suas folhas e galhos estão presentes tricomas estrelados e fasciculados com látex ausente (LIMA e PIRANI, 2003; SILVA *et al.*, 2010; CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011).

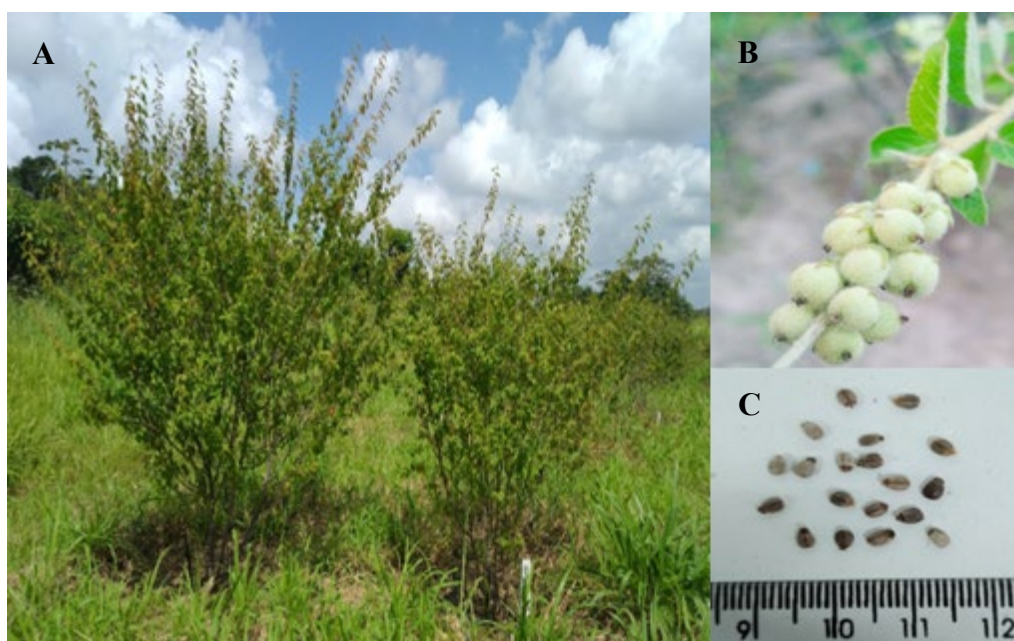


Figura 1. Acessos (A) presentes na coleção do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas localizado na Fazenda Experimental “Campus Rural” da UFS, frutos (B) e sementes (C) de *Croton grewioides* Baill. Fotos: Taíse Conceição Rodrigues, 2021.

Os frutos são em forma de cápsula, geralmente orbiculares (Figura 1B). As sementes são carunculadas, lisas, com a face dorsal convexa e coloração variando do castanho ao alaranjado (Figura 1C). A espécie apresenta floração nos meses de janeiro, outubro e novembro (SILVA *et al.*, 2010; CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011).

As características que podem ser utilizadas para a identificação da espécie são a presença de sépalas pistiladas estreitamente oblongas, alta densidade de tricomas na face abaxial das folhas, além do forte aroma frequentemente perceptível em material herborizado (LIMA e PIRANI, 2003).

Propriedades bioativas cientificamente comprovadas têm sido atribuídas aos seus óleos essenciais, como a antibacteriana (MEDEIROS *et al.*, 2017; CAVALCANTI *et al.*, 2020) e inseticida (SILVA *et al.*, 2008). Óleos essenciais obtidos de diferentes acessos de *C. grewioides*, presentes no BAG de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe, bem como seus compostos majoritários eugenol, metil eugenol e metil chavicol apresentaram atividade antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Medeiros *et al.* (2017) observaram atividade moduladora da resistência bacteriana a antibióticos para o óleo essencial de *C. grewioides* e seu composto majoritário α -pineno. Nos óleos essenciais foram identificados 18 compostos, dos quais 55,56% foram monoterpenos e 44,44% sesquiterpenos.

Na medicina popular, a espécie é usada para tratamento da gripe, dor de cabeça, distúrbios intestinais, estimulante de apetite, sedativo (SILVA *et al.*, 2015) e atividade antidiarreica (DA SILVA *et al.*, 2016), sendo o seu potencial terapêutico atribuído aos seus extratos e óleos essenciais.

2.2 Metabólitos secundários e caracterização química de óleos essenciais

O metabolismo é um conjunto de reações químicas que ocorrem continuamente no interior das células vegetais e é classificado em primário e secundário. O metabolismo primário é um conjunto de processos metabólicos que possui distribuição universal e desempenham funções fundamentais para o crescimento e desenvolvimento do vegetal (TAIZ *et al.*, 2017; SHIH e MORGAN, 2020).

O metabolismo secundário é formado a partir do metabolismo primário e consiste na biossíntese de compostos orgânicos com distribuição restrita. Esses metabólitos não tem participação direta no desenvolvimento do vegetal, entretanto, conferem vantagens à sobrevivência da planta, permitindo melhores adaptações às variações ambientais (SOARES *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2020). Os metabólitos secundários, a exemplo dos óleos essenciais, geralmente apresentam grande interesse econômico e ambiental, devido às atividades biológicas que desempenham (SHIH e MORGAN, 2020).

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, que geralmente apresentam odor agradável e coloração levemente amarelada. São produzidos e armazenados em canais oleíferos, bolsas secretoras, tricomas glandulares ou em células de parênquimas florais e foliares, conferindo o aroma característico destas estruturas (MORAES, 2009; MOURA *et al.*, 2019).

Além de favorecer a dispersão de pólenes e sementes, os óleos essenciais têm função de proteção contra radiação UV, predadores, perda de água e inibem o crescimento de plantas competidoras (PINHEIRO, 2003). São frequentemente extraídos das folhas, mas podem ser encontrados em inflorescências, sementes, cascas, frutos e raízes (PORTO *et al.*, 2008). A extração pode ser realizada por meio de arraste a vapor d'água, hidrodestilação, expressão de pericarpo de frutos cítricos, por solventes, enfloração ou extração por dióxido de carbono (CO₂) supercrítico (MORAES, 2009).

Quimicamente, os óleos essenciais são formados por uma mistura complexa de terpenos, terpenoides e fenilpropanoides. Os terpenos são hidrocarbonetos compostos por várias unidades de isopreno, e são classificados de acordo com o número de isoprenos na molécula. Os terpenos mais comuns são os monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Os terpenoides são terpenos com a presença de oxigênio na sua estrutura química e podem ser classificados em álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, éteres e fenóis. Já os fenilpropanoides, tais como eugenol e metil eugenol, são provenientes do aminoácido fenilalanina e formados por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos (TONGNUANCHAN e BENJAKUL, 2014; STEVANOVIĆ *et al.*, 2018).

A biossíntese e o rendimento dos óleos essenciais podem variar de acordo com o estágio de desenvolvimento da planta (MORAES, 2009), temperatura, precipitação, ventos, radiação, tipo de solo, horário e época de colheita, práticas culturais, bem como com o tempo de extração e dos padrões de variação geográfica (MELITO *et al.*, 2019). Esses fatores,

associados à variabilidade genética da planta, contribuem com a variação da composição qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais (SOUZA *et al.*, 2017).

Estudos visando à conservação e caracterização de germoplasma de espécies bioativas vem crescendo de maneira considerável, principalmente devido ao potencial socioeconômico destas (BLANK *et al.*, 2004; CAMÊLO *et al.*, 2011). Somado a isso, a expansão agrícola, o desmatamento e a fragmentação de habitats naturais têm intensificado as pressões sobre a cobertura vegetal, causando perdas dos recursos genéticos e, consequentemente, das fontes de variabilidade dessas espécies. Dessa forma, os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) tornam-se uma das principais estratégias para a conservação *ex situ* destes recursos genéticos (BRITO *et al.*, 2021).

Uma das atividades realizadas em um BAG é a caracterização do germoplasma que tem por objetivo quantificar a diversidade presente na coleção. A caracterização do germoplasma de plantas bioativas gera informações úteis para o manejo da coleção, o que permite delinear estratégias para inclusão de novos materiais, uso e programas de melhoramento genético (SOUZA 2015; BRITO *et al.*, 2021). Diferentes métodos são utilizados para a caracterização de recursos genéticos de plantas bioativas, entre eles estão as avaliações de características morfoagronômicas, químicas e moleculares (SOUZA, 2015; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

A caracterização molecular contribui para o conhecimento da diversidade e estrutura genética das espécies em nível de DNA, assim como para estimar o grau de parentesco entre os acessos (BRITO *et al.*, 2021). Com a caracterização morfoagronômica são analisados os aspectos morfológicos, anatômicos e agronômicos, os quais poderão ser utilizados para a identificação de acessos com características relevantes para uso imediato ou em programas de melhoramento (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

A caracterização química de plantas aromáticas possibilita a discriminação dos acessos quanto à presença e concentração de compostos bioativos. Essas informações contribuem para a manutenção da diversidade química, potencializando a exploração sustentável dos recursos genéticos vegetais. Adicionalmente, pode auxiliar nos estudos de propriedades funcionais dos óleos essenciais, uma vez que seus constituintes têm função direta nas atividades bioativas (SAMPAIO *et al.*, 2016). O estudo da diversidade do perfil químico também contribui para a investigação de fatores que influenciam a variabilidade química dos óleos essenciais, tais como, fatores ambientais e/ou genéticos (PEREIRA *et al.*, 2019; CÂNDIDO *et al.*, 2021).

A prospecção química, portanto, bem como de etnobotânica, são de grande importância para o conhecimento e entendimento das propriedades bioativas das espécies aromáticas. Estes dados corroboram com a ampliação do conhecimento científico, seleção de indivíduos superiores e a conservação do bioma onde estas espécies são encontradas (ALMEIDA-PEREIRA *et al.*, 2017; BRITO *et al.*, 2021).

2.3 Atividades bioativas dos óleos essenciais

Entre os 100.000 metabólitos secundários conhecidos de plantas, cerca de 3.000 estão presentes nos óleos essenciais. Destes, 300 são de interesse comercial nas áreas agrícolas, farmacêuticas, alimentícias e cosméticas (SILVA *et al.*, 2019b).

Os óleos essenciais de plantas têm despertado um grande interesse, principalmente por reunir compostos fitoquímicos que podem interferir ou alterar o funcionamento celular dos seres vivos, incluindo predadores e microrganismos (ARAUJO *et al.*, 2019; BLANK *et al.*, 2019; SIQUEIRA *et al.*, 2021).

As propriedades biológicas dos óleos essenciais estão diretamente relacionadas com sua natureza volátil, lipofílica e de baixo peso molecular, características que conferem alta capacidade de penetração na membrana citoplasmática, causando alterações em sua estrutura e funcionalidade. Além disso, os óleos essenciais possuem uma composição química complexa, com diferentes proporções e interações, o que pode influenciar no seu mecanismo de ação (CHOWDAPPA *et al.*, 2018; SWAMY *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2020).

Propriedades bioativas dos óleos essenciais e dos compostos majoritários de espécies de *Croton* têm sido relatadas. Óleos essenciais obtidos das folhas de *C. growioides* apresentaram atividade antioxidante confirmada por meio da eliminação de radicais livres (DPPH e ABTS) e poder redutor (FRAP). Os óleos essenciais estudados apresentaram como compostos majoritários eugenol (42,68%), metil eugenol (85,58%) e metil chavicol (59,85%), os quais podem conferir maior potencial antioxidante ao óleo essencial devido à presença de fenóis doadores de hidrogênio (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Óleos essenciais de folhas de *C. tetradenius* apresentaram efeito formicida via fumigação, demonstrando potencial para formulação de um bioproduto (BRITO *et al.*, 2020). O potencial inseticida dos óleos essenciais de folhas de *C. growioides* foi observado contra *Zabrotes subfasciatus* Boheman. Os óleos essenciais testados apresentaram predominância de fenilpropanoides, cujo componente majoritário foi o (E)-anetol (SILVA *et al.*, 2008).

Na área microbiológica, a eficiência dos óleos essenciais obtidos de espécies do gênero *Croton* tem sido comprovada (ROCHA *et al.*, 2021). Os óleos essenciais de *C. argyrophyllodes*, *C. nepetaefolius* e *C. zehntneri* (sinonímia: *C. growioides*) apresentaram atividade antifúngica contra a cepa *Microsporum canis*. Entre as espécies testadas, *C. argyrophyllodes* apresentou os melhores resultados, com MIC variando de 9 a 19 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (FONTENELLE *et al.*, 2008).

Por meio do método de microdiluição em caldo, verificou-se a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *C. tetradenius* Baill. e *C. puliogiadora* Baill. contra a cepa multirresistente *Staphylococcus aureus*. A concentração inibitória mínima (MIC) dos óleos essenciais variaram de 4000 a 8000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Também foi observado atraso da fase exponencial no ensaio de crescimento cinético bacteriano utilizando-se 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ destes óleos essenciais (ROCHA *et al.*, 2021).

Óleos essenciais de dois genótipos de *C. tetradenius* Baill. combinados com os antibióticos comerciais ciprofloxacina e meropenem apresentaram efeito sinérgico ou aditivo frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, demonstrando que os óleos essenciais potencializaram a ação antibiótica. Por meio dos perfis cromatográficos dos óleos essenciais, foram identificados 25 compostos com predominância de cânfora (13,95%) e p-cimeno (17,55%). Nesse estudo, constatou-se que os compostos presentes nos óleos essenciais, a exemplo dos monoterpenos e sesquiterpenos, atuam desbloqueando os canais presentes na membrana bacteriana, facilitando a passagem dos antibióticos na célula (SIQUEIRA *et al.*, 2021).

O óleo essencial de caule e folhas de *C. doctoris* inibiu o desenvolvimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, apresentando MIC de 10 mg.mL^{-1} . Os óleos essenciais apresentaram 22 compostos, sendo óxido de cariofileno (24,5%) e E-cariofileno (13,3%), os majoritários (CÂNDIDO *et al.*, 2021).

A produção agrícola é afetada por doenças causadas por insetos e fitopatógenos que podem reduzir o rendimento. Este fato vem impulsionando a busca por agroquímicos de baixo poder residual e com formulações à base de matérias-primas naturais (ARAUJO *et al.*, 2019). Dessa forma, tornam-se pertinentes estudos referentes à toxicidade dos óleos essenciais, uma vez que o controle de fitopatógenos a partir dos óleos voláteis pode ser uma alternativa eficaz para a eliminação de organismos causadores de doenças em diferentes espécies vegetais. Adicionalmente, nos sistemas de produção orgânicos, há a necessidade de métodos alternativos com eficácia comprovada para o controle de doenças (BONAPAZ *et al.*, 2019).

2.4 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Xanthomonas campestris pv. *campestris* (Xcc) é uma fitobactéria Gram-negativa, pertencente à ordem Xanthomonadales, família Xanthomonadaceae e ao gênero *Xanthomonas* (GARRITY e HOLT, 2000). A Xcc é o agente casual da podridão negra, uma doença que compromete, principalmente, a parte aérea de plantas do gênero *Brassica* (TILMISINA *et al.*,

2020). No Brasil, essa fitobactéria tem ampla distribuição territorial sendo classificada como Praga Quarentenária Presente (PQP) de acordo com a Instrução Normativa 45, de 29 de agosto de 2018 (BRASIL, 2018).

A Xcc é uma bactéria baciliforme que mede 0,4-0,6 x 0,8-2,0 μm , possui um flagelo polar e é aeróbica estrita. A colônia das Xcc em meio de cultura possui aspecto viscoso, brilhante e coloração amarelada. A coloração amarelada se dá devido à produção de um pigmento denominado xantomonadina. O pigmento é um exopolissacarídeo ácido chamado de goma xantana, que é essencial para a sua patogenicidade e virulência (WHITMAN *et al.*, 2015).

A penetração da fitobactéria ocorre através de ferimentos mecânicos e/ou aberturas naturais, principalmente estômatos e nectários. A bactéria multiplica-se nos espaços intracelulares e atinge o sistema vascular espalhando-se por toda a planta (ARAUJO *et al.*, 2019). A Xcc pode sobreviver em sementes, solos, restos culturais (GAZDIK *et al.*, 2021), como também interagir com insetos e plantas hospedeiras para favorecer sua sobrevivência e infecção (MARCUIZZO, 2009).

Os sintomas da podridão negra são caracterizados por lesões amareladas de aspecto seco em forma de “V”, iniciando-se nas margens das folhas e expandindo para o centro através do sistema vascular. A progressão da doença ocasiona a murcha e necrose da área infectada (SANTOS *et al.*, 2008). Em casos mais severos ocorre queda parcial ou total das folhas, resultando na morte da planta (ARAUJO e TEBALDI, 2019).

Para o controle da Xcc recomenda-se o uso de material propagativo sadio e de cultivares resistentes, eliminação de órgãos e plantas infectadas, manejo na época de chuva e produção, rotação de cultura, eliminação de plantas invasoras e higienização de ferramentas para eliminar possíveis hospedeiros do patógeno (LOPES e ALBUQUERQUE, 2018).

O uso de antibióticos (Kasumin®, oxitetraciclina e sulfato de estreptomicina) e compostos cúpricos são os principais métodos de controle químico para podridão negra. Entretanto, o uso excessivo de agentes químicos sintéticos pode contribuir para o desenvolvimento de bactérias resistentes. Além disso, os resíduos químicos podem acumular no solo e tecidos vegetais, acarretando uma série de impactos ambientais e risco à saúde humana (SILVA *et al.*, 2020; HURTADO *et al.*, 2021). Dessa forma, o uso de óleos essenciais de plantas aromáticas tem sido estudado como uma alternativa para o controle de fitopatógenos devido as suas propriedades bioativas e menor toxicidade (CHOWDAPPA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2019b; SILVA *et al.*, 2020).

Os mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre as fitobactérias podem estar associados aos compostos majoritários, bem como às interações sinérgicas entre os diferentes componentes (SEOW *et al.*, 2014). A atividade antimicrobiana não é atribuível apenas a um mecanismo de ação, mas a uma cascata de reações envolvendo toda a célula bacteriana (NAZARRO *et al.*, 2013). Em geral, os óleos essenciais podem atuar na desnaturação de proteínas, coagulação do citoplasma, alteração na transferência de íons e distúrbios na parede celular, promovendo vazamento do conteúdo intracelular (NAZARRO *et al.*, 2013; CHOWDAPPA *et al.*, 2018). Adicionalmente, os óleos essenciais podem ativar mecanismos de defesa da planta, favorecendo a lignificação da parede celular e produção de enzimas (LUCAS *et al.*, 2012).

A ação dos monoterpenos e sesquiterpenos, compostos presentes na maioria dos óleos essenciais, afeta diretamente a integridade da membrana celular microbiana alterando a manutenção do pH e equilíbrio de íons inorgânicos (CÂNDIDO *et al.*, 2021). Além disso, esses compostos podem alterar o transporte de íons nas células reduzindo o movimento flagelar bacteriano (NAZARRO *et al.*, 2013).

Estudos *in vitro* têm demonstrado a atividade antimicrobiana de óleos essenciais para o controle da podridão negra. Os óleos essenciais de cinco genótipos de *Cordia curassavica* e suas combinações apresentaram atividade bactericida para Xcc com concentração inibitória

mínima (MIC) entre 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. E, entre as diferentes combinações dos óleos essenciais, 70% apresentaram efeito aditivo (SILVA *et al.*, 2020).

Óleos essenciais de *Lippia gracilis* inibiram o crescimento *in vitro* de Xcc com valores de MIC entre 0,7 a 1,0 mg.mL^{-1} . Os compostos majoritários timol e carvacrol também inibiram 100% do crescimento bacteriano após 24 horas com MIC de 0,25 mg.mL^{-1} . Esse estudo demonstrou, por meio da microscopia de fluorescência e citometria de fluxo, que os óleos essenciais de *L. gracilis* promovem alterações estruturais na membrana citoplasmática bacteriana (SILVA *et al.*, 2019b).

Em pesquisas para a prospecção de novos compostos bioativos antimicrobianos é relevante considerar as concentrações mínimas a serem testadas, além da possibilidade de se obter a informação do tempo necessário que um óleo essencial, em diferentes concentrações, requer para causar a morte bacteriana. Adicionalmente, são limitados os estudos sobre o mecanismo de ação dos óleos essenciais, visto que o grande número de compostos presentes pode influenciar em diferentes processos, o que dificulta a determinação de um único mecanismo (SILVA *et al.*, 2019b; SILVA *et al.*, 2020).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ROCHA, R. R.; MATOS, M. N. C.; GUERREIRO, J. A. P.; CAVALCANTE, R. M. B.; MELO, R. S.; AZEVEDO, A. M. A.; PEREIRA, A. M. G.; LOPES, P. H. R.; RODRIGUES, T. H. S.; BANDEIRA, P. N.; GOMES, G. A.; CATUNDA JUNIOR, F. E. A.; CARNEIRO-TORRES, D. S.; SILVA, J. R. V.; CARNEIRO, V. A. Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetradenius* Baill. And *C. pulegioides* Baill. Against *Staphylococcus aureus* isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 156, n. 1, 2021.

ALMEIDA- PEREIRA, C. S.; NOGEIRA, P. C. de L.; BARBOSA, A. A. T.; NIZIO, A. A. de C.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; SAMPAIO, T. S. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from a *Croton tetradenius* Baill. Germplasm. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, ed.5, p. 379-389, 2019.

ALMEIDA, L. V. S.; OLIVEIRA, V. J. DOS S. de; JACOBI, B. de; ALMEIDA, W. A. B. de; CARVALHO, M. de J. DA S. de. *Vernonia condensata* Baker: an alternative for large-scale seedling production. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 3, p. 1-11, 2020.

ALMEIDA-PEREIRA, C. S.; SILVA, A. V. C.; ALVES, R. P.; FEITOSA- ALCANTARA, R. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ALVARES-CARVALHO, S. V.; COSTA, T. S.; WHITE, L. A. S.; PINTO. V. S.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F. Genetic diversity of native populations of *Croton tetradenius* Baill. using ISSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, p. 1-12, 2017.

ARAÚJO, M. R.; LEÃO, G. M. A.; SILVA, R. da C. A. da; OLIVEIRA, A. I. T.; SILVA, J. F. O. da. Mancha-bacteriana da mangueira (*xanthomonas campestris* pv. *Mangiferaeindicae*): etiologia e estratégias de controle. **Revista Desafios**, v. 6, n. 1, p. 32-35, 2019.

ARAÚJO, V. C.; TEBALDI, N. D. Intervalo de aplicação de óleos essenciais no controle da mancha bacteriana do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 2, p. 210-212, 2019.

BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; COSTA, J. L. M.; NIZIO, D. A. de C. Chemical Diversity and Insecticidal and Anti-tick Properties of Essential Oils of Plants from Northeast Brazil. In: **Malik S. (eds) Essential Oil Research**. Springer, Cham. v.1, p. 235-258, 2019.

BLANK, A. F.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS NETO, A. L.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 113-116, 2004.

BONAPAZ, L. da S.; AFONSO, M. A.; DUTRA, M. S.; FRANCESCATO, L. N.; DIEL, V. B.N. Potencial fungitóxico de óleos voláteis e extratos vegetais no controle alternativo *in vitro* de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 13, n. 3, p. 07-16, 2019.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agronegócio brasileiro:** Instrução Normativa nº 45, de 29 de agosto de 2018. ed.190, Brasília, DF: Mapa, p. 14, 2018. BRITO, F. DE A.; BACCI, L.; SANTANA, A. DA F.; SILVA, J. E. DA; NIZIO, D. A. de C.; NOGUEIRA, P. C. de L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; MELO, C. R.; MELO, J. O. de; BLANK, A. F. Toxicity and behavioral alterations caused by essential oils of *Croton*

tetradenius and their major compounds on *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 137, n. 1, p. 1-30, 2020.

BRITO, F. de A.; ZUCCHI, M. I.; PINHEIRO, J. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; DEQUIGIOVANNI, G. ; GRANDO, C. ; BATISTA, C. E. ; ALVES-PEREIRA, A.; BLANK, A. F. Low diversity in the native populations of *Croton tetradenius* Baill. when using SNP markers: a future crop with an insecticidal activity. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 68, n. 1, p. 1-18, 2021.

CAMÊLO, L. C. A.; BLANK, A. F.; EHLERT, P. A. D.; CARVALHO, C. R. D.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; MATTOS, J. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de erva cidreira-brasileira *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. **Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011.

CÂNDIDO, A. C. S.; SCALONA, S. P. Q.; SILVAB, C. B; SIMIONATTO C. E.; MORELD, A. F.; STÜKERD, C. Z.; MATOSE, M. F. C.; PERESB, M. T. L. P. Chemical composition and phytotoxicity of essential oils of *Croton doctoris* S. Moore (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, n. 1, p. 1-11, 2021.

CARNEIRO-TORRES D. S.; SILVA, O. L. M.; CORDEIRO I. Flora da Bahia: *Euphorbia* (Euphorbiaceae). **Sitientibus**, v. 17, n. 1, p. 17-28, 2017.

CARNEIRO-TORRES, D. S.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M.; BERRY, P. E.; RINNA, R. Three new species of *Croton* (Euphorbiaceae) from the Brazilian Caatinga. **Brittonia**, v. 63, n. 1, p. 122-132, 2011.

CARVALHO, K. S.; CUNHA, S. L.; SOUZA, I. A.; GUALBERTO, S.A.; CRUZ, R. C. D.; SANTOS, dos F. R.; CARVALHO, de M. G. Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **Parasitology Research**, v. 115, n. 9, p. 341-3448, 2016.

CAVALCANTI, D. F. G.; SILVEIRA, D. M. A.; SILVA, G. C. Aspectos e potencialidades biológicas do gênero *Croton* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45931-45946, 2020.

CHOWDAPPA, A.; KOUSALYA, S.; KAMALAKANNAN, A.; GOPALAKRISHNAN, C.; VENKATESAN, K. Efficacy of Plant Oils against *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*. **Advances in Research**, v. 17, n. 1, p. 1-5, 2018.

DA SILVA, A. D. S.; SILVA, K. de M.; CLEMENTINO NETO, J. C.; COSTA, V. C. de O. C.; PESSÔA, H.de L.; TAVARES, J. F.; DA SILVA, M. S.; CAVALCANTE, F. da A. *Croton grewioides* Baill. (Euphorbiaceae) Shows Antidiarrheal Activity in Mice. **Pharmacognosy Research**, v. 8, n. 3, p. 202- 205, 2016.

FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; NASCIMENTO, N. R. F.; KERNTOPF, M. R.; SIDRIM, J. J. C; ROCHA, M. F. G. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. **Applied Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 1383-1390, 2008.

GARRITY, G. M.; HOLT, J. G. Na overview of the rold map to manual. **Systematic Bacteriology**, New York: Springer, 2ed., p. 20, 2000.

GAZDIK, F.; MAGNUS S.; ROBERTS, S. J.; BARANSKI R. A. J.; POKLUDA, R.; EICHMEIER, A.; GRZEBELUS, D.; BARANEK, M. Persistence of *Xanthomonas*

campestris pv. *campestris* in Field Soil in Central Europe. **Microorganisms. Journals Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 1-15, 2021.

HURTADO, P.; ROMERO, D.; LÓPEZ CARRASCAL, C. E. Arabidopsis muestra resistencia no-hospedero constitutiva contra *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*. **Acta Biológica Colombiana**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 345-351, 2021.

ISLAM, B.; ARA, H.; AHMAD, K. I.; UDDIN, M. A review on medicinal uses of different plants of euphorbiaceae Family. **Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 1, p. 47-51, 2019.

LIMA, L. R. de; PIRANI, J. R. O gênero *croton* (euphorbiaceae) na cadeia do espinhaço, minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 21, n. 2, p. 299-344, 2003.

LIMA, M. R. F.; XIMENES, C. P. A.; LUNA, J. S.; SANTANA, A. F. G. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 303- 306, 2006.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

LUCAS, G. C.; ALVES, E.; PEREIRA, R. B.; Perina, F. J.; SOUZA, R. M. Antibacterial activity of essential oils on *Xanthomonas vesicatoria* and control of bacterial spot in tomato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 3, p. 351-359, 2012.

LUCENA, M. F. A.; ALVES, M. Notas taxonômicas para Euphorbiaceae do Nordeste do Brasil. **Hoehnea**, v. 37, p. 71-85, 2010.

MARCUZZO, L. L. Aspectos epidemiológicos de sobrevivência e de ambiente no gênero *Xanthomonas*. **Mafra**, v. 16, n. 1, p. 13-19, 2009.

MEDEIROS, V. M. de; do NASCIMENTO, Y. M.; SOUTO, A. L.; MADEIRO, S. A. L.; COSTA, V. C. de O.; SILVA, S. M. P. M.; FALCÃO, S. V. dos S.; AGRA, M. de F.; de SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; TAVARES, J. F. Chemical composition and modulation of bacterial drug resistance of the essential oil from leaves of *Croton grewiioides*. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, n. 1, p. 468-471, 2017.

MEIRELES, D. R. P.; FERNANDES, H. M. B.; ROLIM, T. L.; BATISTA, T. M.; MANGUEIRA, V. M.; SOUSA, T. K. G.; PITA, J. C. L. R.; XAVIER, A. L.; BELTRÃO, D. M.; TAVARES, J. F.; SILVA, M.S.; MEDEIROS, K. K. P.; SOBRAL, M.V. Toxicity and antitumor efficacy of *Croton polyandrus* oil against ehrlich ascites carcinoma cells. **Brazilian Journal of Pharmacognos**, v. 26, n. 6, p. 751-758, 2016.

MELITO, S.; PETRETTO, G. L.; CHAHINE, S.; PINTORE, G.; CHESSA, M. Seasonal Variation of essential oil in *Rosmarinus officinalis* Leaves in Sardinia. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 7, p. 1-7, 2019.

MORAES, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050- 4063, 2009.

MOURA, de D. F.; MARTINS, R. D; SILVA. M. da V. Nerolidol: Fitoconstituente de óleos essenciais de plantas da Caatinga. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p.33402-33416, 2019.

NASCIMENTO, L. F. A.; BLANK, A. F; SÁ FILHO, J. C. F. de; PEREIRA, L. G.; NIZIO, D. A. de C.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; OLIVEIRA, A. M. S. de; SOUZA, V. T. de. Morphoagronomic characterization of *Lantana camara* l. Germplasm. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 4, p. 1211-1222, 2020.

NAZARRO, F.; FRATIANNI, F.; MARTINO, de L.; COPPOLA, R.; FEO, de V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. **Pharmaceuticals** (Basel), v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 2013.

NEERAJ, B.; LAL, S. A survey of some medicinally important plants of the Euphorbiaceae family used by the Santhal tribes of Santhal Pargana. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v. 18, n. 1, p. 610-614, 2019.

NIZIO, D. A. C.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, T. S.; MELO, J. O.; SILVA, F. L. S.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; ANJOS, C. S.; ALVES, P. B.; WISNIEWSKI JUNIOR, A.; BLANK, A. F. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 437-448, 2015.

OLIVEIRA, D. G. A família Euphorbiaceae Juss. em um fragmento de Caatinga em Sergipe. **Scientia Plena**, v. 9, n. 4, p. 1-7, 2013.

OLIVEIRA, S. D. da S.; SILVA, A. M. de O.; BLANK, A.F.; NOGUEIRA, P. C.; NIZIO, D. A. C.; ALMEIDA-PEREIRA, C.S.; PEREIRA, R.; MENEZES-SÁ, T. S. A.; SANTANA, M. H.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Radical scavenging activity of essential oils from *Croton growioides* Baill accessions and the main compounds eugenol, methyl eugenol and methyl chavicol. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, p. 94-103, 2020.

PEREIRA, K. L. G.; NOGUEIRA, P. C. DE L.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; NIZIO, D. A. de C.; SILVA, D. C.; PINTO, J. A. O.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F. Chemical diversity of essential oils of *Lantana camara* L. native populations. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 1, p. 1-16, 2019.

PINHEIRO, A. L. **Produção de Óleos Essenciais**. Viçosa: CPT, 140 p. 2003.

PORTO, R. R. A.; ROEL, A. R.; SILVA, M. M.; COELHO, R. M.; SCHELEDER, E. J. D.; JELLER, A. H. Atividade larvídica do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 586-589, 2008.

RANDAU, K. P.; FLORÊNCIO, D. C.; FERREIRA, C. P.; XAVIER, H. S. Estudo farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 4, n. 1, p. 89-96. 2004.

SAMPAIO, T. S.; NIZIO, D. A. DE C.; WHITE, L. ALVES S.; MELO, J. DE O.; ALMEIDA, C. S.; ALVES, M.F.; GAGLIARDI, P. R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; WISNIEWSKI JUNIOR, A.; SOBRAL, M. E. G.; BLANK, A. F. Chemical diversity of a wild population of *Myrcia ovata* Cambessedes and antifungal activity against *Fusarium solani*. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 196-209, 2016.

SANTOS, L. A. A. D.; BANDEIRA, D. D. A.; SILVA, J. P. D.; SILVEIRA, E. B. D.; GOMES, A. A. M. A.; MARIANO, R. D. L. R. Caracterização de isolados de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* de sistemas de produção orgânico e reação de brássicas à podridão-negra. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 486-491, 2008.

SEOW, Y. X.; YEO, C. R.; CHUNG, H. L.; YUK, H. G. Plant essential oils as active antimicrobial agentes Crit. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 1, p. 625-644, 2014.

SHIH, M. L.; MORGAN, J. A. Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants. **Metabolic Engineering Communications**, v. 10, n. 1, 2020.

SiBBR, **Sistema da Informação sobre a Biodiversidade Brasileira: *Croton grewii* Baill.**, 2021. Disponível em: <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/289263#names>. Acesso em: 17 fev. 2021.

SILVA, C. G.; MARINHO, M. G. V.; LUCENA, M. F. A.; COSTA, J. G. M. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.

SILVA, C. G.; ZAGO, H. B.; JÚNIOR, H. J. G. S.; CAMARA, C. A.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M. O. E.; LUCENA, M. F. F. Composition and insecticidal activity of the essential oil of *Croton grewii* Baill. against Mexican bean weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 2, p. 179–182, 2008.

SILVA, J. S.; SALES M. F.; GOMES A. P. S.; CARNEIRO-TORRES D. S. Sinopse das espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 441-453, 2010.

SILVA, J.S.; SALES, F.; CARNEIRO-TORRES, D.S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na Microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 4, n. 1, p. 879-901, 2009.

SILVA, P. T.; SILVA, H. C.; VALE, J. P. C.; FROTA, V. M.; RODRIGUES, T. H. S.; SOUZA, E. B.; BANDEIRA, P. N.; TEIXEIRA, A. M. R.; SANTIAGO, G. M. P.; SANTOS, H. S. Circadian Rhythm and Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of Essential Oils from *Croton piauhiensis*. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 6, p. 1682-1692, 2019a.

SILVA, R. S. DA; OLIVEIRA, M. M. G. DE; MELO, J. O. DE; BLANK, A. F.; CORRÊA, C. B.; SCHER, R.; FERNANDES, R. P. M. Antimicrobial activity of *Lippia gracilis* essential oils on the plant pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and their effect on membrane integrity, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 160, p. 40-48, 2019b.

SILVA, R. S.; de OLIVEIRA, M. M. G.; SILVA, K. P.; RODRIGUES, I. da S. V.; PINTO, V. dos S.; BLANK, A. F.; FERNANDES, R. P. M. Efeito sinérgico de *Cordia curassavica* Jacq. Associação de óleos essenciais contra o fitopatógenos *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. **Environ Sci Pollut**, v. 27, p. 4376-4389, 2020.

SILVA, V. A.; OLIVEIRA, C. R. M.; PESSÔA, H. L. F.; PEREIRA, M. S. V. Antimicrobial efficacy of the extract of *Croton sonderianus* Mull. On bacteria that cause dental caries. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 40, n. 2, p. 69- 72, 2011.

SIQUEIRA, F. F. da S.; OLIVEIRA, J. V. de; FERRAZ, C. Q.; OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. C. Atividade acaricida de extratos aquosos de plantas de caatinga sobre o ácaro verde da mandioca. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 109 - 116, 2014.

SIQUEIRA, I. B.; BARBOSA, A. A. T.; JAIN, S.; FERNANDES, R. P. M.; SILVA, A. R. S. T.; BARBOSA, F. H. F.; SCHIMIEGUEL, D. M.; BLANK, A. F.; SACRAMENTO, ANDREY G.; NIZIO, D. A. de C.; DOLABELLA, S. S. *In vitro* Antibacterial Activity of Essential Oils of *Croton tetradenius* Baill. From the Brazilian Caatinga Biome and Its Synergistic Effect with Ciprofloxacin and Meropenem. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 1, p. 12-21, 2021.

SOARES, N. P.; SANTOS, P. L.; VIEIRA, V. de S.; PIMENTA, V. de S. C.; ARAÚJO, E. V. de. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13 n. 24, p. 991- 1011, 2016.

SOUZA, A.V.V. de; DOUGLA, de B.; UILIANE, S. dos S.; BISPO, L. dos P.; TURATTI, I. C.; LOPES, N.P.; OLIVEIRA, A.P. de; ALMEIDA, J. R. C. da S. Influência da estação, temperatura de secagem e tempo de extração no rendimento e composição química do óleo essencial de marmeleiro (*Croton sonderianus*). **Journal of Essential Oil Research**, v. 29, n. 1, p. 76-84, 2017.

SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 3, p. 4495-503, 2015.

SOUZA, M. A. A.; SOUZA, S. R.; VEIGA JUNIOR, V. F.; CORDEZ, J. K. P. C.; LEAL, R. de S.; DANTAS, T. N. C.; MARCIEL, M. A. M. Composição química do óleo fixo de *Croton cajucara* e determinação das suas propriedades fungicidas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 599-610, 2006.

SOUZA, R. H. C.; SILVEIRA, J. W. S.; CORTES, W. S.; MONTEATH, S.; ECHEVARRIA, A.; MACIEL, M. A. M.; COSTA, E. A.; GALDINO, P. M.; ROCHA, F. F.; VANDERLINDE, F. A. Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato hidroalcólico das folhas e galhos de *Croton sacaquinha* croizat (euphorbiaceae). **Revista de Ciência Vida, Seropédica**, v. 30, n. 1, p. 65-75, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**, baseado em APG II. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, p. 703, 2008.

STEVANOVIĆ, Z. D.; BOŠNJAK-NEUMÜLLER, J.; PAJIĆ-LIJAKOVIĆ, I.; RAJ, J.; VASILJEVIĆ, M. Essential oils as feed additives future perspectives. **Molecules**, v. 23, n. 7, p.1-20, 2018.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIHA, U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-23, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p.888.

TILMISINA, S.; POTNIS, N.; NEWBERRY, E. A.; LIYANNAPATHIRANAGE, P.; IRUEGAS-BOCARD, F.; WHITE, F. F.; GOSS, E. M.; JONES, J. B. *Xanthomonas* diversity, virulence and plant pathogen interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, p. 415-427, 2020.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation, **Journal of Food Science**, v. 79, n. 7, p. 1231-1249, 2014.

TRINDADE, M. J. de S.; OSMAR, A. L. Especies de interés de familia Euphorbiaceae en Brasil. **Revista cubana de plantas medicinales**, v. 19, n. 4, p. 292-309, 2014.

WEBSTER, G. L. A provisional synopsis of the sections of the genus *croton* (Euphorbiaceae). **Wiley**, v. 42, n. 4, p. 793-823, 1993.

WHITMAN, W. B.; RAINEY, F.; KÄMPFER, P.; TRUJILLO, M.; CHUN, J.; DEVOS, P.; HEDLUND, B.; DEDYSH, S. *Xanthomonas*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, v. 1, p. 1-53, 2015.

4. ARTIGO 1

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton grewioides* BAILL. SOBRE O FITOPATÓGENO *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Periódico submetido (ou a ser submetido): Pesticide Biochemistry and Physiology

RESUMO

Croton grewioides Baill. é uma espécie aromática que possui propriedades bioativas comprovadas. Considerando o potencial da espécie, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* dos óleos essenciais de *C. grewioides* sobre *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Os óleos essenciais dos acessos de *C. grewioides* foram extraídos pelo método da hidrodestilação e analisados por Cromatografia Gasosa Acoplada e Espectrometria de Massas. Para a determinação das concentrações inibitória mínima (MIC) e bactericida mínima (MBC) dos óleos essenciais e do composto eugenol, foi utilizado o método de microdiluição. As concentrações dos óleos essenciais e do eugenol variaram de 125 a 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Como controle positivo utilizou-se sulfato de estreptomicina (12,5 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). A cinética de crescimento e o ensaio da permeabilidade da membrana foram avaliados para diferentes concentrações do óleo essencial ($2 \times$, $1 \times$, $1/2 \times$, $1/4 \times$ e $1/8 \times$ MIC). Os compostos majoritários identificados nos óleos essenciais foram eugenol, metil eugenol e metil chavicol. O óleo essencial CGR 108 apresentou menor MIC (1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e MBC igual a 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para o eugenol a MIC e a MBC foram obtidas com 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Foi observada perda da viabilidade celular das bactérias após 30 min de exposição ao óleo essencial CGR 108 nas concentrações $2 \times$ e $1 \times$ MIC, o que foi comprovado pela intensidade de fluorescência com PI. Os óleos essenciais de *Croton grewioides* Baill. e o composto eugenol apresentam potencial antibacteriano contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Palavras-chave: Alecrim-de-cabocla, podridão negra, fitoquímicos, mecanismo de ação.

ABSTRACT**CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM *Croton grewioides* BAILL. ON THE PHYTOPATHOGEN *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.**

Croton grewioides Baill. is an aromatic species that has proven bioactive properties. Considering the potential of the species, this work was carried out to evaluate the *in vitro* antibacterial activity of essential oils from *C. grewioides* on *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. The essential oils from accessions of *C. grewioides* were extracted by the hydrodistillation method and analyzed by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. To determine the Minimum Inhibitory (MIC) and Minimum Bactericidal (MBC) Concentrations of essential oils and the compound eugenol, the microdilution method was used. The concentrations of essential oils and eugenol ranged from 125 to 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. As a positive control, streptomycin sulfate (12,5 to 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) was used. Growth kinetics and membrane permeability assay were evaluated for different essential oil concentrations ($2 \times$, $1 \times$, $1/2 \times$, $1/4 \times$ and $1/8 \times$ MIC). The major compounds identified in essential oils were eugenol, methyl eugenol, and methyl chavicol. The essential oil CGR 108 had the lowest MIC (1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) and MBC equal to 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. For eugenol, MIC and MBC were obtained with 500 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively. Loss of bacterial cell viability was observed after 30 min of exposure to CGR 108 essential oil at $2 \times$ and $1 \times$ MIC concentrations, which was confirmed by the intensity of fluorescence with PI. The essential oils of *Croton grewioides* Baill. and the compound eugenol have antibacterial potential against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Key-words: Alecrim-de-cabocla, black rot, phytochemicals, mechanism of action.

4.1. Introdução

Xanthomonas campestris pv. *campestris* (Xcc) são fitobactérias, Gram-negativas, aeróbicas estritas que possuem formato baciliforme ($0,4\text{-}0,6 \times 0,8\text{-}2,0 \mu\text{m}$) e um único flagelo polar (GARRITY e HOLT, 2000). Em meio de cultura seu crescimento é liso, viscoso e possui coloração amarelada devido à produção de um exopolissacarídeo denominado de goma xantana (WHITMAN *et al.*, 2015). Essa fitobactéria é o agente casual da podridão negra, uma doença que compromete, principalmente, a parte aérea de plantas da família Brassicaceae (TILMISINA *et al.*, 2020). Esse fitopatógeno tem ampla distribuição territorial e causa redução da qualidade dos produtos, sendo responsável por mais de 50% de perdas da produtividade das crucíferas (VIEIRA *et al.*, 2015).

Os sintomas característicos da podridão negra são lesões amareladas de aspecto seco em formato de “V”, iniciando pelas margens das folhas e progredindo para o centro. Com a evolução da doença o patógeno atinge o sistema vascular causando escurecimento das nervuras e necrose do tecido foliar. Em casos mais severos ocorre queda parcial ou total das folhas e, conseqüentemente, a morte da planta (ARAÚJO e TEBALDI, 2019).

As principais medidas de controle preventivo da podridão negra são rotação de cultura, uso de cultivares resistentes, eliminação de restos culturais e de plantas invasoras, e o controle químico (LOPES e ALBUQUERQUE, 2018). Para o controle químico é realizado tratamento prévio de sementes e pulverização das folhas com compostos cúpricos e antibióticos (HURTADO *et al.*, 2021). Entretanto, as práticas culturais são pouco eficientes no tratamento da doença e o uso excessivo de agentes químicos sintéticos contribui para o desenvolvimento de bactérias resistentes. Adicionalmente, os resíduos químicos podem se

acumular nos solos, corpos d'água e tecidos vegetais, acarretando uma série de impactos negativos à saúde humana e ao meio ambiente (SILVA *et al.*, 2020; HURTADO *et al.*, 2021).

Em decorrência destes fatores, a busca por produtos com baixo poder residual e de formulações à base de matérias-primas naturais tem sido impulsionada (ARAÚJO *et al.*, 2019). Os óleos essenciais, provenientes do metabolismo secundário vegetal, apresentam compostos químicos que podem exercer funções importantes na interação planta-patógeno, seja ativando os mecanismos de defesa da planta (LUCAS *et al.*, 2012) ou atuando na estrutura e funcionalidade da célula bacteriana (SILVA *et al.*, 2019).

A atividade antimicrobiana contra um grande número de fitopatógenos, incluindo espécies resistentes a antibióticos e antifúngicos, tem sido relatada para os óleos essenciais de diferentes espécies de *Croton* (CÂNDIDO *et al.*, 2021; SIQUEIRA *et al.*, 2021; ROCHA *et al.*, 2021). *Croton* é o segundo maior gênero da família Euphorbiaceae, com aproximadamente 1200 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais. O Brasil é um dos principais centros de diversidade do gênero com aproximadamente 350 espécies, das quais 252 são endêmicas (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2017; NEERAJ e LAL, 2019).

Croton grewoides Baill. é uma planta aromática endêmica do Brasil que ocorre nos biomas Caatinga e Cerrado, onde é popularmente conhecida como alecrim-de-cabloco ou canelinha (SiBBr, 2021). É uma planta de hábito arbustivo ou subarbustivo ereto, com caule pouco ramificado e pode medir até 3 metros de altura (CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2011).

A espécie é produtora de óleos essenciais que possuem propriedades bioativas comprovadas, tais como atividade antibacteriana (CAVALCANTI *et al.*, 2020), antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2020) e inseticida natural (SILVA *et al.*, 2018). Além disso, é utilizada na medicina popular no tratamento de gripe, distúrbios intestinais, estimulante de apetite, sedativo (SILVA *et al.*, 2015), problemas respiratórios (SERRA *et al.*, 2019) e atividade antidiarreica (DA SILVA *et al.*, 2016).

As análises fitoquímicas realizadas com os óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. permitiram identificar compostos pertencentes às mais diversas classes estruturais, tais como monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, tornando-os fontes promissoras de princípios ativos a serem investigados (SILVA *et al.*, 2008; MEDEIROS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Não existem estudos disponíveis sobre o efeito da atividade dos óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. e seu mecanismo de ação contra a fitobactéria *Xanthomonas Campestris* pv. *campestris*. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a composição química e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de acessos de *Croton grewoides* Baill. contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Material vegetal e extração de óleo essencial

A coleção de *Croton grewoides* Baill. está implantada no Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas da Universidade Federal de Sergipe na Fazenda Experimental "Campus Rural" da UFS, São Cristóvão, Sergipe, Brasil (11°00'S, 37°12'W). Os 29 acessos presentes na coleção são provenientes dos estados de Sergipe e da Bahia (Tabela 1) e estão organizados em delineamento em blocos casualizados, com três repetições. Cada parcela é constituída por duas plantas.

As coletas de folhas de *C. grewoides* para a extração dos óleos essenciais foram realizadas entre os meses de maio e julho de 2020, sob temperatura média de $26 \pm 6^\circ\text{C}$ (CPTEC, 2020). As folhas coletadas foram armazenadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar forçada a $40 \pm 1^\circ\text{C}$ por cinco dias. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em Aparelho Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo por 120 minutos (EHLERT *et al.*, 2006). Para isso, foram utilizadas amostras de 40 g de folhas secas e 1,5 L de água destilada. Após a extração, os óleos essenciais foram armazenados em frascos

âmbar a -20°C até a análise da composição química e atividade antibacteriana. O teor de óleo essencial foi calculado por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Teor (\%)} = [(Vol/MS)] \times 100$$

Vol= Volume de óleo essencial extraído da amostra;

MS= Massa seca da amostra.

Tabela 1. Código, origem e informações geográficas dos 29 acessos da coleção de *Croton grewoides* Baill. do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 2022.

Código	Município de origem	Estado	Dados geográficos (latitude; longitude)
CGR-103	Poço Verde	Sergipe	S 10°55'17.8" W 37°06'04.1"
CGR-104	Poço Verde	Sergipe	S 10°55'17.8" W 37°06'04.1"
CGR-106	Poço Redondo-Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'06.5" W 37°51'48.4"
CGR-107	Poço Redondo-Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'06.5" W 37°51'48.4"
CGR-108	Poço Redondo-Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'06.5" W 37°51'48.4"
CGR-113	Poço Redondo-Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'06.9" W 37°51'49.1"
CGR-124	Poço Redondo-Serra da Guia	Sergipe	S 09°57'55.6" W 37°51'49.8"
CGR-125	Poço Redondo-Serra da Guia	Sergipe	S 09°57'55.6" W 37°51'49.8"
CGR-204	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'06,7" W 37°51'48,6"
CGR-209	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'13,1" W 37°51'51,0"
CGR-210	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'08,8" W 37°51'50,5"
CGR-212	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'09,1" W 37°51'51,5"
CGR-215	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°58'06,9" W 37°51'49,0"
CGR-220	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°57'55,9" W 37°51'49,7"
CGR-221	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°57'56,3" W 37°51'48,8"
CGR-222	Poço Redondo- Serra da Guia	Sergipe	S 09°57'56,5" W 37°51'48,4"
CGR-302	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'78,6" W 39°18'99,6"
CGR-304	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'78,6" W 39°19'00,2"
CGR-306	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'78,2" W 39°19'00,9"
CGR-307	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'79,0" W 39°19'01,2"
CGR-308	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'77,0" W 39°19'01,1"
CGR-309	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'76,2" W 39°19'00,8"
CGR-310	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'75,5" W 39°19'00,0"
CGR-311	Conceição do Coité	Bahia	S 11°36'01,1" W 39°17'97,3"
CGR-312	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'78,3" W 39°18'99,1"
CGR-313	Conceição do Coité	Bahia	S 11°35'89,7" W 39°18'11,4"
CGR-318	Conceição do Coité	Bahia	S 11°36'01,3" W 39°17'97,5"
CGR-323	Conceição do Coité	Bahia	S 11°36'02,9" W 39°17'98,0"
CGR-324	Conceição do Coité	Bahia	S 11°36'01,5" W 39°17'97,2"

CGR- *Croton grewoides* Baill.

4.2.2. Análise química dos óleos essenciais

A separação e identificação dos compostos presentes nos óleos essenciais de *C. grewoides* foram realizadas em um cromatógrafo gasoso (Agilent Model 7890B) acoplado a um espectrômetro de massas (Agilent Model 5977 A MSD). A CG foi equipada com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura, Agilent). O gás de arraste usado foi o hélio com uma taxa de fluxo de 1 mL/ min. A energia de ionização foi de 70 eV e a faixa de detecção de massa de 40 a 500 Da. Um amostrador automático (Agilent G4513A) foi usado para injetar 1 µL de cada amostra (10 mg do óleo essencial/ mL de solução) em modo “splitless”. A temperatura inicial do forno foi de 35°C (mantida por dois minutos), seguida de um aumento de 10 °C/min até

100 °C (mantida por um minuto). Após, a temperatura foi elevada a 3 °C/min até 250 °C, e mantida por três minutos.

O processamento dos dados foi realizado utilizando o software *Mass Hunter* (Versão B 7.0, *Agilent Technologies*). Os compostos foram identificados por meio da comparação de seus espectros de massas com os presentes no banco de dados NIST (*National Institute of Standards & Technology*). Adicionalmente, foi calculado o índice aritmético (AI) de cada composto, o qual foi determinado de acordo com o tempo de retenção de uma sequência de n-alcenos (C8 - C24), seguido da comparação dos valores obtidos com aqueles presentes na literatura (ADAMS, 2017) e outras bases de dados online (PubChem e ChempSpider).

4.2.3. Atividade antimicrobiana

4.2.3.1. Isolados bacterianos

Os testes para atividade antimicrobiana foram realizados no laboratório de Enzimologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). O fitopatógeno *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 629IBSBF (XCC-629IBSBF) foi obtido da coleção de fitobactérias do Instituto Biológico de São Paulo (São Paulo, Brasil). A bactéria foi revitalizada em meio de cultura YM (Yeast-Malt: 3 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 3 g.L⁻¹ de extrato de malte, 5 g.L⁻¹ de peptona e 10 g.L⁻¹ de sacarose, pH 6,0) sob agitação orbital (150 rpm/ 28°C ± 2). Para os testes de atividade antimicrobiana, foi utilizado o inóculo padronizado. Para isso, foi realizada leitura usando um comprimento de onda de 600 nm em leitor de microplacas Synergy™ H1 da BioTek Hybrid Technology. Após, as amostras foram padronizadas para uma densidade óptica correspondente a 0,5 na escala McFarland (1 × 10⁶ UFC.mL⁻¹). As culturas foram plaqueadas em meio YM sólido (20 g.L⁻¹ de ágar) para comprovar a pureza da cultura.

4.2.3.2. Screening in vitro da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill.

Inicialmente foram realizados *screenings* com os óleos essenciais dos 29 acessos de *C. grewoides* (Tabela 1) a fim de selecionar aqueles com maior porcentagem de inibição para o isolado Xcc 629IBSBF.

A solução de óleo essencial para cada acesso foi composta por óleo essencial dissolvido em DMSO (2%, Dimetilsulfoxido- Sigma Aldrich, 99,9% de pureza) e diluídos em meio de cultura YM líquido para uma concentração de 1000 µg.mL⁻¹. Os ensaios foram realizados em placas de microdiluição de 96 poços, sendo adicionados 100 µL da solução de óleo essencial e 100 µL da suspensão bacteriana Xcc 629IBSBF padronizada, obtendo uma concentração final para os óleos essenciais de 500 µg.mL⁻¹. Como controle positivo foi utilizado sulfato de estreptomicina (Antibiótico- Purex INLAB) na concentração de 100 µg.mL⁻¹, dissolvido em meio de cultura YM, e como controle negativo foi utilizado o meio YM acrescido de DMSO (2%). As microplacas foram incubadas sob agitação orbital (150 rpm/ 28°C ± 2) durante 24 horas. A determinação da atividade antimicrobiana foi avaliada por leitura da absorvância num leitor de microplaca Synergy™ H1 Hybrid (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA) utilizando um comprimento de onda de 600 nm.

4.2.3.3. Determinação da concentração inibitória mínima e concentração mínima bactericida

A concentração inibitória mínima (MIC) e bactericida mínima (MBC) para os óleos essenciais e o composto majoritário eugenol (Sigma-Aldrich®) foram determinadas pelo método de microdiluição de acordo com o protocolo estabelecido por NCCLS/CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute* - M7-A6). Para isso, foram selecionados cinco óleos essenciais de *C. grewoides* de acordo com a porcentagem de inibição observada no *Screening* (Item 4.2.3.2.) e com os municípios de origem (Tabela 1).

Os óleos essenciais CGR 107, CGR 108, CGR 125, CGR 209, CGR 318 e o composto eugenol foram dissolvidos em DMSO (2%, Sigma Aldrich, 99.9% pureza) e, em seguida,

diluídos em meio YM nas concentrações variando de 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ a 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O ensaio de microdiluição foi realizado em microplacas de 96 poços, nas quais foram adicionados, para cada óleo essencial e o composto eugenol, 100 μL da solução do óleo ou do composto eugenol e 100 μL da suspensão bacteriana Xcc 6291BSBF padronizada. A concentração do padrão eugenol foi testada de acordo com o conteúdo desse composto presente no óleo essencial de maior atividade antibacteriana. O controle positivo consistiu de sulfato de estreptomicina diluído em meio de cultura YM, com concentração variando entre 12,5 e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para o controle negativo foi adicionado aos poços meio de cultura YM acrescido de DMSO (2%).

As microplacas foram incubadas sob agitação orbital (150 rpm/ $28^{\circ}\text{C} \pm 2$) durante 24 horas. Em seguida foi medida a absorvância a 600 nm usando um Leitor de microplaca Synergy™ H1 Hybrid (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, EUA). A MIC foi definida como a menor concentração de óleo essencial e do composto eugenol que causou 100% de inibição do crescimento da Xcc-6291BSBF.

Para determinação da MBC foram retirados 100 μL do conteúdo dos poços com ausência de crescimento bacteriano, os quais foram transferidos para placa de petri (100x20 mm) contendo meio de cultura YM sólido (20 g.L^{-1} de ágar). As placas foram mantidas em estufa por 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2$. Foi considerada bactericida a concentração do óleo essencial e do composto eugenol que não apresentou crescimento bacteriano após 24 horas de incubação.

4.2.3.4. Cinética de crescimento bacteriano

A cinética de crescimento do óleo essencial que apresentou a menor MIC foi determinada pela técnica de microdiluição realizada conforme descrito no item 4.2.3.3. Para isso, alíquotas de 100 μL da cultura Xcc-6291BSBF padronizada foram distribuídas em placas de microdiluição. Cada poço recebeu 100 μL da solução de óleo essencial (dissolvido em DMSO, 2%, e diluído em meio de cultura YM líquido) com as concentrações correspondentes a $2 \times$, $1 \times$, $1/2 \times$, $1/4 \times$ e $1/8 \times$ MIC. Nos pontos de tempo 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120 e 180 min, as microplacas foram lidas em leitor Synergy™ H1 da Bio TekHybrid Technology usando um comprimento de onda de 600 nm. Como controle negativo, foram distribuídos 100 μL de Xcc-6291BSBF padronizada e 100 μL de meio YM líquido acrescido de DMSO (2%). As microplacas foram mantidas sob agitação orbital (150 rpm/ $28^{\circ}\text{C} \pm 2$) no decorrer do ensaio e retiradas para leitura nos pontos de tempo escolhidos.

4.2.3.5. Ensaio de permeabilização de membrana

Células bacterianas em fase exponencial (1×10^6 CFU.mL⁻¹) foram tratadas por 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120 e 180 min com óleo essencial ($2 \times$, $1 \times$, $1/2 \times$, $1/4 \times$ e $1/8 \times$ MIC) do acesso de *C. grewioides* que apresentou maior atividade antimicrobiana. Após a exposição ao óleo essencial, as células foram centrifugadas a 14.000 g/ 25°C durante 10 minutos. O sobrenadante foi removido e as células foram lavadas com Tampão Fosfato Salino (PBS) e, em seguida, incubadas com iodeto de propídio (PI, 6 mM) a 35°C por 15 min no escuro. Posteriormente, a suspensão de células marcadas foi distribuída em microplacas de 96 poços. A intensidade de fluorescência do PI foi medida por meio do leitor de microplacas Synergy™ H1 (BioTekHybrid Technology) usando um filtro de excitação de 493/20 nm e emissão de 632 nm/40 nm. Como controle negativo, utilizou-se células Xcc-6291BSBF padronizadas marcadas com PI e, como controle positivo, células Xcc-6291BSBF padronizadas mortas em banho-maria por 5 min a 100°C e marcadas com PI.

4.2.4. Análise dos dados

Os resultados da composição química, teor e *screening in vitro* dos óleos essenciais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o programa estatístico SISVAR® versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

Os ensaios para a determinação das concentrações inibitória (MIC) e bactericida mínima (MBC), cinética de crescimento e permeabilidade de membrana foram realizados em triplicata. Os dados gerados foram plotados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) com o auxílio do software Graph Pad Prism (versão 7, CA, San Diego, EUA, 2012).

A identificação dos compostos relacionados com a atividade bacteriostática foi realizada usando o método de Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). O método foi utilizado para associar a porcentagem de ocorrência dos compostos presentes nos óleos essenciais com a concentração inibitória mínima (MIC) observada. O método PLS-DA foi construído usando dois componentes que explicaram pelo menos 99% da variância do modelo. A análise foi realizada na plataforma *Metaboanalyst* (CHONG *et al.*, 2019).

4.3. Resultados

4.3.1. Composição química dos óleos essenciais

O teor de óleo essencial variou significativamente entre os acessos de *C. growioides* (Tabela 1), sendo observadas as maiores médias para os acessos CGR 324, CGR 302, CGR 307 e CGR 222 (5,80%, 5,55%, 5,42% e 5,38%, respectivamente).

Os compostos mais abundantes detectados nos óleos essenciais foram: metil eugenol (90,32% em CGR 302; 87,09% em CGR 307; 82,76% em CGR 304; 84,56% em CGR 308; 82,19% em CGR 323 e 82,07% em CGR 210), metil chavicol (88,13% em CGR 324) e eugenol (80,38% em CGR 108 e 80,37% em CGR 107). Com base no perfil químico, foi possível identificar maiores proporções de sesquiterpenos (47,37%) e fenilpropanoides (42,10%) que de monoterpenos (10,53%) nos óleos essenciais de *C. growioides* (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química dos óleos essenciais dos acessos da coleção de *Croton growioides* Baill. do Banco Ativo de Germoplasma de Plantas Medicinais e Aromáticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 2022.

Compostos	IRR-lit	CGR103	CGR104	CGR106	CGR107	CGR108	CGR113
Myrcene	988	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	1,30 a	0,00 e
(E)- β -Ocimene	1044	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Methyl chavicol	1195	0,00 f	0,00 f	38,38 d	0,00 f	0,00 f	0,00 f
(Z)-Anethole	1249	1,18 a	2,09 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Anethole	1282	1,83 b	3,47 a	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
δ -Elemene	1335	0,50 h	0,41 h	2,20 d	2,77 b	2,78 b	2,37 c
Eugenol	1356	0,00 o	0,00 o	46,70 d	80,37 a	80,38 a	0,00 o
Methyl eugenol	1403	0,51 j	0,19 j	0,00 j	0,00 j	0,00 j	76,85 c
α -Santalene	1416	0,00 b	2,03 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Caryophyllene	1417	3,17 c	0,00 f	2,83 c	4,18 b	2,52 c	2,84 c
α -Humulene	1452	0,25 a	0,42 a	0,00 b	0,27 a	0,00 b	0,00 b
n.i.1463	1463	0,00 b	20,56 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Germacrene D	1481	0,00 h	0,00 h	1,84 b	3,21 a	2,00 b	1,34 c
(E)-Methyl isoeugenol	1491	31,43 a	5,84 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
Bicyclogermacrene	1500	0,00 h	0,00 h	3,92 d	4,95 c	4,97 c	4,02 d
n.i.1506	1506	42,59 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Eugenol acetate	1514	0,00 e	0,00 e	0,86 b	1,18 a	0,00 e	0,00 e
n.i.1519	1519	0,00 b	37,82 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Spathulenol	1576	3,07 a	1,22 a	1,76 a	1,43 a	3,01 a	2,74 a
Caryophyllene oxide	1582	1,23 b	2,01 a	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,25 d
Xanthoxilin	1667	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	4,80 a
(2E,6E)-Methyl farnesoate	1783	0,00 f	0,00 f	0,78 e	0,97 e	1,96 d	3,04 b
Teor (%)		2.74 b	2.42 b	4,00 b	3,42 b	3,92 b	3,30 b

Continua

Cont.

Compostos	IRR-lit	CGR124	CGR125	CGR204	CGR209	CGR210	CGR212
Myrcene	988	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,90 b	0,84 c	0,00 e
(E)- β -Ocimene	1044	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	1,21 a	0,00 b
Methyl chavicol	1195	0,00 f	0,00 f	68,23 b	0,00 f	0,00 f	0,00 f
(Z)-Anethole	1249	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Anethole	1282	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
δ -Elemene	1335	1,28 f	1,77 e	2,09 d	2,48 c	2,09 d	1,78 e
Eugenol	1356	37,67 f	43,99 e	18,05 k	19,99 j	0,00 o	36,04 g
Methyl eugenol	1403	50,00 g	40,94 i	0,66 j	63,11 e	82,07 b	46,26 h
α -Santalene	1416	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Caryophyllene	1417	1,54 e	1,37 e	1,92 d	1,33 e	1,90 d	1,64 e
α -Humulene	1452	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
n.i.1463	1463	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Germacrene D	1481	0,25 g	0,64 f	1,05 e	0,64 f	1,20 d	1,18 d
(E)-Methyl isoeugenol	1491	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
Bicyclogermacrene	1500	2,34 f	3,13 e	3,64 d	4,32 c	3,62 d	3,24 e
n.i.1506	1506	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Eugenol acetate	1514	0,00 e	0,22 d	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,57 c
n.i.1519	1519	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Spathulenol	1576	2,48 a	1,93 a	1,41 a	2,18 a	2,02 a	1,96 a
Caryophyllene oxide	1582	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
Xanthoxylin	1667	1,00 c	1,01 c	1,19 c	0,64 c	2,98 b	2,73 b
(2E,6E)-Methyl farnesoate	1783	2,71 b	2,99 b	1,76 d	2,42 c	2,26 c	2,68 b
Teor (%)		3,55 b	4,17 b	4,33 a	4,71 a	4,05 b	3,80 b

Compostos	IRR-lit	CGR215	CGR220	CGR221	CGR222	CGR302	CGR304
Myrcene	988	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,60 d	0,00 e	0,00 e
(E)- β -Ocimene	1044	1,46 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Methyl chavicol	1195	0,00 f	0,00 f	0,00 f	0,00 f	4,01 f	14,90 e
(Z)-Anethole	1249	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Anethole	1282	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
δ -Elemene	1335	3,09 b	3,06 b	3,65 a	1,74 e	1,52 f	0,88 g
Eugenol	1356	17,82 k	78,80 b	73,88 c	29,38 i	0,00 o	0,00 o
Methyl eugenol	1403	55,08 f	3,76 j	0,19 j	54,30 f	90,32 a	82,76 b
α -Santalene	1416	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Caryophyllene	1417	4,96 a	0,00 f	3,71 b	2,84 c	0,00 f	0,00 f
α -Humulene	1452	0,62 a	0,00 b	0,27 a	0,00 b	0,00 b	0,00 b
n.i.1463	1463	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Germacrene D	1481	1,46 c	1,87 b	1,71 b	0,71 f	0,00 h	0,00 h
(E)-Methyl isoeugenol	1491	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
Bicyclogermacrene	1500	5,35 b	5,50 b	6,23 a	3,06 e	2,75 e	1,46 g
n.i.1506	1506	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Eugenol acetate	1514	0,00 e	1,10 a	1,11 a	0,29 d	0,00 e	0,00 e
n.i.1519	1519	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Spathulenol	1576	2,16 a	2,17 a	2,42 a	1,78 a	1,40 a	0,00 a
Caryophyllene oxide	1582	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
Xanthoxylin	1667	5,51 a	0,00 d	0,00 d	1,76 c	0,00 d	0,00 d
(2E,6E)-Methyl farnesoate	1783	1,09 e	2,17 c	3,04 b	2,64 b	0,00 f	0,00 f
Teor (%)		4,05 b	3,33 b	2,88 b	5,38 a	5,55 a	4,80 a

Cont.

Compostos	IRR-lit	CGR306	CGR307	CGR308	CGR309	CGR310	CGR311
Myrcene	988	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e
(E)- β -Ocimene	1044	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Methyl chavicol	1195	0,00 f	0,00 f	1,23 f	1,34 f	0,00 f	0,00 f
(Z)-Anethole	1249	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Anethole	1282	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
δ -Elemene	1335	1,87 e	2,17 d	2,65 c	2,25 d	2,49 c	1,78 e
Eugenol	1356	45,76 d	0,00 o	0,00 o	9,01 m	31,38 h	13,67 l
Methyl eugenol	1403	38,50 i	87,09 a	84,56 b	78,61 c	43,65 h	70,57 d
α -Santalene	1416	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Caryophyllene	1417	1,19 e	0,00 f	0,44 f	0,00 f	2,51 c	2,08 d
α -Humulene	1452	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,19 a	0,00 b
n.i.1463	1463	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Germacrene D	1481	1,31 c	1,30 c	1,02 e	1,17 d	1,38 c	0,98 e
(E)-Methyl isoeugenol	1491	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
Bicyclogermacrene	1500	3,56 d	3,82 d	4,66 c	3,95 d	4,38 c	3,30 e
n.i.1506	1506	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Eugenol acetate	1514	0,74 b	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e
n.i.1519	1519	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Spathulenol	1576	1,77 a	1,57 a	2,21 a	1,70 a	3,42 a	1,60 a
Caryophyllene oxide	1582	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,67 c	0,00 d
Xanthoxylin	1667	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	2,48 b	0,00 d
(2E,6E)-Methyl farnesoate	1783	2,64 b	2,91 b	2,07 c	1,67 d	2,21 c	3,88 a
Teor (%)		4,17 b	5,42 a	5,05 a	5,21 a	3,30 b	4,71 a

Compostos	IRR-lit	CGR312	CGR313	CGR318	CGR323	CGR324
Myrcene	988	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e
(E)- β -Ocimene	1044	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	1,24 a
Methyl chavicol	1195	48,74 c	1,15 f	1,01 f	0,00 f	88,13 a
(Z)-Anethole	1249	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Anethole	1282	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
δ -Elemene	1335	1,53 f	2,47 c	2,22 d	2,28 d	2,59 c
Eugenol	1356	0,00 o	6,00 n	29,92 i	0,00 o	0,00 o
Methyl eugenol	1403	42,27 i	81,98 b	55,61 f	82,19 b	0,00 j
α -Santalene	1416	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
(E)-Caryophyllene	1417	1,02 e	0,75 e	0,00 f	3,23 c	0,00 f
α -Humulene	1452	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
n.i.1463	1463	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Germacrene D	1481	0,57 f	0,00 h	0,90 e	1,78 d	0,00 h
(E)-Methyl isoeugenol	1491	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
Bicyclogermacrene	1500	2,72 e	4,37 c	3,91 d	3,87 d	4,37 c
n.i.1506	1506	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Eugenol acetate	1514	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e
n.i.1519	1519	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Spathulenol	1576	1,42 a	1,51 a	1,53 a	2,31 a	0,73 a
Caryophyllene oxide	1582	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 d
Xanthoxylin	1667	0,00 d	0,00 d	0,00 d	2,77 b	0,00 d
(2E,6E)-Methyl farnesoate	1783	0,72 e	1,77 d	3,88 a	1,16 e	2,48 c
Teor (%)		4,55 a	3,67 b	4,38 a	4,13 b	5,80 a
Fenilpropanoides (%)	42,10					
Sesquiterpenos (%)	47,37					
Monoterpenos (%)	10,53					

n.i.- não identificado; Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

A análise de componentes principais está apresentada na Figura 1. O primeiro componente principal explicou 35,35% da variação total e foi positivamente relacionado aos compostos α -santalene, n.i. 1463 e n.i. 1519 ($r = 0,56$). O segundo componente principal explicou 14,11% da variação total e foi positivamente correlacionado com os compostos metil chavicol (0,60), metil eugenol (0,54), n.i. 1463 (0,56), bicyclogermacrene (0,58), espatulenol (0,57) e (2E, 6E)-metil farnesoate (0,54).

Os compostos n.i. 1463, α -santalene e n.i. 1519 apresentaram alta correlação e são os compostos observados no acesso CGR 104.

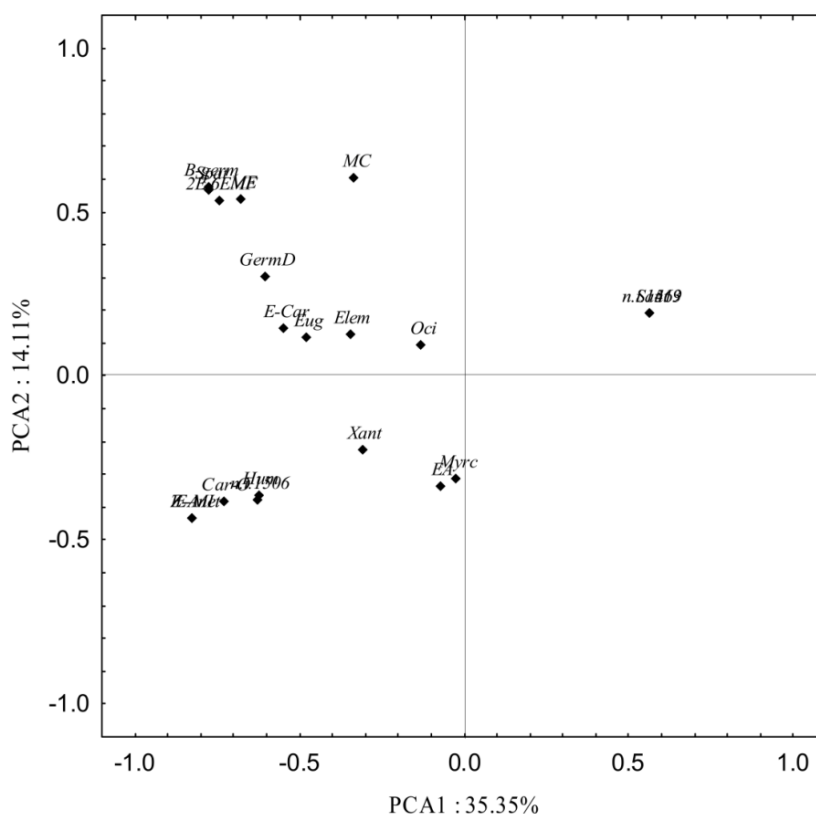


Figura 1. Distribuição dos compostos químicos dos óleos essenciais de *Croton growioides* Baill. em relação aos dois componentes principais por meio da análise de componentes principais (PCA). Myrc: Mirceno; Oci: (E)- β -Ocimeno; MC: Metil chavicol; Z-Anet: (Z)-Anetol; E-Anet: (E)-Anetol; Elem: δ -Elemeno; Eug: Eugenol; ME: Metil eugenol; Sant: α -Santaleno; E-Car: (E)-Cariofileno; Hum: α -Humuleno; n.i.1463: não identificado/ IR:1463; GermD: Germacreno D; E-MI: (E)-Metil isoeugenol; B-germ: Bicyclogermacreno; n.i.1506: não identificado/ IR:1506; EA: Acetato de eugenol; n.i.1519: não identificado/ IR:1519; Spat: Epatulenol; Car-O: Óxido de cariofileno; Xant: Xantoxilin; 2E,6E: (2E,6E)-Metil farnesoato.

4.3.2. Screening *in vitro* da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais dos acessos de *Croton growioides* Baill.

Os acessos de *C. growioides* foram divididos em dois grupos conforme a porcentagem de inibição sobre a fitobactéria Xcc (Figura 2). O primeiro grupo foi formado por 18 acessos, sendo 12 acessos do estado de Sergipe e seis do estado da Bahia. O segundo grupo apresentou menor porcentagem de inibição e foi formado por 11 acessos com três acessos do estado de Sergipe e oito acessos do estado da Bahia.

Os acessos oriundos do estado de Sergipe, com exceção dos CGR 204, CGR 212 e CGR 215, exibiram expressiva atividade antibacteriana. Dentre os óleos essenciais testados,

os acessos CGR 107 (86,52 %) e CGR 108 (85,15 %) apresentaram maiores porcentagens de inibição bacteriana, ambos provenientes do município de Poço Redondo - Serra da Guia (SE). Em geral, os acessos oriundos do estado da Bahia exibiram baixa atividade antibacteriana, salvo os óleos essenciais CGR 308, CGR 310, CGR 311 e CGR 318.

A partir dos resultados obtidos, foram selecionados dentro de cada procedência os óleos essenciais dentro do grupo que apresentou maior atividade antibacteriana (CGR 107, CGR 108, CGR 209, CGR 125 e CGR 318) para a determinação das concentrações inibitória mínima (MIC) e bactericida mínima (MBC).

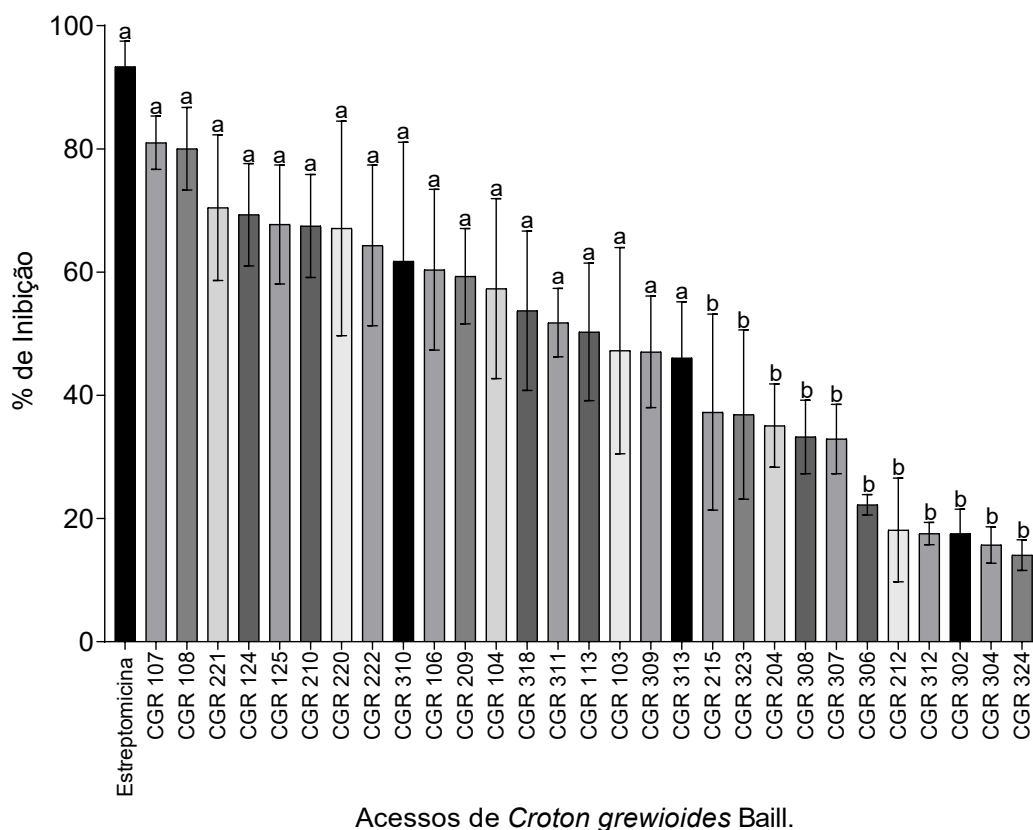


Figura 2. Screening dos óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*.

4.3.3. Concentração inibitória mínima e concentração mínima bactericida

O óleo essencial CGR 108 apresentou o menor valor de MIC ($1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) dentre os óleos testados, e a MBC foi obtida com $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Os valores de MIC e MBC para o óleo essencial CGR 107 foi de $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. O óleo essencial CGR 125 apresentou MIC de $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e MBC de $4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 3).

Com relação ao óleo essencial CGR 209, as concentrações testadas não foram suficientes para inibir o crescimento bacteriano. Para o óleo essencial CGR 318 a MIC foi de $4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, no entanto não verificou-se atividade bactericida para as concentrações testadas. Considerando o composto padrão eugenol, a MIC foi obtida com $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e a MBC com $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. O sulfato de estreptomicina (controle positivo) atingiu efeito bactericida a partir da concentração $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$, inibindo 100% do crescimento bacteriano após 24 horas.

Tabela 3. Concentrações inibitória mínima (MIC) e bactericida mínima (MBC) dos óleos essenciais de *Croton grewoides* Baill. e do composto eugenol sobre o crescimento *in vitro* de *Xantomonas campestris* pv. *campestris*.

<i>Croton grewoides</i> Baill.	MIC $\pm$ EPM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	MBC $\pm$ EPM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
Estreptomicina	25 $\pm$ 0,740	25
CGR 107	2000 $\pm$ 0,000	2000
CGR 108	1000 $\pm$ 0,000	2000
CGR 125	2000 $\pm$ 0,000	4000
CGR 209	> 4000	> 4000
CGR 318	4000 $\pm$ 0,000	> 4000
Eugenol (80,38%)	500 $\pm$ 0,000	1000

MIC refere-se à concentração mínima necessária para inibir 100% do crescimento das Xcc. Os valores correspondem a Média $\pm$ Erro Padrão da Média (EPM) de três experimentos. Para MBC o EPM é zero.

O método PLS-DA foi utilizado para identificar os compostos presentes nos óleos essenciais de *C. grewoides* que estão correlacionados com a atividade antibacteriana contra a fitobactéria Xcc (Figura 3). Para a análise, foram utilizados os dois componentes que explicaram no mínimo 99% da variância do modelo (Componente 1: 99,80%, Componente 2: 0,10%). Os valores Q2 (capacidade preditiva do modelo) para a validação do modelo do MIC foram 0,7 e 0,98 (para os componentes 1 e 2, respectivamente). Os valores observados para a validação do modelo sugerem que as informações obtidas por meio desta análise são confiáveis.

O composto correlacionado à atividade antibacteriana que apresentou maior importância na projeção (VIP) foi o eugenol, dado o alto valor desse composto para a classe de MIC 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Valor do coeficiente: 2,4). O composto metil eugenol apresentou alta correlação com a classe de óleos essenciais de MIC > 4000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (altamente correlacionado com baixa atividade antibacteriana - Valor de coeficiente: 2,2). O composto (E)-Cariofileno apresentou alta correlação com a classe de óleos essenciais de MIC 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Valor de coeficiente: 1,0), conforme observado na Figura 3.

4.3.4. Cinética de crescimento bacteriano e ensaio de permeabilidade de membrana

A intensidade de fluorescência e a cinética de crescimento foram analisadas para os tempos 5, 10 e 15 minutos (dados não apresentados), no entanto, a atividade antibacteriana foi observada a partir de 30 minutos de exposição ao óleo essencial CGR 108 de *C. grewoides* (Figura 4A e 4B).

Observou-se aumento na permeabilidade da membrana após 30 minutos de exposição ao óleo essencial CGR 108 para as concentrações 1x e 2x MIC, quando comparadas ao tratamento não exposto ao óleo essencial (controle negativo). Observou-se também que as concentrações 1x e 2x MIC apresentaram maiores valores de intensidade de fluorescência em todos os tempos de incubação analisados (Figura 4A).

A MIC/2 apresentou aumento de intensidade de fluorescência no tempo 180 minutos, sugerindo que esta concentração não causa morte celular instantaneamente. Por outro lado, as concentrações MIC/4 e MIC/8 não apresentaram diferença na intensidade de fluorescência quando comparadas ao tratamento não exposto ao óleo essencial, comprovando que concentrações subinibitórias não causam perda da integridade da membrana bacteriana.

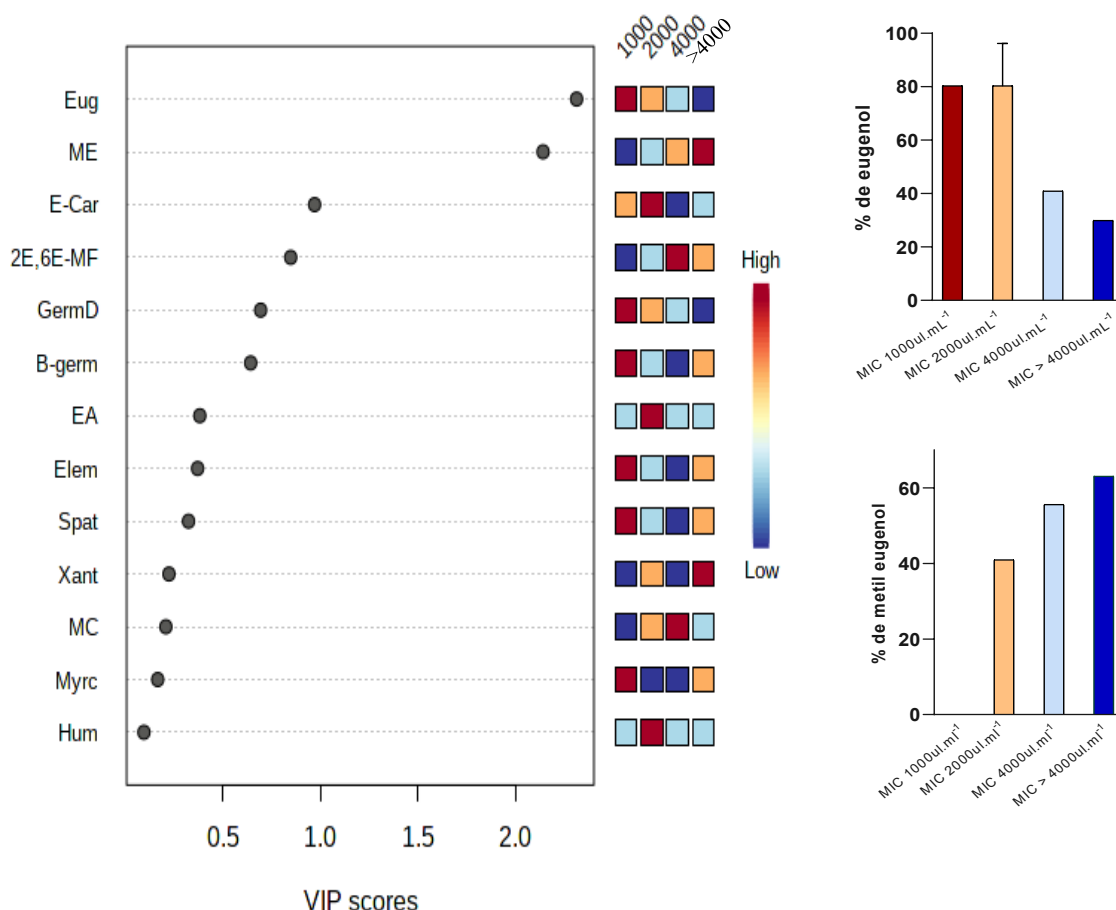


Figura 3. Valores de coeficientes (VIP scores) obtidos com o método PLS-DA para os compostos presentes nos óleos essenciais dos acessos de *Croton grewoides* Baill. em relação à concentração inibitória mínima (MIC) contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Myrc: Mirceno; Oci: (E)- β -Ocimeno; MC: Metil chavicol; Z-Anet: (Z)-Anetol; E-Anet: (E)-Anetol; Elem: δ -Elemeno; Eug: Eugenol; ME: Metil eugenol; Sant: α -Santaleno; E-Car: (E)-Cariofileno; Hum: α -Humuleno; n.i.1463: não identificado/ IR:1463; GermD: Germacreno D; E-MI: (E)-Metil isoeugenol; B-germ: Bicyclgermacreno; n.i.1506: não identificado/ IR:1506; EA: Acetato de eugenol; n.i.1519: não identificado/ IR:1519; Spat: Espatuleno; Car-O: Óxido de cariofileno; Xant: Xantoxilin; 2E,6EMF: (2E,6E)-Metil farnesoato.

Na figura 4B está a representação gráfica da curva de crescimento de Xcc tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial CGR 108 de *C. grewoides*. A viabilidade celular foi reduzida após 30 minutos de exposição na concentração 2x MIC do óleo essencial CGR 108. Em todos os tempos de exposição analisados os valores de densidade óptica para o tratamento 2x MIC foram inferiores quando comparados com o tratamento controle. Esse efeito é confirmado por meio dos dados de permeabilidade da membrana, onde houve aumento da intensidade de fluorescência a partir de 30 minutos de exposição ao PI.

Analisando a curva de crescimento das concentrações 1x MIC e MIC/2, observa-se acentuada redução da densidade óptica após 45 minutos de incubação em relação ao tratamento controle. Indicando uma relação direta entre o tempo de exposição e a redução do crescimento bacteriano. As concentrações MIC/4 e MIC/8 não diferiram do tratamento controle durante o período de incubação, o que indica falta de atividade antibacteriana para as cepas testadas.

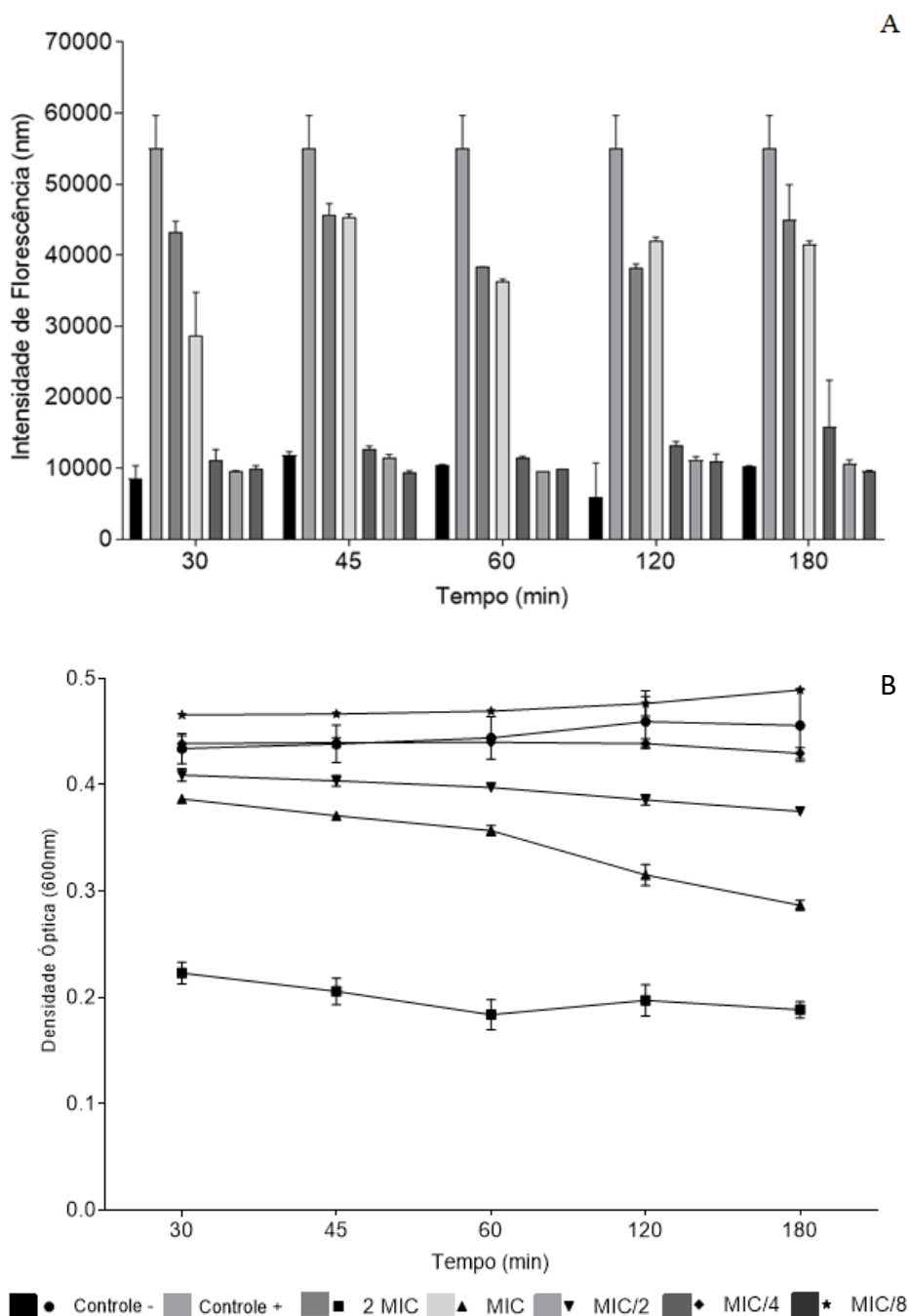


Figura 4. Permeabilidade da membrana utilizando iodeto de propídio (A) e cinética de crescimento (B) de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* após exposição ao óleo essencial CGR 108 de *Croton grewoides* Baill.

4.4. Discussão

Os acessos de *Croton grewoides* Baill. apresentaram variação quantitativa e qualitativa na composição química e no teor dos óleos essenciais (Tabela 2). A síntese dos óleos essenciais é afetada por condições ambientais aliadas aos fatores genéticos (MELITO *et al.*, 2019). Desta forma, as alterações no perfil químico e na produção dos óleos essenciais de *C. grewoides* podem estar relacionadas às variações genéticas.

Os fenilpropanoides, tais como o eugenol, metil eugenol e metil chavicol, são compostos orgânicos amplamente presentes nos óleos essenciais de plantas bioativas (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Além disso, os fenilpropanoides foram descritos como componentes principais em outra espécie do gênero *Croton*, como *C. nepetifolius* contendo metil eugenol (59,75%) (RIBEIRO *et al.*, 2018). Oliveira *et al.* (2020) identificaram o metil eugenol (CGR 112- 85,58% e CGR 126- 45,97%) e o eugenol (CGR 106- 29,51% e CGR 126- 42,68%) como compostos majoritários para *C. grewioides*.

A análise de componentes principais permitiu identificar a correlação entre os compostos presentes nos óleos essenciais de *C. grewioides*. Os elementos α -Santalene, n.i.1463 e n.i. 1519 apresentaram alta correlação positiva entre si, o que significa que os óleos essenciais que apresentaram alta concentração de α -santalene apresentaram as maiores concentrações de n.i. 1519 e n.i. 1463. Este padrão foi observado para o óleo essencial CGR 104. Estes compostos foram negativamente correlacionados com os demais (Figura 1).

Não há registros de produtos para o controle da podridão negra causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em brássicas. Produtos cúpricos e fungicidas são usados de forma preventiva, no entanto, essas medidas são pouco eficientes no controle da doença. Nesse contexto, a seleção de produtos naturais pode fornecer agentes antimicrobianos para o controle desta fitobactéria.

Os óleos essenciais de *C. grewioides* e o composto majoritário eugenol foram eficazes para a inibição do crescimento da Xcc, o que pode ser visualizado nos resultados dos experimentos *in vitro* (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos para a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* (SILVA *et al.*, 2019) e *Varronia curassavica* (SILVA *et al.*, 2020) no controle da fitobactéria Xcc.

Estudos anteriores relataram a eficiência de óleos essenciais de outras espécies de *Croton* no controle microbiano (ALMEIDA-PEREIRA *et al.*, 2019; SIQUEIRA *et al.*, 2021; ROCHA *et al.*, 2021). O óleo essencial de *C. grewioides* e o composto majoritário α -pineno apresentaram atividades moduladoras de resistência a antibióticos contra *Staphylococcus aureus* quando incorporados ao meio de cultura (MEDEIROS *et al.*, 2017). Os óleos essenciais de *C. tetradenius* e *C. pulegioides* reduziram as taxas de crescimento de *Staphylococcus aureus* atrasando o início da fase exponencial quando exposta à concentração de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (ROCHA *et al.*, 2021).

A atividade inibitória dos óleos essenciais podem ser classificadas em alta (MIC entre 50-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), moderada (MIC entre 600-1.500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e baixa (MIC acima de 1.500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) (SARTORATTO *et al.*, 2004). Com base nessa escala, o óleo essencial CGR 108 foi classificado com atividade antibacteriana moderada, enquanto que o composto eugenol apresentou alta atividade. Deve-se ressaltar que o óleo essencial CGR 108 apresentou inibição contra Xcc com menor MIC quando comparado aos demais acessos (Tabela 3). Essa maior atividade inibitória pode estar relacionada ao eugenol, uma vez que este composto está presente em maior proporção neste óleo essencial (80,38%) (Tabela 2).

A análise discriminante por quadrados mínimos (PLS-DA) permitiu relacionar a concentração de cada composto presente nos óleos essenciais de acordo com a atividade antibacteriana. Os resultados demonstraram que a redução da atividade antibacteriana está associada com óleos essenciais que contém concentrações mais elevadas de metil eugenol (óleos essenciais CGR 209 e CGR 318). Por outro lado, maiores concentrações de eugenol foram altamente correlacionadas com o aumento da toxicidade contra Xcc (óleo essencial CGR 108) (Figura 3).

Esse dado reforça que a atividade antibacteriana observada para CGR 108 é dependente da concentração do eugenol, o que foi comprovado pelos valores de MIC e MBC para o composto eugenol isolado (Tabela 3). Nesse sentido, a análise PLS-DA foi útil para a identificação de compostos promissores associados às atividades bioativas de óleos essenciais (BRITO *et al.*, 2021).

O eugenol é um composto fenólico da classe dos fenilpropanoides e exibe uma série de propriedades biológicas comprovadas. A significativa atividade antibacteriana demonstrada pelo eugenol pode estar relacionada à sua conformação química. A presença de uma ligação dupla na cadeia lateral e um grupo hidroxila livre (OH) em sua estrutura, proporciona maior interação com a membrana bacteriana, causando aumento da permeabilidade e perda de metabólitos (NAZZARO *et al.*, 2013).

Adicionalmente, o eugenol reduz a atividade da enzima ATPase, que é responsável pela produção de ATP e regulação do pH (QIAN *et al.*, 2020) e pode alterar a proporção de lipídios na membrana bacteriana (DI PASQUA *et al.*, 2007). Estudos conduzidos por Qian et al. (2020) confirmaram que o eugenol foi capaz de inibir o crescimento da bactéria Gram-negativa *Klebsiella pneumoniae* por meio da alteração na integridade da membrana e redução da expressão dos genes *pgaA*, *luxS*, *wbbM* e *wzmna*, que são responsáveis pela formação de biofilmes. Além disso, os autores relataram que a exposição ao eugenol levou a uma diminuição na concentração de pH e ATP intracelular.

A redução da atividade antibacteriana associada ao metil-eugenol pode ser explicada pela ausência do grupo hidroxila livre em sua estrutura, devido à substituição por um grupo metil (CH₃). Esse dado reforça a importância do grupo hidroxila presente na molécula do eugenol para a permeabilização da membrana microbiana (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Os ensaios de permeabilidade de membrana realizados com iodeto de propídio (PI) permitiram confirmar que o óleo essencial CGR 108 (1x e 2x MIC) causa alterações estruturais na membrana bacteriana após 30 minutos de exposição. O dano à membrana é confirmado na cinética de crescimento, uma vez que as taxas de crescimento reduziram significativamente após tratamento com óleo essencial CGR 108 nas concentrações 1x e 2x MIC (Figura 4A e 4B).

Silva et al. (2019) observaram aumento na permeabilidade da membrana em *Xcc* tratadas com óleo essencial de *L. gracilis* e marcadas com iodeto de propídio. O aumento na permeabilidade ao PI indica mudanças na membrana citoplasmática, visto que PI é um corante que penetra em células com membrana danificada e liga-se aos ácidos nucleicos tornando a célula fluorescente (CROWLEY *et al.*, 2016).

A natureza lipofílica e hidrofóbica dos óleos essenciais permite que o mesmo penetre na bicamada lipídica causando alterações no perfil dos ácidos graxos e, consequentemente, aumento da permeabilidade da membrana. Essa alteração leva a redução da síntese de ATP, danificação das proteínas de membrana, redução no transporte de elétrons e perda de componentes intracelulares (NAZZARO *et al.*, 2013).

Embora os óleos essenciais sejam reconhecidos como agentes antibacterianos eficazes, existem poucas informações sobre o mecanismo de ação dos óleos essenciais, bem como dos seus constituintes, principalmente contra bactérias fitopatogênicas. Dessa forma, *C. grewioides* pode ser uma alternativa eficaz para o controle da *Xcc*, além de reduzir os impactos causados por agroquímicos ao meio ambiente e à saúde humana.

4.5. Conclusões

Os óleos essenciais de *Croton grewioides* Baill., assim como o composto eugenol, apresentam atividade antimicrobiana contra *Xantomonas campestris* pv. *campestris*. A viabilidade celular é rapidamente reduzida após contato com o óleo essencial CGR 108, nas concentrações de 1000 e 2000 µg.mL⁻¹, o qual causa alterações estruturais na membrana citoplasmática bacteriana demonstrada pela fluorescência do iodeto de propídio nas células.

4.6. Referências Bibliográficas

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. Allured Pub Corp. 4.1. Ed., 2017.

ALMEIDA- PEREIRA, C. S.; NOGEIRA, P. C. de L.; BARBOSA, A. A. T.; NIZIO, A. A. de C.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; SAMPAIO, T. S. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from a *Croton tetradenius* Baill. Germplasm. **Journal of Essential Oil Research**, v. 31, 5. ed., p. 379-389, 2019.

ARAUJO, M. R.; LEÃO, G. M. A.; SILVA, R. da C. A. da ; OLIVEIRA, A. I. T.; SILVA, J. F. O. da. Mancha-bacteriana da mangueira (*xanthomonas campestris* pv. *Mangiferaeindicae*): etiologia e estratégias de controle. **Revista Desafios**, v. 6, n. 1, p. 32-35, 2019.

ARAÚJO, V. C.; TEBALDI, N. D. Intervalo de aplicação de óleos essenciais no controle da mancha bacteriana do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 2, p. 210-212, 2019.

BRITO, J. R.; COSTA-SILVA, T. A.; LONDERO, V. S.; BALDIN, J. L.; TEMPONE, A. G.; FERREIRA, E. A.; LAGO, J. H. G. Molecular dereplication of volatile oils from *saurourus cernuus* l. and evaluation of anti *Trypanosoma cruzi* activity. **Química Nova**, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2021.

CÂNDIDO, A. C. S.; SCALONA, S. P. Q.; SILVA, B. C. B.; SIMIONATTO, C. E.; MORELD, A. F.; STÜKERD, C. Z.; MATOSE, M. F. C.; PERESB, M. T. L. P. Chemical composition and phytotoxicity of essential oils of *Croton doctoris* S. Moore (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, n. 1, p. 1-11, 2021.

CARNEIRO-TORRES D. S.; SILVA, O. L. M.; CORDEIRO I. Flora da Bahia: *Euphorbia* (Euphorbiaceae). **Sitientibus**, v. 17, n. 1, p.17-28, 2017.

CARNEIRO-TORRES, D. S.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M.; BERRY, P. E.; RINNA, R. Three new species of *Croton* (Euphorbiaceae) from the Brazilian Caatinga. **Brittonia**, v. 63, n. 1, p. 122-132, 2011.

CAVALCANTI, D. F. G.; SILVEIRA, D. M. A.; SILVA, G. C. Aspectos e potencialidades biológicas do gênero *Croton* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 45931-45946, 2020.

CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J.; Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols Bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1-128, 2019.

Clinical and laboratory standards institute / National comitee for clinical laboratory standards (CLSI/NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Wayne: CLSI/NCCLS document M7-A8, 2009.

CPTEC - Centro de previsão de tempo e estudos climáticos/ instituto nacional de pesquisas espaciais (INPE). Disponível em: <https://www.cptec.inpe.br/previsao-tempo/se/sao-cristovao>. Acesso em: 17 ago. 2020.

CROWLEY, L. C.; SCOTT, A. P.; MARFELL, B. J.; BOUGHABA, J. A.; CHOJNOWSKI, G.; WATERHOUSE, N. J. Measuring cell death by propidium iodide uptake and flow cytometry. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 1, p. 647 – 651, 2016.

DA SILVA, A.D.; DE MELO E SILVA, K.; NETO, J.C.; COSTA, V.C.; PESSÔA, H.; TAVARES, J.F.; DA SILVA, M.S.; CAVALCANTE, F. *Croton growioides* Baill. (Euphorbiaceae) Mostra Atividade Antidiarreica em Camundongos. **Pharmacognosy Research**, v. 8, n. 3, p. 202- 205, 2016.

DI PASQUA, R.; BETTS, G.; HOSKINS, N.; EDWARDS, M.; ERCOLINI, D.; MAURIELLO, G. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. **Jornal Agriultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 12, p. 4863- 4870, 2007.

EHLERT, P. A. D.; BLANK, A. F.; ARRIOGONI-BLANK, M. F.; PAULA, J. W. A.; CAMPOS, D. A.; ALVIANO, C. S. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 2, p. 79- 80, 2006.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In **Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**, 45, 2000, São Carlos, SP: SIB, p. 255-258, 2011.

GARRITY, G. M.; HOLT, J. G. Na overview of the rold map to manual. **Systematic bacteriology**. 2 ed. New York: Springer, 2000. p. 20.

HURTADO, P.; ROMERO, D.; LÓPEZ CARRASCAL, C. E. Arabidopsis muestra resistencia no-hospedero constitutiva contra *Xanthomonas phaseoli* pv. *manihotis*. **Acta Biológica Colombiana**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 345-351, 2021.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

LUCAS, G. C.; ALVES, E.; PEREIRA, R. B.; Perina, F. J.; SOUZA, R. M. Antibacterial activity of essential oils on *Xanthomonas vesicatoria* and control of bacterial spot in tomato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 3, p. 351-359, 2012.

MEDEIROS, V. M. de; do NASCIMENTO, Y. M.; SOUTO, A. L.; MADEIRO, S. A. L.; COSTA, V. C. de O.; SILVA, S. M. P. M.; FALCÃO, S. V. dos S.; AGRA, M. de F.; de SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; TAVARES, J. F. Chemical composition and modulation of bacterial drug resistance of the essential oil from leaves of *Croton grewioides*. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, n. 1, p. 468-471, 2017.

MELITO, S.; PETRETTO, G. L.; CHAHINE, S.; PINTORE, G.; CHESSA, M. Seasonal Variation of Essential Oil in *Rosmarinus officinalis* Leaves in Sardinia. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 7, p. 1-7, 2019.

NAZARRO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, E. L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 2013.

NEERAJ, B.; LAL, S. A survey of some medicinally important plants of the Euphorbiaceae family used by the Santhal tribes of Santhal Pargana. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v. 18, n. 1, p. 610-614, 2019.

OLIVEIRA, S. D. da S.; SILVA, A. M. de O.; BLANK, A.F.; NOGUEIRA, P. C.; NIZIO, D. A. C.; ALMEIDA-PEREIRA, C.S.; PEREIRA, R.; MENEZES-SÁ, T. S. A.; SANTANA, M. H.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Radical scavenging activity of essential oils from *Croton growioides* Baill. accessions and the main compounds eugenol, methyl eugenol and methyl chavicol. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, p. 94-103, 2020.

QIAN, W.; ZHAOHUAN, S.; TING, W.; YANG, M.; LIU, M.; ZHANG, J.; LI, Y. Antimicrobial activity of eugenol against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its effect on biofilms. **Microbial Pathogenesis**, v. 139, n. 1, p. 1-9, 2020.

RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. Iheringia. **Série Botânica**, v. 73, n. 1, p. 31–38, 2018.

ROCHA, R. R.; MATOS, M. N. C.; GUERREIRO, J. A. P.; CAVALCANTE, R. M. B.; MELO, R. S.; AZEVEDO, A. M. A.; PEREIRA, A. M. G.; LOPES, P. H. R.; RODRIGUES, T. H. S.; BANDEIRA, P. N.; GOMES, G. A.; CATUNDA JUNIOR, F. E. A.; CARNEIRO TORRES, D. S.; SILVA, J. R. V.; CARNEIRO, V. A. Comparative study of the chemical composition, antibacterial activity and synergic effects of the essential oils of *Croton tetradenius* Baill. And *C. pulegioides* Baill. Against *Staphylococcus aureus* isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 156, n. 1, 2021.

SARTORATTO A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Environmental and Soil Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275–280, 2004.

SERRA, D.S.; GOMES, M. D.M.; CAVALCANTE, F. S. A.; LEAL-CARDOSO, J. H. Essential oil of *Croton Zehntneri* attenuates lung injury in the OVA-induced asthma model. **Journal of Asthma**, v. 56, n. 1, p. 1-10, 2019.

SiBBR - Sistema da Informação sobre a Biodiversidade Brasileira: *Croton grewioides* Baill., 2021. Disponível em: <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/289263#names>. Acesso em: 17 fev. 2021.

SILVA, C. G. V.; ZAGO, H. B.; JÚNIOR, H. J. G. S.; DA CAMARA, C. A. G.; DE OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M.O. E.; LUCENA, M. F. A. Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of *Croton grewioides* Baill. against Mexican Bean Weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 2, p. 179–182, 2018.

SILVA, C. G.; MARINHO, M. G. V.; LUCENA, M. F. A.; COSTA, J. G. M. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.

SILVA, C. G.; ZAGO, H. B.; JÚNIOR, H. J. G. S.; CAMARA, C. A.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M. O. E.; LUCENA, M. F. F. Composition and insecticidal activity of the essential oil of *Croton grewioides* Baill. against Mexican bean weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 2, p. 179–182, 2008.

SILVA, R. S. DA; OLIVEIRA, M. M. G. DE; MELO, J. O. DE; BLANK, A. F.; CORRÊA, C. B.; SCHER, R.; FERNANDES, R. P. M. Antimicrobial activity of *Lippia gracilis* essential oils on the plant pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and their effect on membrane integrity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 160, p. 40-48, 2019.

SILVA, R. S.; de OLIVEIRA, M. M. G.; SILVA, K. P.; RODRIGUES, I. da S. V.; PINTO, V. dos S.; BLANK, A. F.; FERNANDES, R. P. M. Efeito sinérgico de *Cordia curassavica* Jacq. Associação de óleos essenciais contra o fitopatógeno *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. **Environ Sci Pollut**, v. 27, p. 4376-4389, 2020.

SIQUEIRA, I. B.; BARBOSA, A. A. T.; JAIN, S.; FERNANDES, R. P. M.; SILVA, A. R. S. T.; BARBOSA, F. H. F.; SCHIMIEGUEL, D. M.; BLANK, A. F.; SACRAMENTO, ANDREY G.; NIZIO, D. A. DE C.; DOLABELLA, S. S. *In vitro* Antibacterial Activity of Essential Oils of *Croton tetradenius* Baill. From the Brazilian Caatinga Biome and Its Synergistic Effect With Ciprofloxacin and Meropenem. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 1, p. 12-21, 2021.

TILMISINA, S.; POTNIS, N.; NEWBERRY, E. A.; LIYANAPATHIRANAGE, P.; IRUEGAS-BOCARD, F.; WHITE, F.F.; GOSS, E. M.; JONES, J. B. *Xanthomonas* diversity, virulence and plant pathogen interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, p. 415-427, 2020.

VIEIRA, J. F.; SOARES, V. N.; BARROS, A. C. S. A. **Podridão negra das brássicas – Doença mais que destrutiva**. 1. ed. Minas Gerais: Campo e Negócios, 2015. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/podridao-negra-das-brassicadas-doenca-mais-que-destrutiva/>, Acesso em: 24 dez. 2021.

WHITMAN, W. B.; RAINEY, F.; KÄMPFER, P.; TRUJILLO, M.; CHUN, J.; DEVOS, P.; HEDLUND, B.; DEDYSH, S. *Xanthomonas*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, v.1, p. 1-53, 2015.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais são alternativas viáveis ao uso de agroquímicos sintéticos e a espécie *Croton grewioides* Baill. apresenta potencial para este fim. O acesso CGR 108 apresentou atividade antibacteriana a partir da concentração $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A atividade antimicrobiana observada para este acesso está associada à alta concentração do composto eugenol em sua constituição.

O aumento das concentrações dos óleos essenciais de *C. grewioides* causa perda da viabilidade celular por meio de alterações estruturais da membrana citoplasmática bacteriana, culminando no aumento da permeabilidade desta. Este fato pôde ser comprovado por meio dos ensaios com iodeto de propídio (PI).

A identificação do eugenol como o composto majoritário responsável pela atividade antimicrobiana observada auxilia no delineamento de estratégias para a conservação, uso e melhoramento genético da espécie.