

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
BACHAREL EM ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton pulegioidorus* Baill DE
DIFERENTES LOCAIS DE COLETA E CONTROLE *IN VITRO* DE
FITOPATÓGENOS**

LUIZ ANTONIO SOUZA SANTANA

**Cruz das Almas – BA
Dezembro de 2022**

**TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton pulegioidorus* Baill DE
DIFERENTES LOCAIS DE COLETA E CONTROLE *IN VITRO* DE
FITOPATÓGENOS**

LUIZ ANTONIO SOUZA SANTANA

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Colegiado de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Profa. Dra. Franceli da Silva

Co-Orientadora: Profa. Dra. Leilane Silveira D'Ávila.

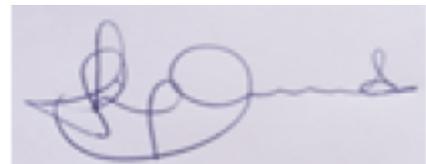
**Cruz das Almas – BA
Dezembro de 2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
BACHAREL EM ENGENHARIA AGRÔNOMICA**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE
CONCLUSÃO DE CURSO DE LUIZ ANTONIO SOUZA SANTANA**



Profa. Drª. Franceli da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
(Orientadora)



Profa. Drª. Cintia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB



Profa. Drª. Viviane Modesto Arruda
Universidade Estadual de Minas Gerais - UEMG

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo Dom da Vida por alimentar a minha fé e a paz no meu coração.
Aos meus pais Osvaldina e Antonio (in memoria) por todo o apoio e incentivo, emocional e financeiro, nesta jornada. Aos meus amigos e amigas. Obrigada por acreditar, por apoiar, por torcer, por sofrer e por sorrir junto comigo, sempre em todos os momentos. Amo vocês!

Aos amigos e amigas construídos nessa trajetória levarei para toda a vida.

As amigas Tainara e Rita, minha nova família construída.

Aos amigos que dividiram casa comigo.

As amigas Sinara e Gilvanda pela ajuda no meu trabalho, por terem sofrido e comemorado junto comigo, pela amizade, companheirismo e ensinamento, sempre dispostas para ajudar na construção desse trabalho e tira dúvidas sobre os diversos assuntos. Vocês foram essenciais nesta caminhada.

A minha Co-orientadora Profa. Leilane pela orientação. Sempre a disposição.

A minha orientadora Profa. Franceli por acreditar em nosso trabalho, pela orientação, e por ser essa profissional, verdadeiro exemplo.

Aos funcionários do bloco L, da recepção a limpeza, Dico e especialmente a Sinara e Gilvanda por toda ajuda e por ter proporcionado a realização deste trabalho.

Aos todos meus familiares e amigos pela torcida e apoio incondicional.

Meu muito obrigado!!!

RESUMO

TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton pulegiodorus* Baill DE DIFERENTES LOCAIS DE COLETA E CONTROLE *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS

As espécies de *Croton* nativas do Nordeste são conhecidas com as denominações populares de marmeleiros, canelas e velames e possuem óleos essenciais de interesse econômico, por ter ação antimicrobiana. Diversos fungos patogênicos são responsáveis por perdas produtivas na agricultura, tais como: o *Aspergillus sp.* e *Fusarium sp.* Portanto, propor inovações com óleo essencial no controle de fungos patogênicos torna se grande valia em agroecossistemas produtivos eficientes, pois geram produtos naturais que auxiliam na autorregulação da agricultura. O objetivo foi verificar o teor do óleo essencial de *Croton pulegiodorus* e a atividade *in vitro* no controle dos fitopatógenos *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum sp. cubense*. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fotoquímica no bloco L do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas/CCAAB, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/UFRB. Os óleos essenciais foram extraídos em aparelho clevenger, pelo método da hidrodestilação, por 2,5 horas. Foram realizados ensaios *in vitro* (teste de inibição do crescimento micelial) com diferentes concentrações do óleo essencial de *Croton pulegiodorus* (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 12 $\mu\text{L.mL}^{-1}$) verificando o efeito direto dos tratamentos sob os fungos. Os dados obtidos foram analisados utilizando o software R statistical. O teor do óleo essencial do *Croton pulegiodorus* foi de 2,56 %. Nos ensaios antifúngicos os fitopatógenos *A. welwitschiae* e *F. oxysporum* apresentaram a concentração mínima inibitória (CIM) de 4 e 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. *A. welwitschiae* submetido ao método dos voláteis, o melhor resultado foi obtido na concentração de 12 μL . No método de difusão em meio, os melhores resultados de efeito fungistático foram observados na concentração de 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para os dois fitopatógenos. A ação fungicida foi obtida na concentração de 4 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ em ambos fitopatógenos. A inibição completa dos fungos em contato direto com o óleo essencial diluídos em meio BDA foi de 4 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ nos dois fitopatógenos. Os teores dos óleos essenciais foram influenciados pelas localidades de coleta e pela intensidade luminosa. Os resultados obtidos indicam que o óleo essencial de *Croton pulegiodorus* tem ação antimicrobiana no controle dos fitopatógenos que causam a Podridão vermelha do sisal e a Fusariose em bananeiras.

Palavras-chave: velame, inovação, bioativos, ação fúngica.

ABSTRACT

ESSENTIAL OIL CONTENT OF *Croton pulegioidorus* Baill FROM DIFFERENT COLLECTION PLACES AND CONTROL IN PHYTOPATHOGENS IN VITRO

The *Croton* species originating in the Northeast are known with the popular names of limb, cinnamon and candles and poseen essential oils of economic interest, due to their antimicrobial action. Various pathogenic fungi are responsible for production losses in agriculture, such as: *Aspergillus* sp. and *Fusarium* sp. Therefore, proposing innovations with essential oil in the control of pathogenic fungi becomes of great value in efficient productive agroecosystems, since they generate natural products that help in the self-regulation of agriculture. Thus, the study aimed to verify the essential oil content of *Croton pulegioidorus* and the in vitro activity in the control of phytopathogens *Aspergillus welwitschiae* and *Fusarium oxysporum* sp. cubense. The work was carried out at the Photochemical Laboratory of block L in Center for Agricultural, Environmental and Biological Sciences/CCAAB, of the Federal University of Recôncavo da Bahia/UFRB. The essential oils were extracted in a Clevenger apparatus, using the hydrodistillation method, for 2.5 hours. In vitro tests were carried out (mycelial growth inhibition test) with different concentrations of essential oil of *Croton pulegioidorus* (0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0 and 12 $\mu\text{L.mL}^{-1}$) proving the direct effect of the treatments on the fungi. The data obtained were analyzed using the statistical software R. The essential oil content of *Croton pulegioidorus* was 2.56%. In the antifungal assays, the phytopathogens *A. welwitschiae* and *F. oxysporum* present a minimum inhibitory concentration (MIC) of 4 and 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. *A. welwitschiae* subjected to the volatile method, the best result is obtained at a concentration of 12 μL . In the method of diffusion in medium, the best results of fungistatic effect were observed in the concentration of 2.0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for the two phytopathogens. The fungicidal effect is obtained at a concentration of 4 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ in both phytopathogens. Complete inhibition of fungi in direct contact with essential oil diluted in PDA medium was 4 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for both phytopathogens. The levels of essential oils were influenced by collection locations and light intensity. The results obtained indicate that the essential oil of *Croton pulegioidorus* is effective in the control of phytopathogens that cause red pudrición del Sisal and fusariosis in banana.

Keywords: dose, innovation, bioactives, fungal action.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Aspectos e estruturas botânicas do <i>Croton pulegiodorus</i> . Inflorescência feminina (A); fruto (B) | 13 |
| Figura 2: Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos especiais na planta..... | 16 |
| Figura 3: Esquematização dos mecanismos de ação dos óleos essenciais na célula bacteriana (Adaptado de NAZZARO et al., 2013) | 28 |
| Figura 4: Mapa de localização das coletas das amostras de <i>Croton pulegiodorus</i> Baill em Saúde-BA, 2022..... | 24 |
| Figura 5: Mapa de localização das coletas das amostras de <i>Croton pulegiodorus</i> Baill em Santa Terezinha-BA, 2022..... | 25 |
| Figura 6: Dados meteorológicos nos dias das coletas na localidade de Riacho, Saúde-BA. (A) Precipitação (mm); Temperatura Máxima (°C); Temperatura Mínima (°C); Umidade Relativa (%) e Velocidade do Vento (m.s ⁻¹). (B) Radiação Solar (KJ.m ⁻²). Fonte: Plataforma de monitoramento SEIA-BA..... | 32 |
| Figura 7: Efeito de diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Croton pulegiodorus</i> pela técnica de exposição aos voláteis, no índice de velocidade de crescimento micelial (cm.dia ⁻¹) (A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) (B); Números de esporos.mL ⁻¹ (C); Tamanho da colônia (D) do fitopatógeno <i>Aspergillus welwitschiae</i> | 39 |
| Figura 8: Efeito do óleo essencial de <i>Croton pulegiodorus</i> Baill pela técnica de diluição em meio de cultura na porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) (A); Índice de velocidade de crescimento micelial (cm.dia ⁻¹) (B); Números de esporos.mL ⁻¹ (C); Tamanho da colônia (D) do fitopatógeno <i>Aspergillus welwitschiae</i> . ATF – Antifúngico..... | 42 |
| Figura 9: Efeito do óleo essencial de <i>Croton pulegiodorus</i> Baill pela técnica de diluição em meio de cultura na porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) (A); Índice de velocidade de crescimento micelial (cm.dia ⁻¹) (B); Números de esporos.mL ⁻¹ (C); Tamanho da colônia (D) do fitopatógeno <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> | 45 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Coordenadas geográficas dos pontos de coletas no município de Saúde-BA, 2022..... | 24 |
| Tabela 2: Coordenadas geográficas do ponto de coleta no município de Santa Terezinha-BA, 2022..... | 25 |
| Tabela 3: Teor de óleo essencial de amostras de <i>Croton pulegioidorus</i> coletadas em diferentes locais. | 30 |
| Tabela 4: Teor de óleo essencial de amostras de <i>Croton pulegioidorus</i> coletadas na mesma localidade..... | 31 |
| Tabela 5: Teores de Fenólicos e Flavonoides Totais de amostras de <i>Croton pulegioidorus</i> coletadas em diferentes períodos..... | 35 |
| Tabela 6: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial de <i>Croton pulegioidorus</i> Baill. contra o fungo <i>Aspergillus welwitschiae</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> | 36 |

Sumário

| | |
|---|----|
| 1.0 INTRODUÇÃO | 10 |
| 2.0 REVISÃO DE LITERATURA | 12 |
| 2.1 <i>Croton pulegiodorus</i> Baill | 12 |
| 2.2 Óleos essenciais | 14 |
| 2.3 Influência de fatores abióticos na biossíntese de óleo essencial | 15 |
| 2.4 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais | 17 |
| 2.5 Fusariose em Bananeira | 19 |
| 2.6 Podridão vermelha do sisal | 21 |
| 3.0 OBJETIVOS | 22 |
| 3.1 Geral | 22 |
| 3.2 Específicos | 23 |
| 4.0 METODOLOGIA | 23 |
| 4.1 Coleta do Material vegetal | 23 |
| 4.2 Extração e determinação do teor de óleo essencial de <i>Croton pulegiodorus</i> | 25 |
| 4.3 Preparação do extrato | 26 |
| 4.4 Determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais | 26 |
| 4.5 Avaliação microbiológica | 27 |
| 4.5.1 Obtenção dos Microrganismos | 27 |
| 4.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) | 27 |
| 4.5.3 Determinação da concentração fungicida mínima (CFM) | 28 |
| 4.5.4 Análise de crescimento micelial | 28 |
| 4.5.5 Índice de velocidade de crescimento | 29 |
| 4.5.6 Número de esporos | 29 |
| 4.6 Análises estatísticas | 30 |
| 5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 30 |
| 5.1 Teor do óleo essencial | 30 |
| 5.2 Teores de Fenólicos e Flavonoides | 34 |
| 5.3 Ensaio antifúngicos | 36 |
| 6.0 CONCLUSÕES | 43 |
| 7.0 REFERÊNCIAS | 44 |

1.0 INTRODUÇÃO

O gênero *Croton* é o segundo mais extenso entre as Euphorbiaceae, possui aproximadamente 1250 espécies conhecidas, onde 68 espécies podem ser encontradas no bioma brasileiro da Caatinga (SILVA et al., 2010; COSTA FILHO et al., 2012; CORDEIRO et al., 2015). Este gênero possui um perfil químico diverso com metabólitos especiais que incluem terpenóides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenóides), esteróides, alcalóides e outros compostos fenólicos, além de potencial econômico significativo, tornando-o uma fonte de estudos sobre seus compostos bioativos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007; DÓRIA et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013; XU; LIU; LIANG, 2018).

Devido a essa grande quantidades de ativos, diversos estudos demonstram que o uso de produtos e processos a base de óleos essenciais de plantas do gênero *Croton* torna-se uma possibilidade para uma agricultura autorregulável, pois seus óleos essenciais são uma excelente alternativa ao combate a microrganismos, por serem fonte de extensa diversidade e quantidades de componentes bioativos, a exemplo dos monoterpenos que possuem propriedades antifúngicas, antibacterianas e antibiofilme comprovadas com diferentes mecanismos de ação. (MEDEIROS et al., 2017; NADER et al., 2018; MIRANDA et al., 2019; ALMEIDA; PEREIRA et al., 2019; SANTOS et al., 2022; ROCHA et al., 2021; DA SILVA, 2019; ANJOS, 2018). Vários trabalhos na literatura têm mostrado o potencial desse gênero por ser uma fonte de compostos fenólicos com ação antifúngica. Nesse sentido uma das espécies se destaca por ser endêmica da região Nordeste do Brasil, é o *Croton pulegiodorus*, planta rica em metabolitos especiais, que pode ser encontrada na Caatinga nos estados do Ceará, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Bahia e Sergipe (CARNEIRO; TORRES, 2009).

Estudos realizados afirmam que diversos fatores ambientais, como clima, solo, estações do ano, forma de plantio, adubação, uso de agrotóxicos, irrigação, tempo e condições ambientais, material da colheita fresco ou seco, técnica de extração, padrões de variação geográfica podem afetar a composição química e no teor dos óleos essenciais (FRANCO et al., 2005; OLIVEIRA et al. 2005; APEL et al., 2006; ASEKUN et al., 2006; CARVALHO FILHO et al., 2006; POTZERNHEIM et al., 2006; TELCI et al., 2006; SEFIDKON et al. 2007). Assim sendo, a procura

por propriedades antimicrobianas em óleos essenciais de plantas tem se intensificado (YAP et al., 2014).

Mais de 10.000 espécies de fungos conhecidas atualmente podem causar doenças em plantas, além da destruição da planta e limitação da produção produzem micotoxinas que chegam a gerar 25% de perdas em produtos agrícolas no mundo (PANDEY et al., 2017). Entre estes os gêneros *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp. são considerados importantes fitopatógenos de plantas no mundo, causando doenças como o Mal do Panamá em bananeiras e a Podridão vermelha do sisal (ELLIS et al., 2014).

Algumas doenças fitopatológicas como a Murcha de Fusarium ou Mal-do-Panamá que acomete a cultura da bananeira, tem causado prejuízos econômicos aos bananicultores há mais de um século. O estado da Bahia se destaca por ser o segundo maior produtor do País. Ela é uma das principais doenças fúngica que ocorrem na cultura, sendo causada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) (BATISTA et al., 2018). Uma nova variação do Foc denominada raça 4 tropical (TR4) tem causado grandes preocupações, por conta que recentemente foi detectada na Colômbia e no Brasil ainda não existe cultivares de bananeira resistentes a esse patógeno.

Outra que merece destaque é a Podridão Vermelha do Sisal, que na última década, observou-se um decréscimo na produtividade de sisal no sertão da Bahia devido à doença. Esta doença encontra-se disseminada em quase todos os plantios, proporcionando perdas de até 35% (COUTINHO et al., 2006). Seu agente causal é o fungo saprofítico oportunista *Aspergillus welwitschiae*, que se comporta como patógeno necrotrófico causando sintomas como o amarelecimento e murcha das folhas que evolui para a podridão do caule e morte da planta (DUARTE et al, 2018).

A utilização de fungicidas químicos compreende a principal estratégia para controle destes fitopatógenos tanto no campo como no armazenamento. Com o surgimento de microrganismos resistentes e a necessidade de maior segurança, o desenvolvimento de novas tecnologias alternativas para controle de doenças e pragas têm crescido atualmente (PANDEY et al., 2017).

Desse modo, testar a ação do óleo essencial de *Croton pulegiodorus* no controle de fungos fitopatogênicos de culturas com importância econômica, tais como o *Aspergillus welwitschiae*, causador da podridão vermelha do sisal, e o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal do mal do Panamá em bananeira, pode ser de grande valia, na geração de novos produtos naturais. Assim, objetivou-se avaliar o teor de óleo essencial de *Croton pulegiodorus* Baill em diferentes locais de coleta, e a atividade antifúngica do mesmo no controle de *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Croton pulegiodorus* Baill

A Euphorbiaceae está entre as famílias com maior valor econômico em vários setores, como o industrial, madeireiro, ornamental, alimentício, cosmético, e especialmente no setor farmacológico-medicinal (OLIVEIRA, 2013). Dentre os diversos gêneros, destaca-se o *Croton*, distribuído nos mais variados tipos de vegetações e habitats, especialmente nos trópicos. Sendo que a maioria dos seus representantes ocorre nas Américas (MACIEL et al., 2006; NASIB et al., 2008; SILVA et al., 2010).

O segundo gênero mais extenso de Euphorbiaceae, *Croton* possui aproximadamente 1250 espécies conhecidas, onde 68 espécies podem ser encontradas no bioma brasileiro da Caatinga (SILVA et al., 2010; COSTA FILHO et al., 2012; CORDEIRO et al., 2015). Este gênero possui um perfil químico diverso, com metabólitos especiais que incluem, terpenóides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenóides), esteróides, alcalóides e compostos fenólicos, tornando-o uma importante fonte de estudos sobre compostos naturais bioativos, além de apresentar um potencial econômico significativo, (CAMURÇA; VASCONCELOS et al., 2007; DÓRIA et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013; XU; LIU; LIANG, 2018).

Uma espécie que se destaca é a *Croton pulegiodorus* Baill (Figura 01), espécie endêmica do bioma Caatinga, frequentemente encontrada nos estados do

Nordeste, como Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe (SILVA et al., 2010; CARNEIRO; TORRES et al., 2011). É popularmente conhecida como “velaminho” ou “velame do campo”, “barba de bode” (MACHADO et al., 2012; CARVALHO et al., 2016). Possui limbo com margem serrilhada, glândulas em sua base ou no ápice do pecíolo e flores pistiladas com 1-3 mm de comprimento. Possui filotaxia predominantemente alterna, às vezes opostas. As inflorescências são terminais, tirsóides e contínuas. O fruto é em cápsula, geralmente orbicular. As sementes são carúnculadas, lisas, com a face dorsal convexa, variando de paleáceas, castanho-alaranjadas, marrons a enegrecidas (SILVA et al., 2010; CARNEIRO; TORRES et al., 2011).

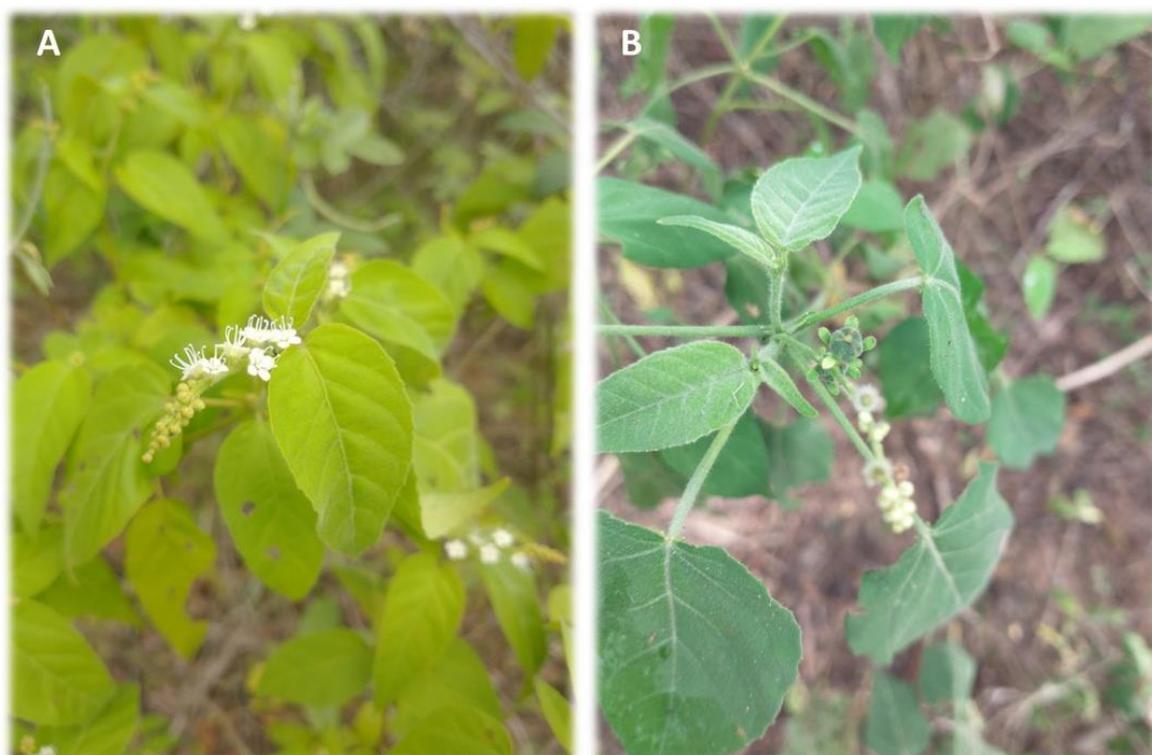


Figura 1: Aspectos e estruturas botânicas do *Croton pulegiodorus*. **A** – Inflorescência feminina; **B** – fruto. Foto: próprio autor

A planta se apresenta como subarbusto, tendo entre 0,3 – 1,0 metros de altura. Exala um odor característico devido a presença de ácido caprílico ou octanoico que possui características bactericida e antifúngica (SILVA, 2006; KIM; RHEE, 2016).

Muitas espécies do gênero *Croton* apresentam uso reconhecido na medicina popular por serem utilizadas contra inflamações, problemas gástricos e intestinais,

febre, câncer e outras doenças. Sendo que muitas delas têm se destacado por apresentar diversas propriedades farmacológicas já comprovadas cientificamente. Além disso, muitos produtos medicinais derivados de espécies de *Croton* apresentam destaque econômico atribuídos aos óleos essenciais, os quais são utilizados em setores industriais na produção de diferentes produtos comerciais (TRINDADE; LAMEIRA, 2014).

2.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são produtos resultantes do metabolismo secundário (ou metabolismo especial) dos vegetais, obtidos a partir de plantas inteiras e/ou partes, como sementes, flores, folhas, cascas, frutos, entre outras. Tratam-se de misturas complexas de compostos voláteis e aromáticos, porém em temperatura ambiente possuem aspecto oleoso. São incolores com variações para o amarelo, possuem característica lipofílica, geralmente com baixo peso molecular, porém em alguns casos podem apresentar alta densidade, como os óleos da canela e cravo, mais densos que a água. A *International Standard Organization* (ISO) define os óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de planta mediante destilação por arraste com vapor d'água (KNAAK; FIUZA, 2010).

Tais substâncias podem apresentar propriedades biológicas, ou seja, exercerem atividades sobre seres humanos, animais e outras plantas. Diferentemente dos metabólitos primários que são comuns a todo o reino vegetal, como açúcares, nucleotídeos, aminoácidos e outras moléculas, os óleos essenciais estão distribuídos de maneira restrita a um grupo ou uma espécie específica (BIZZO et al., 2009; BASER; BUCHBAUER, 2010; FELIPE; BICAS, 2016).

Os componentes dos óleos essenciais podem ser derivados dos terpenoides, sintetizados pela via do ácido mevalônico-acetato formado pela redução do 3-hidroxi-3-metilglutaril-Coa (HMG-CoA) que é composto pela condensação de três moléculas de acetoacetil-CoA; e os derivados dos fenilpropanoides, compostos aromáticos, formados via ácido chiquímico. Existe uma relação estreita entre essas rotas com a síntese dos metabólitos primários, uma vez que essa produção promove a síntese de moléculas precursoras para as principais rotas de produção dos compostos especiais (BASER; BUCHBAUER, 2010; SILVA, et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013; FELIPE; BICAS, 2016).

Na região Nordeste do Brasil, várias pesquisas (VASCONCELOS, 2022; ROCHA et al., 2021; ARAÚJO FILHO et al., 2017; BRITO et al., 2018; DA SILVA, 2019; ANJOS, 2018; COSTA et al., 2008;) vêm sendo desenvolvidas na flora da Caatinga com o objetivo de fornecer comprovação científica da importância de produtos naturais extraídos de plantas da família Euphorbiaceae, especialmente o gênero *Croton*, focados na composição química, efeitos sazonais e atividade biológica do óleo essencial (ALBUQUERQUE et al., 2020).

A literatura relata diversos efeitos biológicos para o óleo essencial de *Croton pulegioidorus*. Nesse sentido, de acordo com Silva (2006), o óleo essencial de *Croton pulegioidorus* é constituído majoritariamente por p-cimeno (22,3%), ascaridol (17%) e cânfora (13%) lhe conferindo ação inseticida sobre larvas do *A. aegypti* (TORRES, 2008; MAGALHÃES et al., 2015). Dória et al. (2010), avaliando a atividade larvicida de duas espécies de *Croton* do Nordeste brasileiro contra *A. aegypti*, verificou que o óleo essencial de *C. pulegioidorus*, é rico em β -cariofileno (20,9%), biciclogermacrene (16,8%) e germacrene-D (10,5%), e possuía ação tóxica para as larvas testadas.

Em outro estudo, avaliando a ação carrapaticida do óleo essencial de folhas de duas espécies de *Croton*, *C. pulegioidorus* apresentou os melhores resultados contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*. com composição rica em p-cimeno (23,13%) e ascaridol (22,5%) (CASTRO et al., 2019). Rocha et al. (2021), verificou que os componentes majoritários no óleo essencial de *C. pulegioidorus* foram trans-Acetato de crisantenila (27,05%), α -terpineno (19,21%) e o-cimeno (12,27%), como também avaliou a atividade antibacteriana contra isolados de *Staphylococcus aureus*. Carvalho (2022), em seu estudo com óleo de *C. pulegioidorus* apresentou os constituintes majoritários ascaridol (47,99%), p-cimeno (10,92%) e cânfora (8,42%).

2.3 Influência de fatores abióticos na biossíntese de óleo essencial

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos especiais (Figura 02). De fato, os metabólitos especiais representam uma interface química entre as plantas e o ambiente (DORMAN;

DEANS, 2000; MORAIS, 2009; SOUSA; SOUSA, 2017). A presença de compostos fenólicos em plantas da Caatinga pode ser interpretada como adaptações ao ambiente semiárido, pois, considerando a alta incidência solar e a restrição hídrica nesse ambiente, a combinação das funções de proteção herbívora e fotodano, desempenhadas pelos compostos fenólicos, seria benéfica para as plantas, especialmente durante o período de seca. (BARROS; SOARES, 2013).

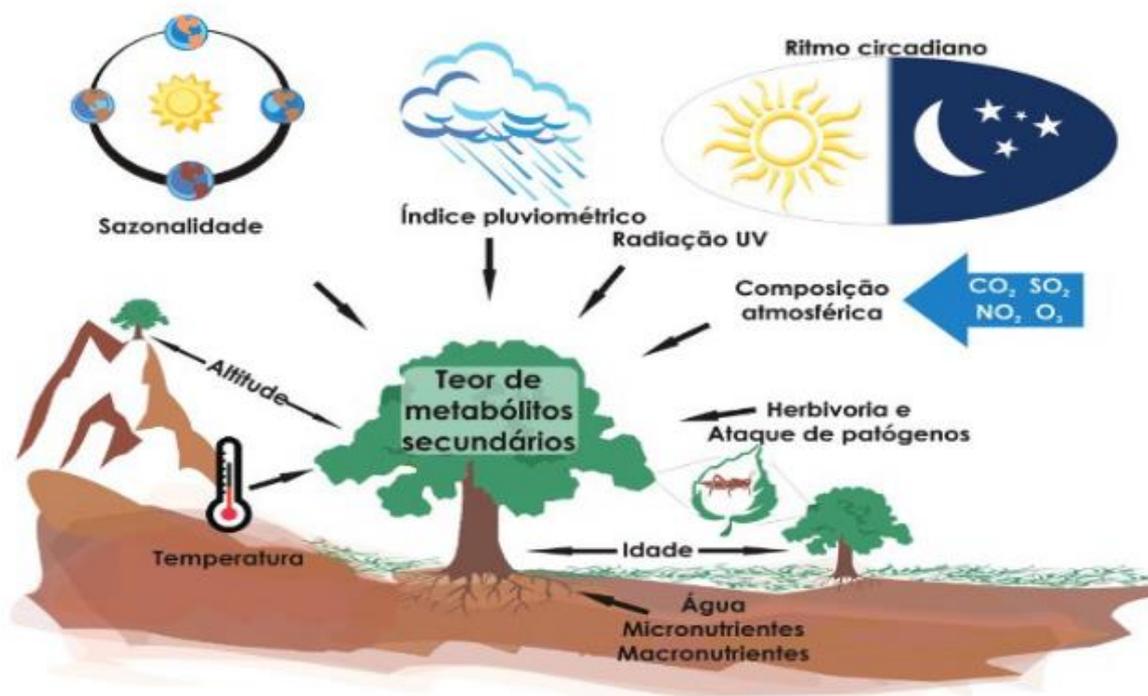


Figura 2: Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos especiais na planta. Fonte: GOBBO-NETO, LOPES, 2007.

O teor de um óleo essencial, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente de acordo com a época de coleta, condições climáticas (clima, estação do ano), solo (condições geográficas) e técnica usada para a extração (MACIEL et al., 2002; MORAIS, 2009; RIBEIRO et al., 2018). Os óleos essenciais de *Croton argyrophyloides*, *Croton jacobinensis* e *Croton sincorensis* apresentaram variação na composição química e no teor devido à mudança de temperatura ambiente e incidência solar (SOUZA et al., 2017b).

A temperatura e a luminosidade apresentam papel relevante na fotossíntese, pois a interação destes fatores garante um ambiente ideal para o processo fisiológico (SOUZA et al., 2008). Ainda que as espécies tenham se adaptado ao seu habitat natural, os vegetais são capazes de resistir a variações de temperatura. Estas variações são responsáveis pelas alterações na produção de metabólitos

especiais. Os óleos essenciais, apresentam um aumento em seu teor, na maioria das vezes, quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperatura mais elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos (MORAES, 2009).

A intensidade luminosa é um dos fatores que influencia na concentração bem como a composição dos óleos essenciais. Como exemplo, o desenvolvimento dos tricomas glandulares (estruturas vegetais que biossintetizam e armazenam o óleo essencial) são processos dependentes de luz (MORAES, 2009). A maior produção de metabólitos especiais sob altos níveis de radiação solar é explicada devido ao fato de que as reações biossintéticas são dependentes de suprimentos de esqueletos carbônicos, realizados por processos fotossintéticos e de compostos energéticos que participam da regulação dessas reações (TAIZ; ZEIGER, 2013).

2.4 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais (OEs) está relacionada com sua composição, configuração estrutural, grupos funcionais e a sinergia entre os seus compostos (DORMAN; DEANS, 2000). A composição química complexa dos OEs confere-lhes propriedades antimicrobianas únicas, caracterizadas pela utilização de diversos mecanismos de ação em simultâneo, evitando o *quorum sensing* bacteriano e resistência microbiana (NAZZARO et al., 2013).

O estudo dos efeitos sinérgicos entre OEs e/ou seus componentes químicos podem ser utilizado tanto para melhorar a sua atividade antimicrobiana quanto para reduzir as concentrações necessárias para alcançar um efeito antimicrobiano (NAZZARO et al., 2013).

O modo de ação dos OEs ainda não se encontra completamente conhecido devido aos diferentes fenômenos que estes causam nas células microbianas (TALBAOUI, et al., 2012). Na figura 03 encontra-se esquematizado o conjunto de mecanismos antibacterianos mais comuns observados quando a bactéria é exposta a OEs. Vários autores descrevem como principal mecanismo de ação dos OEs a desestabilização da membrana celular (DAGLI et al., 2015; RAUT; KARUPPAYIL, 2014; TALBAOUI et al., 2012). O caráter lipofílico juntamente com o caráter hidrofílico dos OEs, que é atribuída pela presença de terpenos, é um fator

importante na sua ação antimicrobiana, uma vez que lhes permite atravessar a membrana, podendo interagir com o conteúdo intracelular (GUTIERREZ et al., 2009). O modo de ação específico é dependente da constituição química dos OEs, bem como dos grupos funcionais das substâncias que os constituem (DAGLI et al., 2015).

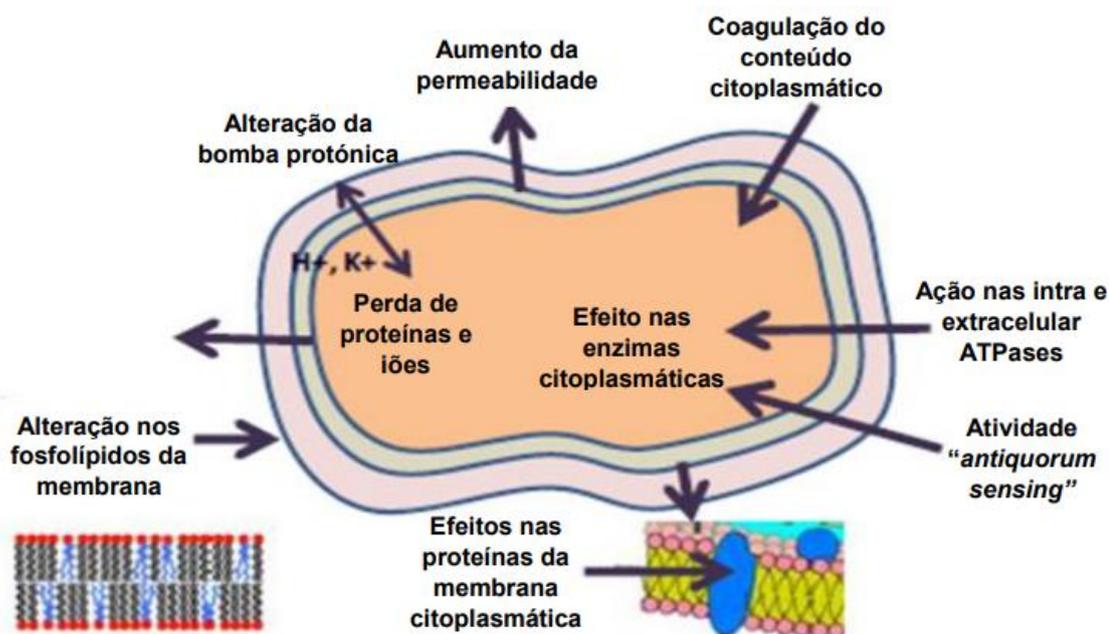


Figura 3: Esquemática dos mecanismos de ação dos óleos essenciais na célula bacteriana (Adaptado de NAZZARO et al., 2013).

De modo geral, os mecanismos de ação dos OEs incluem a deterioração da membrana, aumento da permeabilidade na membrana, coagulação do conteúdo citoplasmático, alterações ao nível da bomba protônica, redução do potencial de membrana e perda do conteúdo intracelular. Parte dos mecanismos de ação dos OEs podem ocorrer em consequência de outro mecanismo anterior, alterações intracelulares após mecanismos de deterioração da membrana (BURT, 2004; NAZZARO et al., 2013). Adicionalmente, alguns OEs apresentaram também a capacidade de desestabilizar o sistema designado frequentemente por “*quorum sensing*” bacteriano, o qual está associado à redução da produção de estímulos bacterianos e, conseqüentemente, reduz a capacidade de o microrganismo se adaptar ao ambiente a que se encontra exposto (NAZZARO et al., 2013; ADONIZIO et al., 2006; MARTINO et al., 2009; MILLEZI et al., 2012).

Diversos são os modos de ação antifúngica dos OEs, segundo Cristani et al. (2007) o principal mecanismo dos monoterpênicos é causar danos a membrana celular fúngica; através de observações microscópicas eletrônicas e teste de vazamento de íons foi possível identificar que o alvo fúngico do óleo essencial de *Mentha spicata* sobre *A. flavus* foi a membrana plasmática (KEDIA et al., 2016).

Diante dos impactos que o intenso uso de fungicidas sintéticos pode causar ao ambiente ou acarretar resistência do microrganismo, a utilização dos OEs passou a ser um dos métodos com grande potencial no controle de fitopatógenos (TICO et al., 2019).

2.5 Fusariose em Bananeira

A banana '*Musa acuminata*' está entre as frutas mais consumidas mundialmente, sendo altamente nutritiva, saborosa e acessível financeiramente, apresentando grande diversidade de consumidores (BARROS et al., 2008). O consumo no Brasil chega a 25 kg/ano por indivíduo, sendo a 2ª fruta com maior consumo e produção, atrás apenas de frutos cítricos (Anuário Brasileiro De Fruticultura, 2017), apresenta baixo custo de cultivo e produção, ao efetuar comparações com outras espécies frutíferas (GASPAROTTO; PEREIRA, 2010).

O Brasil é o quarto maior produtor de banana do mundo, ficando atrás apenas da Índia, China e Indonésia. Mas praticamente tudo que é produzido é destinado ao mercado interno, sendo exportado apenas 1%. O estado de São Paulo é o maior produtor de banana com 1 milhão de toneladas e participação de 15,3% do total Brasil. Em segundo lugar aparece a Bahia, com 878,5 mil toneladas. Seguindo por Minas Gerais (801,7 mil/ton) e Santa Catarina (714,3 mil/ton) (CNA, 2021).

O 'mal-do-Panamá', também conhecida como Fusariose ou Murcha de *Fusarium* da bananeira, é uma doença endêmica em todas as regiões produtoras de bananas, sendo citada como uma das seis mais importantes doenças de plantas cultivadas, responsável por perdas econômicas na ordem de bilhões de dólares (PLOETZ, 2006).

Essa doença teve seus primeiros relatos por volta de 1876 na Austrália, mas só adquiriu notoriedade em 1904, no Panamá, quando os prejuízos foram substanciais, motivando a denominação dessa doença de mal do Panamá (PLOETZ; PEGG, 1999; PLOETZ; PEGG, 1997).

No Brasil, foi inicialmente observado em 1930, em Piracicaba, SP e, em apenas 3 a 4 anos, dizimou cerca de um milhão de plantas da cultivar 'Maçã' (CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005). Grandes áreas da cultivar 'Maçã' também foram dizimadas em outras regiões do estado de São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Espírito Santo (MATOS et al., 1998).

O cultivo da banana Maçã, variedades altamente suscetíveis e de grande aceitação popular, tem-se cada vez mais cedido espaço para as variedades do subgrupo Cavendish, que são resistentes. Essa doença tem causado grande preocupação, principalmente devido a ineficiência das medidas de controle e à constatação da raça 4 do patógeno em alguns países, com a capacidade de afetar as variedades resistentes do subgrupo Cavendish (AMORIM et al., 2016).

O mal-do-Panamá é a doença vascular gerada pelo fungo do solo, *Fusarium oxysporum*, sendo o mesmo responsável por comprometer a produtividade da bananeira, causando amarelecimento e murcha de plantas (SAMPAIO et al., 2012).

O seu controle é dificultoso, haja visto que o fungo apresenta grande capacidade de sobrevivência em restos de cultura, como parasita em hospedeiros nativos e no solo a partir de estruturas de resistência chamadas de clamidósporos (AGRIOS, 2005). O surgimento de fungicidas sistêmicos trouxe uma nova perspectiva sobre a obtenção de mudas sadias através de tratamentos químicos (SILVA, 2007). O uso de defensivos agrícolas é um método comum, contudo, o controle químico é limitado, uma vez que o patógeno fica no solo, não sendo possível atingir o alvo. Desse modo o tratamento químico é uma forma paliativa. Embora a utilização desses produtos apresente uma solução para a produção de algumas cultivares de bananas, ela pode causar danos à saúde e ao ambiente, como a contaminação da água, solo, alimentos e animais (PRIMAVESI, 1997).

Nesse sentido, a implantação de diferentes medidas de controle, tais como resistência varietal, rotações de culturas, solarização, produtos naturais não convencionais e controle biológico são importantes para a manutenção e aumento da produção agrícola de forma segura e sustentável (FERRAZ et al. 2010; LIMA et al. 2017). Dessa maneira, identifica-se a necessidade por avanços metodológicos em relação ao uso de métodos de controle de fitopatógenos que sejam mais alternativos e integrados. Os métodos de controle alternativos, incluindo controle biológico, cultural e produtos fitoterápicos como extratos e óleos essenciais têm sido pesquisados com êxito em alguns estudos (SILVA et al. 2010).

2.6 Podridão vermelha do sisal

O sisal (*Agave sisalana* Perrine ex. Engelm) é uma planta com origem no México, mas que se adaptou muito bem ao semiárido nordestino. Até onde se tem conhecimento ela possui a fibra vegetal mais dura, é usada na produção de cordas e fios biodegradáveis, além de tapetes, artesanatos e vários outros produtos. Atualmente o maior produtor no Brasil é o estado da Bahia, seguido pela Paraíba e pelo Rio Grande do Norte. Mas isso já foi diferente no passado, quando o RN, junto com a Paraíba eram os maiores produtores (SENAR, 2020).

O sisal é uma cultura com enorme importância social e econômica na região semiárida da Bahia, sendo base da agricultura familiar em muitos municípios, pela fácil adaptação desta planta a região semiárida, tornando-se muitas vezes a única espécie cultivada em grande escala na maioria das propriedades rurais. Esta cultura permite a agregação de valores a populações de baixa renda nesses municípios, uma vez que gera renda pela venda local de produtos manufaturados, a exemplo do artesanato (bolsas, tapetes, chapéus, etc.) e pela exportação da fibra natural, que gera empregos diretos e indiretos (CONSOLI et al., 2009)

Entretanto, a produtividade do sisal nas últimas décadas tem caído muito. Em 1989, a produção brasileira chegou a 220.000 toneladas, e atualmente é de aproximadamente 82 toneladas no ano de 2021 (COSIBRA, 2022). O motivo do declínio na produção anual da fibra de sisal se deve a queda do preço da fibra, falta de investimento em tecnologia para a produção de sisal e beneficiamento da fibra e a disseminação da podridão vermelha, doença causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae* (SOARES et al., 2006), que causa a morte da planta e encontra-se disseminada em 100% dos plantios na Bahia, com incidência média variando de 5 a 40% (ALVES et al., 2005).

Este agente fitopatogênico está contribuindo para a diminuição contínua da plantação de sisal na região semiárida da Bahia, proporcionando o abandono das culturas devido à alta incidência da doença (GAMA et al., 2015). Este fungo possui crescimento aeróbico, é encontrado na serrapilheira e na matéria orgânica em decomposição e, além de sobreviver como saprófito, também é parasita de plantas (SCHUSTER et al., 2002).

A intensidade e severidade da doença pode estar, em alguns casos, relacionada ao tipo de solo e ou às práticas adotadas pelos produtores, no tocante à utilização de mudas, à colheita de folhas sem critério de seleção e à utilização de resíduos oriundo do processo de desfibramento da folha na adubação das lavouras (COUTINHO et al., 2006). Em alguns casos, o uso dos resíduos do próprio sisal vem sendo recomendado, para a adubação da lavoura ou como cobertura morta (LIMA et al., 2013).

Contudo, essa prática traz um risco para a disseminação da podridão vermelha, considerando que as folhas utilizadas para a extração da fibra, podem ser provenientes de plantas com sintomas da doença e podem ter lesões causadas pelo fitopatógeno. Dessa forma, os resíduos podem servir como fonte de inóculo e de disseminação da doença. Além disso, estudos demonstraram que o extrato da folha de sisal estimula a germinação dos esporos de *A. welwitschiae* e promove o aumento na incidência e severidade da podridão vermelha em condições de casa de vegetação (SOUZA, 2010).

Atualmente essa doença ainda não possui métodos de controle eficazes. O controle químico não pode ser adotado, seja pela falta de fungicidas registrados para a cultura ou pela inviabilidade por causa da elevação dos custos de produção. Portanto, atualmente, devem considerar algumas estratégias de manejo, como o uso de material propagativo sadio e a adequação dos tratos culturais.

Nesse contexto, o uso de bioprodutos a base de extratos e óleo essencial de plantas medicinais, para desinfestação de mudas de sisal, surge com uma alternativa para uma produção de mudas mais sustentáveis e que venha garantir o cultivo e estabelecimento da cultura no campo.

3.0 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o teor de óleo essencial extraído das folhas e inflorescências de *Croton pulegioidorus* Baill coletados em diferentes locais e a ação antifúngica no controle de *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

3.2 Específicos

- Verificar o teor do óleo essencial do *Croton pulegioidorus* Baill coletado em diferentes localidades;
- Verificar a influência de fatores climáticos na biossíntese do óleo essencial do *Croton pulegioidorus* Baill;
- Verificar os teores de fenólicos e flavonoides totais nos estratos das folhas do *Croton pulegioidorus* Baill;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Croton pulegioidorus* para os fungos fitopatogênicos testados;
- Determinar a concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial de *Croton pulegioidorus* para os fungos fitopatogênicos testados;
- Avaliar se o óleo essencial de *Croton pulegioidorus* reduz o crescimento micelial e a quantidades de esporos do fungo *Aspergillus welwitschiae* pelo método de exposição aos voláteis;
- Avaliar se o óleo essencial de *Croton pulegioidorus* reduz o crescimento micelial e a quantidades de esporos dos dois fungos fitopatogênicos pelo método de difusão em meio.

4.0 METODOLOGIA

4.1 Coleta do Material vegetal

O material vegetal para extração do óleo essencial foi coletado no município de Saúde-Ba, nas comunidades de Riacho, Mariquita e Nova Saúde (Figura 04), nas coordenadas geográficas (Tabela 01) e no município de Santa Teresinha-BA, na comunidade Campo Grande (Figura 05), nas coordenadas geográficas (Tabela 02). As coletas foram realizadas no período vespertino após as 16 hs, nos meses de Maio, Julho, Agosto e Outubro de 2022. A espécie foi identificada e a exsiccata foi depositada no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, sob o registro HURB 31195.

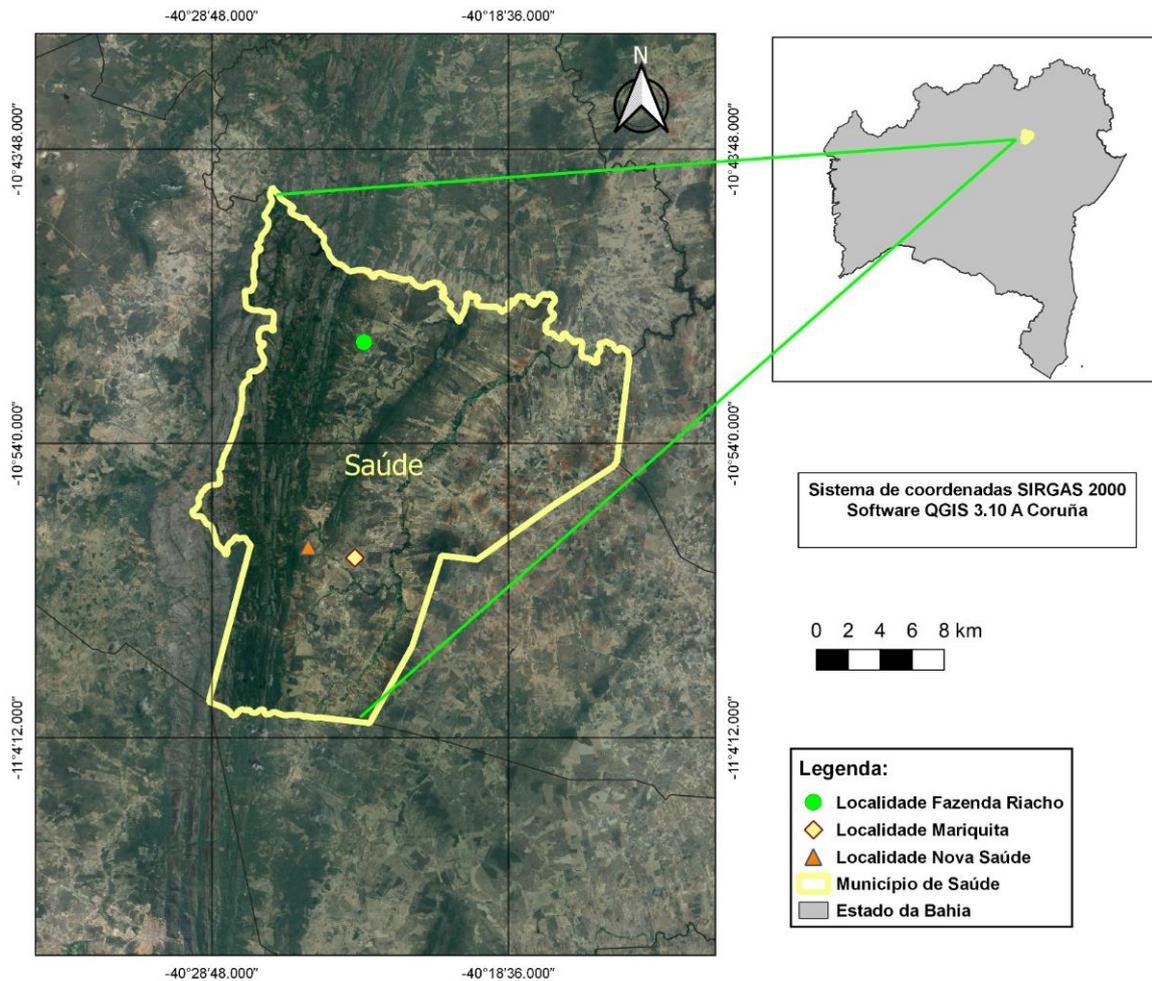


Figura 4: Mapa de localização das coletas das amostras de *Croton pulegiodoros* Baill em Saúde-BA, 2022. Fonte: Carvalho, 2022

Tabela 1: Coordenadas geográficas dos pontos de coletas no município de Saúde-BA, 2022.

| Localidade | Latitude | Longitude |
|------------|---------------|---------------|
| Riacho | 10°50'30.0" S | 40°23'33.4" W |
| Mariquita | 10°57'58.3" S | 40°23'52.4" W |
| Nova Saúde | 10°57'35.0" S | 40°25'28.8" W |

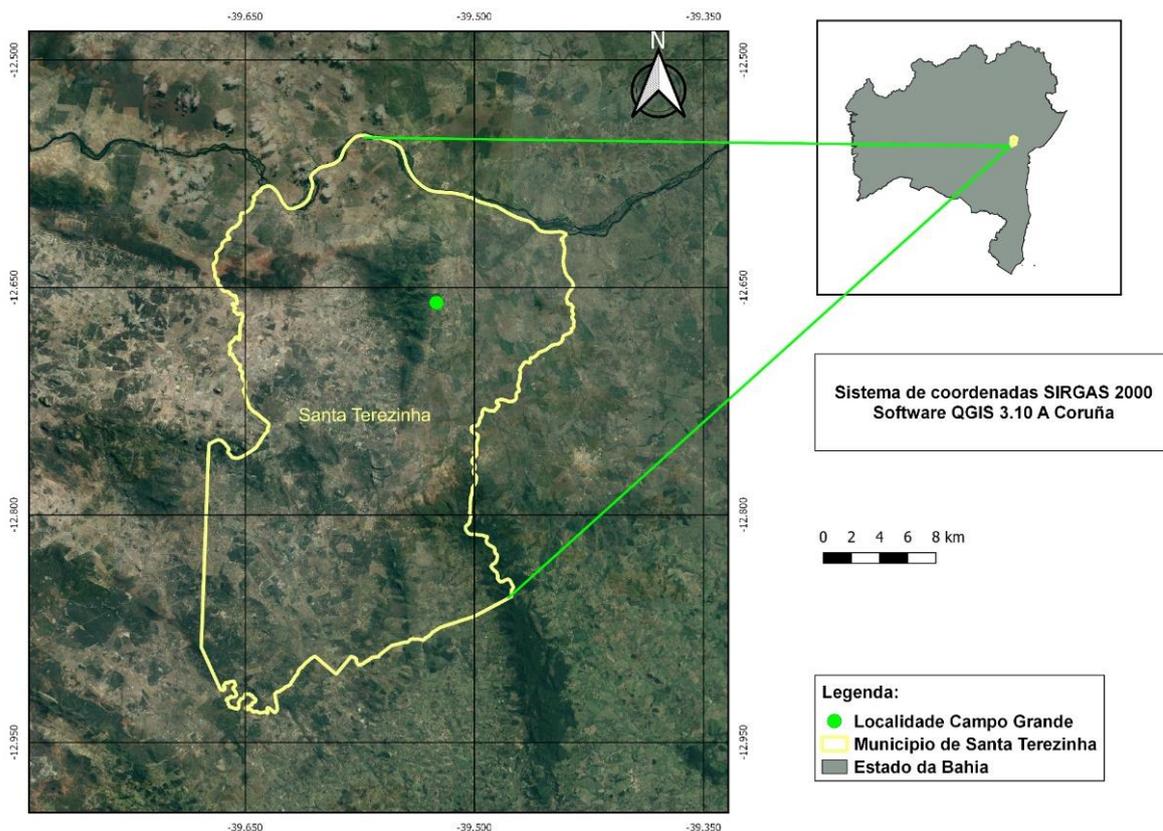


Figura 5: Mapa de localização das coletas das amostras de *Croton pulegiodorus* Baill em Santa Terezinha-BA, 2022. Fonte: Carvalho, 2022

Tabela 2: Coordenadas geográficas do ponto de coleta no município de Santa Terezinha-BA, 2022.

| Localidade | Latitude | Longitude |
|--------------|---------------|-----------------|
| Campo Grande | 12°39'36,3" S | 39° 31' 28,7" W |

4.2 Extração e determinação do teor de óleo essencial de *Croton pulegiodorus*

O estudo foi realizado no laboratório de fitoquímica do bloco L, localizado na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 45°C, até massa constante. A obtenção do óleo essencial foi pelo método de hidrodeslitação utilizando o aparelho Clevenger por 150 minutos após a condensação da primeira gota. 150g de folhas e inflorescências foram colocadas no balão volumétrico com capacidade para 2.000 ml onde posteriormente adicionou-se água destilada até que o material vegetal fosse coberto.

Neste sistema o material vegetal em contato com a água destilada é aquecido por uma manta térmica, ocorrendo um aumento da temperatura

gradativamente até os 100 °C, gerando um vapor que contém as substâncias voláteis presentes na planta. Este vapor gerado pelo aumento da temperatura no balão passou, em seguida, por um resfriamento no condensador da vidraria, formando ao final do processo duas fases líquidas que podem ser separadas, resultando no óleo essencial.

Em seguida, o óleo extraído foi coletado do aparelho com o uso da pipeta do tipo Pasteur, e pesado em balança analítica de alta precisão. O óleo foi armazenado em frascos de vidro com capacidade de 2 mL, identificados e armazenados sob refrigeração em geladeira a temperatura de 4°C ± 2°C e ao abrigo da luz, até a realização das análises. A determinação do teor do óleo essencial (%) foi calculado a partir da base livre de umidade, que corresponde ao volume (mL) de óleo essencial em relação a massa seca, pois é um método padronizado e pode ser repetido sem que haja desvios significativos (SANTOS et al., 2004), a partir da fórmula:

$$To = Vo / Bm - (Bm \times U/100) * 100$$

Onde: To = teor do óleo (%), Vo = volume do óleo extraído, Bm = biomassa vegetal, (Bm x U) = quantidade de umidade presente na biomassa e Bm - (Bm x U) = biomassa seca.

4.3 Preparação do extrato

A preparação do extrato de *Croton pulegiodorus* foi determinada usando a metodologia descrita por Moreira et al. (2022). A parte aérea do material vegetal foi triturada com o auxílio de um almofariz e pistilo. Cerca de 0,15 g do material foi pesado e foi adicionado o volume de 15 mL de solução de extração hidroalcoólica (50% v.v⁻¹). As amostras foram sonicadas em banho ultrassônico por 15 min.

4.4 Determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais

Os compostos fenólicos totais nos extratos de *Croton pulegiodorus* foram determinados pela metodologia descrita por Moreira et al. (2022), com algumas adaptações. 300 µL de extrato de amostra, 1 mL de saturado carbonato de sódio e 300 µL de reagente Folin-Ciocalteu foram adicionados. As leituras foram feitas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 765 nm, após 60 min de reação à temperatura ambiente e sem luz. Os testes foram realizados em triplicata. O

conteúdo total de compostos fenólicos foi calculado a partir da curva de calibração do ácido gálico e expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de massa seca.

A determinação de flavonoides totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por MARQUES et al. (2012), adaptado. 1,0 ml de extrato de *Croton pulegioidorus*, 2,0 mL de $AlCl_3$ em solução de etanol (5% m.v⁻¹) foram adicionados. O volume foi ajustado para 10,0 mL com uma solução hidroalcoólica (40% v.v⁻¹). A solução foi armazenada na ausência de luz por 30 min e, posteriormente, a leitura foi realizada em espectrofotômetro comprimento de onda de 408 nm. Os testes foram realizados em triplicata. Os flavonóides totais foram calculados a partir da curva de calibração de quercetina usada como padrão e expressa em miligramas de quercetina equivalentes por grama de matéria seca.

4.5 Avaliação microbiológica

4.5.1 Obtenção dos Microrganismos

Os microrganismos fitopatogênicos *Aspergillus welwitschiae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, foram obtidos da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia e da Clínica Fitossanitária do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Ambos foram reativados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) e incubado à uma temperatura de 28°C em BOD.

4.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi realizada através da técnica modificada de microdiluição descrita pelo M27-A2 da Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008) utilizando placas de 96 poços. As concentrações dos óleos essenciais foram de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0 $\mu L \cdot mL^{-1}$ para os dois microrganismos e quatro controles: 1- BD + microrganismo; 2- BD + Diluente Tween 20 (5%) + microrganismo; 3- BD+ Antifúngico (Ciclopirox de Olamina 400 $\mu L \cdot mL^{-1}$) + microrganismo e 4- BD puro. Foi adicionado 50 μL da suspensão de esporos do microrganismo numa concentração de 1×10^6 conídios. mL^{-1} em cada poço. Em seguida foi adicionado 200 μL de cada concentração, totalizando um volume final de 250 μL em cada poço. O experimento

foi realizado em triplicata e repetido duas vezes para confirmação dos resultados. A atividade antifúngica foi detectada após 72h de incubação a 28°C. Observando-se visualmente o crescimento fúngico comparado ao controle 1 e determinando através do CIM a menor concentração capaz de impedir o crescimento do microrganismo.

4.5.3 Determinação da concentração fungicida mínima (CFM)

Após o teste anterior da CIM, nos poços onde não foi possível visualizar o crescimento do inóculo, foi retirada uma alíquota do conteúdo, e fazer o subcultivo em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, suplementado com antibiótico. Após incubação por 48 horas, em BOD com temperatura à 28±2°C, foi considerada a CFM a menor concentração do óleo essencial em que o microrganismo não se desenvolveu.

4.5.4 Análise de crescimento micelial

Diluição em meio: nesse método o óleo essencial, foi previamente diluído em Tween 20® a 5% e adicionados ao meio de cultura BDA, nas concentrações 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, para os ensaios com *Fusarium Oxysporum* e as concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, para *Aspergillus welwitschiae*, essas concentrações do óleo essencial foram determinadas após a realização do teste CFM para os dois microrganismos. O óleo essencial diluído no Tween foi adicionado ao meio de cultura BDA, quando esse se encontrava na temperatura próxima ao ponto de solidificação.

Exposição aos voláteis: neste método foi realizada a exposição dos fungos aos voláteis presentes no óleo essencial, no centro da tampa da placa de Petri foi adicionado um disco de papel filtro estéril com o óleo essencial puro nas concentrações de 4, 8 e 12 μL além do controle com água destilada estéril (HONG et al., 2015). Na outra superfície da placa foi adicionado o meio de cultura do tipo B.D.A com as estruturas fúngicas.

Para avaliação dos diferentes tratamentos no crescimento micelial do fungo *Aspergillus welwitschiae*, foi retirado um pequeno fragmento da cultura com auxílio

de uma agulha hipodérmica e inserido no centro da placa de Petri de 7,5 cm de diâmetro e para o *Fusarium Oxysporum* foi retirado um disco de micélio com aproximadamente 5 mm de diâmetro e inserido no centro da placa de Petri de 5 cm de diâmetro, os tratamentos controle consistiram na inoculação do fungo em meio BDA, BDA com Tween 20® a 5% e antifúngico (Ciclopirox de Olamina 10 mg.ml⁻¹). As placas foram incubadas em câmara de BOD 28±2 °C. As avaliações foram realizadas após o crescimento total do microrganismo na placa controle BDA, onde foi medido o diâmetro em dois sentidos perpendiculares. A porcentagem de inibição decrescimento micelial (PICM) dos óleos essenciais em cada concentração foi calculada através da fórmula:

$$\text{PICM} = (\text{DTT}-\text{DTC}) / \text{DTT} *100$$

Onde: DTT= diâmetro no tratamento testemunha; DTC= diâmetro no tratamento concentração (ROYSE e RIES, 1977).

4.5.5 Índice de velocidade de crescimento

O índice de velocidade de crescimento micelia (IVCM), foi calculado conforme a seguinte fórmula de Oliveira (1991):

$$\text{IVCM} = [(\Sigma(D-Da))/N]$$

Sendo IVCM: índice de velocidade de crescimento micelial, D: diâmetro médio atual da colônia, Da: diâmetro médio da colônia do dia anterior, N: número de dias após a inoculação.

4.5.6 Número de esporos

A avaliação de número de esporos do *Aspergillus welwitschiae*, *Fusarium oxysporum*, foi realizada no final do experimento, após o crescimento total do microrganismo nas placas do controle. Sendo adicionado a cada placa de Petri 15mL de água destilada e duas gotas de Tween 20®, posteriormente foi feita a suspensão dos propágulos fúngicos e retirando-se uma alíquota com a ajuda de uma pipeta e realizou a contagem de esporos em câmara de Newbauer e microscópio óptico. O número de esporos produzidos foi expresso em números de esporos por mL.

4.6 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no software livre R versão 3.6.0 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2020), com os resultados da porcentagem de inibição de crescimento micelial, índice de velocidade de crescimento micelial e números de esporos aplicou-se o teste Shapiro-Wilk com a função base do Rstudio `shapiro.test` para verificar se os resíduos seguem uma distribuição normal. Porém, os resultados não seguiram uma distribuição normal, sendo necessário a utilização de testes não paramétricos.

Para comparação entre os dados, aplicou-se o teste de Kruskal Wallis com a função base do Rstudio `kruskal.test()`. Esse teste é uma alternativa não paramétrica análoga a análise de variância (ANOVA), pois ele é usado para comparar duas ou mais amostras independentes. A hipótese nula, H_0 , prever que as amostras são provenientes da mesma população com o mesmo formato de distribuição (VIRGILLITO, 2006). O teste de comparação múltipla de Nemenyi (análogo ao teste de Tukey) que consiste numa análise de comparação em pares com o objetivo de verificar se os fatores diferem entre si. Este teste foi aplicado através da função `kwAllPairsNemenyiTest()` utilizando o pacote `PMCMRplus` (POHLERT, 2014).

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teor do óleo essencial

Durando o estudo foi realizada 6 coletas de *Croton pulegioidorus* em 4 localidades diferentes. A extração do óleo essencial de cada amostra foi feita em separado. Após a obtenção dos óleos foi calculado o teor de cada coleta como pode-se observar na tabela 03.

Tabela 3: Teor de óleo essencial de amostras de *Croton pulegioidorus* coletadas em diferentes locais.

| Amostras | Localidades | PMS (g) | OE Extra (g) | Teor (%) |
|--------------------|--------------------------------|---------|--------------|--------------|
| 1ª | Campo Grande – Santa Terezinha | 100 | 2,0135 | 2,42 |
| 2ª | Riacho – Saúde | 100 | 2,0372 | 2,74 |
| 3ª | Nova Saúde – Saúde | 100 | 1,9545 | 2,35 |
| 4ª | Mariquita – Saúde | 100 | 2,2840 | 2,75 |
| Valor médio | | | | 2,565 |

PMS: peso massa seca do material vegetal; **OE Extra:** peso do óleo essencial extraído;

Na tabela 03 verifica se que, os teores foram diferentes entre as amostras, ocorrendo variação de 0,4% entre o maior e o menor teor. O maior teor foi observado na 4ª amostra (2,75%), da coleta na comunidade de Mariquita, agosto. O menor teor foi observado na 3ª amostra (2,35%), coleta na comunidade de Nova Saúde, também no mês de agosto.

Na tabela 04, segue os dados referente as 3 coletas na localidade de Riacho, no município de Saúde. O maior teor (3,07%), foi observado na coleta feita no mês de outubro, e o menor teor (2,24%), no mês de julho. Sendo que a diferença entre esses teores é de 0,83%.

Tabela 4: Teor de óleo essencial de amostras de *Croton pulegioidorus* coletadas na mesma localidade.

| Coletas | Localidades | PMS (g) | OE Extra (g) | Teor (%) |
|--------------------|----------------|---------|--------------|-------------|
| 1ª | Riacho – Saúde | 100 | 1,8464 | 2,24 |
| 2ª | Riacho – Saúde | 100 | 2,3866 | 2,90 |
| 3ª | Riacho – Saúde | 100 | 2,5506 | 3,07 |
| Valor médio | | | | 2,74 |

PMS: peso massa seca do material vegetal; **OE Extra:** peso do óleo essencial extraído;

Segundo Maciel et al., (2002) e Moraes (2009) o teor dos metabolitos especiais pode variar significativamente de acordo com a época de coleta, condições climáticas (clima, estação do ano), solo (condições geográficas).

Alguns fatores que podem explicar essa diferença entre os teores, são as condições meteorológicas, nos dias anteriores e até mesmo nos dias da coleta das amostras. Na Figura 6, pode-se observar os dados meteorológicos nos dias que aconteceram as coletas. Sabe-se que o fator horário de coleta tem influência no teor das amostras, assim para eliminar ou diminuir esse fator, todas as três coletas foram realizadas no final da tarde dos respectivos dias.

Em relação ao volume de precipitação no dia das coletas, são de 0,4 mm no dia 04 de julho, 1,6 mm no dia 17 de agosto e 0 mm no dia 03 de outubro. A temperatura máxima foi de 29,4, 30,2 e 34,4°C e as mínimas foram 17,7, 19,2 e 15,4°C, nos dias 04 de julho, 17 de agosto e 03 de outubro respectivamente. A umidade relativa média nesses dias foram de 73, 70 e 53%, tendo uma diferença de 20% entre a maior e a menor umidade relativa. Esse fato se dar por conta da estação do ano inverno, amostra coletada no início do mês de julho, mês típico na região com temperaturas amenas e umidade relativa alta. Já o mês de outubro, a

estação no ano é a primavera, mas com características típicas regionais de clima quente e seco.

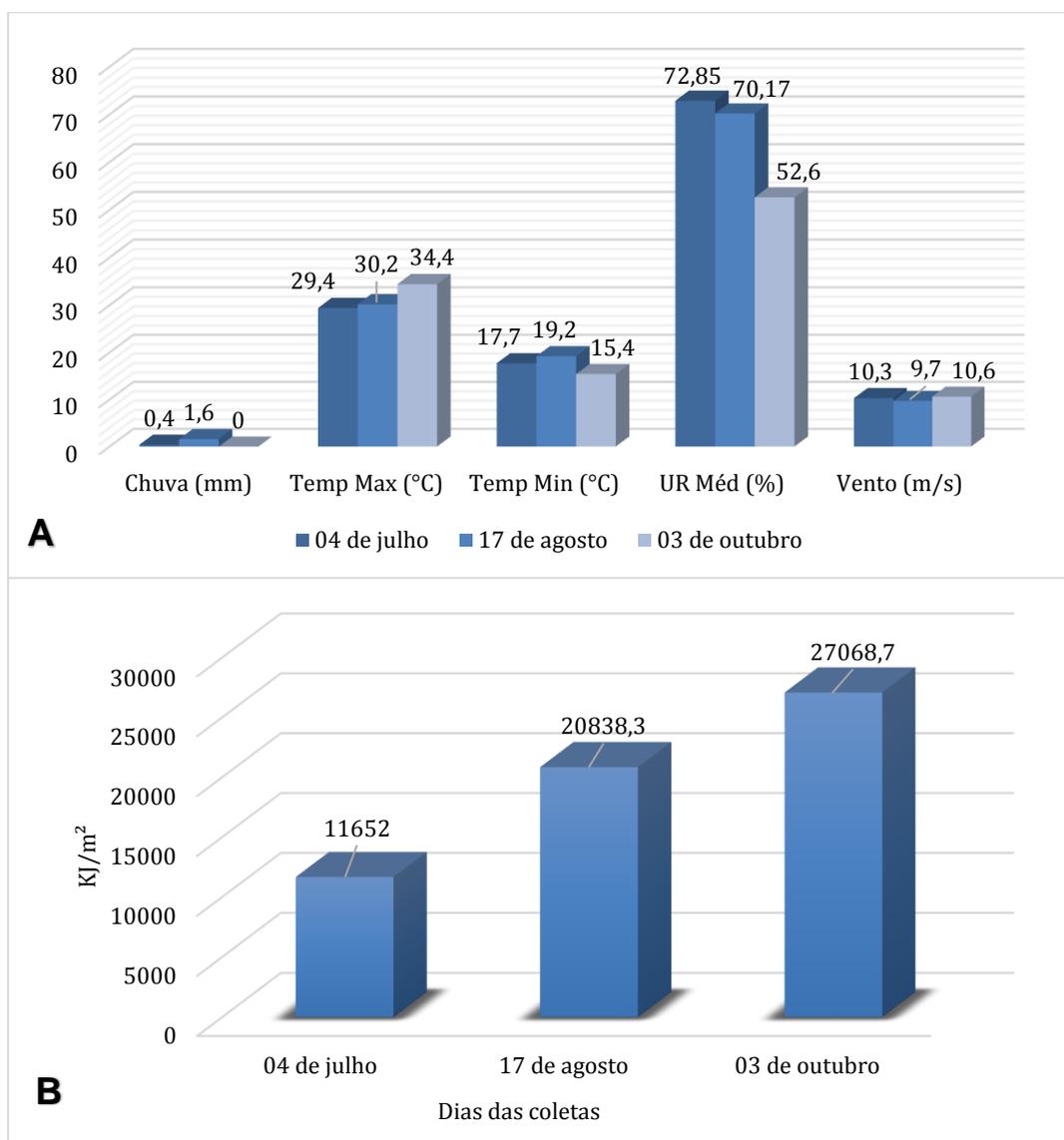


Figura 6: Dados meteorológicos nos dias das coletas na localidade de Riacho, Saúde-BA. **(A)** Precipitação (mm); Temperatura Máxima (°C); Temperatura Mínima (°C); Umidade Relativa (%) e Velocidade do Vento (m.s⁻¹). **(B)** Radiação Solar (KJ.m⁻²). Fonte: Plataforma de monitoramento SEIA-BA.

Em relação aos ventos durante as coletas, observou-se que a velocidade máxima para os dias foram: 10,3 m/s no dia 04 de julho; 9,7 m/s no dia 17 de agosto e 10,6 m/s no dia 03 de outubro. Percebe-se que não há uma grande variação nesse fator vento.

Na Figura 6B, observa se que, a intensidade luminosa máxima nos dias das coletas foram diferentes, sendo a menor radiação observada na coleta do mês de

julho (11652 KJ.m⁻²) e a maior mês de outubro (27068,7 KJ.m⁻²), ocorrendo um aumento de 132% na quantidade de radiação recebida pelas plantas colhida no mês de outubro.

Segundo Taiz e Zeiger (2013), a maior produção de metabólitos especiais ocorre sob altos níveis de radiação solar devido às reações biossintéticas que são realizadas por meio de processos fotossintéticos. Provavelmente por esse motivo a amostra coletada no mês de outubro apresentou maior teor de óleo essencial, pois a planta estava redirecionando ou produzindo rotas metabólicas de acordo com seu desenvolvimento e adaptação ao meio.

Morais (2009), afirma que a redução dos teores de óleo, principalmente no outono e inverno (estações chuvosas), épocas com baixa intensidade luminosa, pode ser explicada pelo acionamento do mecanismo natural de fonte-dreno, que degrada metabólitos especiais e direciona seus compostos químicos na manutenção do metabolismo primário. Essa relação entre fonte e dreno é controlada por fatores ambientais e atua na sinalização de diversos genes que controlam os metabólitos produzidos nos tecidos, sendo determinante na produtividade (ROLLAND et al., 2006; TONINI et al., 2010). Este comportamento fisiológico dos vegetais pode justificar o menor teor de óleo essencial obtido no mês de julho neste estudo.

Trabalhos realizados com *Hyptis marrubioides* Epling, relataram que o teor de óleo essencial foi estatisticamente superior no verão (estação seca) em relação às outras estações. Deve-se ressaltar que a época em que se obtém maior teor de princípios ativos pode não ser a época de maior produção de biomassa, principalmente pelas condições de estresse, sendo aumentada à síntese de óleo essencial, como ocorre no bioma Caatinga (BOTREL et al. 2010), onde a maioria das plantas perdem as folhas na estação seca.

Apesar das variações encontradas neste estudo, o rendimento médio de 2.56%, ficou acima dos valores encontrado na literatura, como podemos observar em um estudo de Rocha et al. (2021), após a hidrodestilação de folhas de *C. pulegioides*, obtiveram 0,37% (p/p) de rendimento de óleo essencial. Em outros estudos, com amostras coletadas em Viçosa (Ceará, Brasil) e São João do Piauí (Piauí, Brasil), foram relatados rendimentos de 0,8% e 1,1% (p/p), respectivamente, para óleos extraídas por hidrodestilação de folhas de *C. pulegioides* (BEZERRA

et al., 2009; CASTRO et al., 2020). Tal fato, pode ocorrer, pela adaptação da planta ao meio, no qual as condições ambientais de cada localidade promoveram influência direta na produção de bioativos e biomassa.

5.2 Teores de Fenólicos e Flavonoides

As amostras de *Croton pulegiodorus* foram coletadas em diferentes localidades e períodos, no município de Santa Terezinha e Saúde-BA, os dois municípios são caracterizados majoritariamente, por clima típico semiárido, por diversas condições geográficas e climáticas (figura 4 e 5). Dependendo de sua origem geográfica, o conteúdo total de polifenóis dos extratos de *Croton pulegiodorus* podem ter variações e constam da tabela 5, mostrando que a planta é fonte de fenólicos com teor variando de 30,69 a 54,48 mg EAG.g⁻¹.

Os compostos fenólicos representam fontes de substâncias com grande potencial antifúngico. Há vários trabalhos na literatura sobre a ação antifúngica dos extratos de plantas do gênero *Croton*. Pereira (2019), avaliou o potencial antifúngico do extrato das folhas de *Croton conduplicatus*, obtendo resultados favoráveis a ação antifúngica, o mesmo ocorreu com Vasconcelos (2022), onde foi possível observar o potencial do extrato de folhas de *Croton blanchetianus*.

A maior quantidade de fenólicos foi observada na amostra da 2^a coleta, realizada no mês de julho na comunidade de Riacho localizada no município de Saúde.

Os extratos apresentaram diferentes teores de flavonoides, onde novamente a amostra da 2^a coleta apresentou a maior quantidade de 15,4010 mg EQ.g⁻¹. Nos fenólicos totais a amostra que apresentou menor teor foi a da 1^a coleta, que foi realizada na comunidade de Campo Grande, localizada no município de Santa Terezinha. Flavonoides totais, o menor teor foi obtido na 3^a coleta, realizada na comunidade de Nova Saúde, no município de Saúde.

Tabela 5: Teores de Fenólicos e Flavonoides Totais de amostras de *Croton pulegioidorus* coletadas em diferentes períodos.

| Coletas | Mês | Localidade | Fenólicos Totais (mg EAG.g ⁻¹) | Flavonoides Totais (mg EQ.g ⁻¹) |
|---------------|---------|--------------|---|--|
| 1ª | Maio | Campo Grande | 30,6956 | 9,6748 |
| 2ª | Julho | Riacho | 54,4883 | 15,4010 |
| 3ª | Agosto | Nova Saúde | 33,9765 | 8.2727 |
| 4ª | Agosto | Riacho | 31,1193 | 10,5744 |
| 5ª | Agosto | Mariquita | 36,2560 | 11,7430 |
| 6ª | Outubro | Riacho | 43,7933 | 12,8425 |
| MÉDIAS | | | 38,3880 | 11,4181 |

Pode-se observar que o maior teor de fenólicos se apresenta na amostra coletada no mês de julho, mês tipicamente com temperaturas amenas por conta da estação inverno.

Existe uma correlação bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e antocianinas (WATERMAN; MOLE, 1994; GRACE, et al., 2000; MARKHAM, et al., 1998). Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonoides e fenilpropanóides, pela proteção contra a fotodano proporcionada por estes metabólitos ao absorver e ou dissipar a radiação solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B (WATERMAN; MOLE, 1994; GRACE; LOGAN, 2000; ÅLENIUS, et al., 1995).

No caso específico dos flavonoides, estes são acumulados principalmente em tecidos superficiais (tais como epiderme, subepiderme, pelos, cutícula e material epicuticular) e utilizados pela planta como filtros UV, pois absorvem radiação UV-B sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa (WATERMAN; MOLE, 1994; BIEZA; LOIS, 2001). Além disso, também podem atuar como “radical-scavengers” e antioxidantes (GRACE; LOGAN, 2000, LARSON, 1995).

Padda e Picha (2008) e Albert et al. (2009) relatam que parece haver uma relação entre a temperatura e os níveis de compostos fenólicos nos tecidos vegetais, em que temperaturas mais baixas estão associadas a níveis mais elevados de compostos fenólicos. O aumento dos níveis de compostos fenólicos nas folhas pode estar relacionado ao aumento da atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em temperaturas mais baixas, visto que a PAL é uma enzima importante na biogênese de vários compostos fenólicos (PADDA; PICHA, 2008). No entanto,

isto não se aplica a taninos e compostos fenólicos simples, os quais têm absorção máxima em comprimentos de onda consideravelmente mais curtos que os da UV-B (WATERMAN; MOLE, 1994). Essa pode ser uma hipótese que explica os menores teores de compostos fenólicos nas outras amostras coletadas nos meses com temperaturas mais quentes.

5.3 Ensaios antifúngicos

O potencial dos óleos essenciais e sua relação com a atividade antimicrobiana tem sido alvo de diversos estudos, pois a sua composição química pode exercer influência direta sobre as suas atividades biológicas (GUIMARÃES et al., 2014, RUSSO et al., 2013).

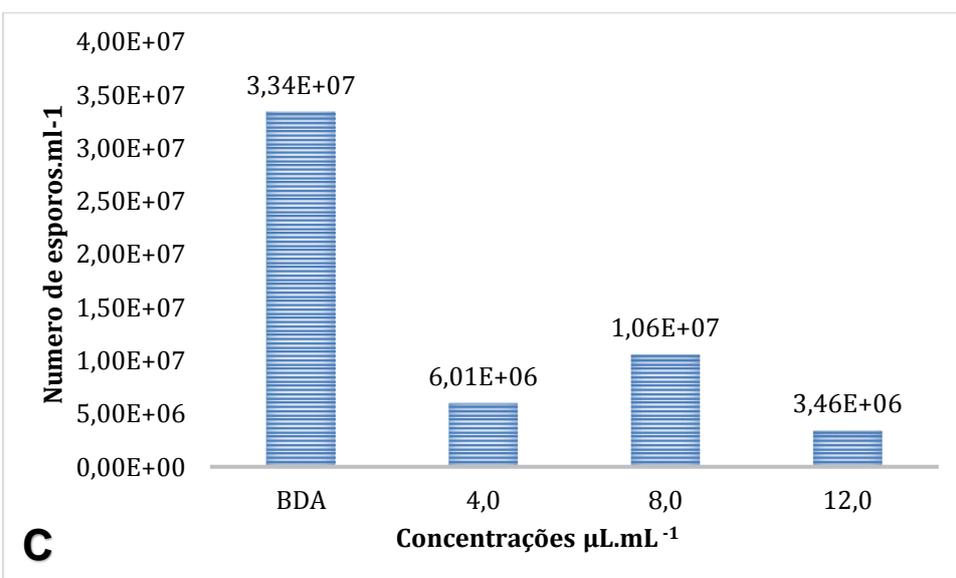
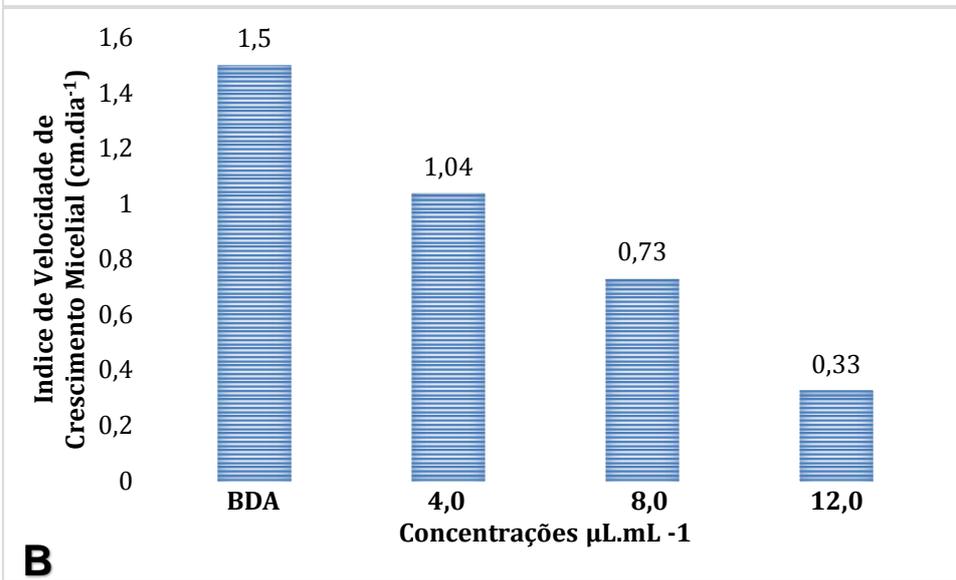
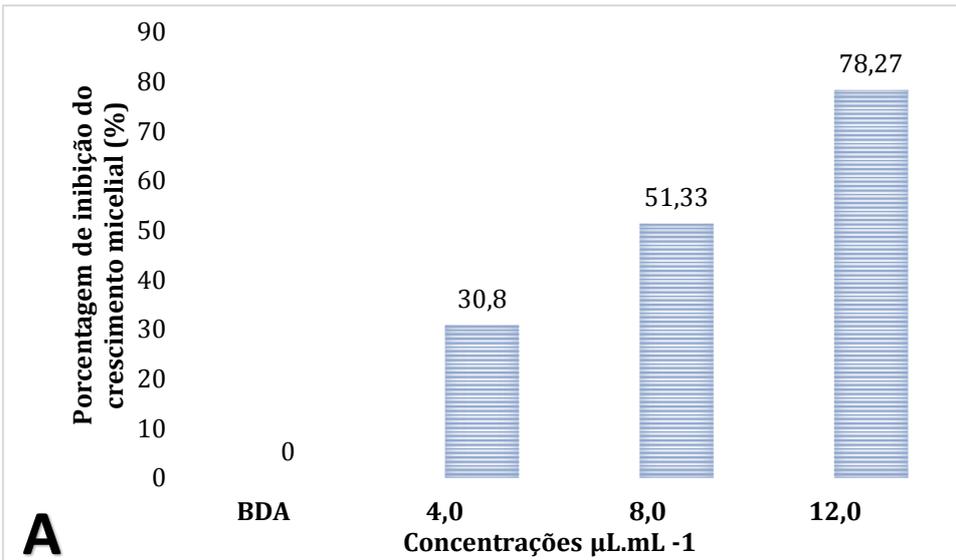
Na tabela 6, constam os resultados dos ensaios utilizando o método da microdiluição, realizados na determinação da CIM e da CFM dos óleos essenciais de *Croton pulegioides*. O óleo essencial apresentou atividades antifúngicas sobre os fitopatógenos estudados mediante as técnicas utilizadas.

Tabela 6: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial de *Croton pulegioides* Baill. contra o fungo *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

| Fitopatógenos | Concentração do Óleo Essencial ($\mu\text{l.mL}^{-1}$) | |
|---|--|-----|
| | CIM | CFM |
| <i>Aspergillus welwitschiae</i> | 1,0 | 4,0 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> | 2,0 | 8,0 |

A CIM foi de 1,0 e 2,0 $\mu\text{l.mL}^{-1}$ para *A. welwitschiae* e *F. oxysporum* respectivamente, enquanto que a CFM foi 4,0 e 8,0 $\mu\text{l.mL}^{-1}$. Jesus (2020), em seu estudo utilizando óleo essencial de *Lippia alba*, obtiveram as concentrações de 1,0 e 2,0 $\mu\text{l.mL}^{-1}$ para a CIM nos fitopatógenos *A. welwitschiae* e *F. oxysporum* respectivamente, a CFM só foi determinar para o *A. welwitschiae*, que foi 6,0 $\mu\text{l.mL}^{-1}$.

Vários óleos essenciais apresentam potencial no controle de fungos patogênicos, exercendo ação direta ao inibir o crescimento micelial e germinação de esporos, além de induzir a produção de fitoalexina (OOTANI et al., 2013). A utilização do óleo essencial de *Croton pulegioides* no controle dos fitopatógenos em estudo, foi capaz de reduzir o crescimento micelial e o número de esporos produzidos à medida que a concentração foi aumentada (Figuras 7, 8 e 9).



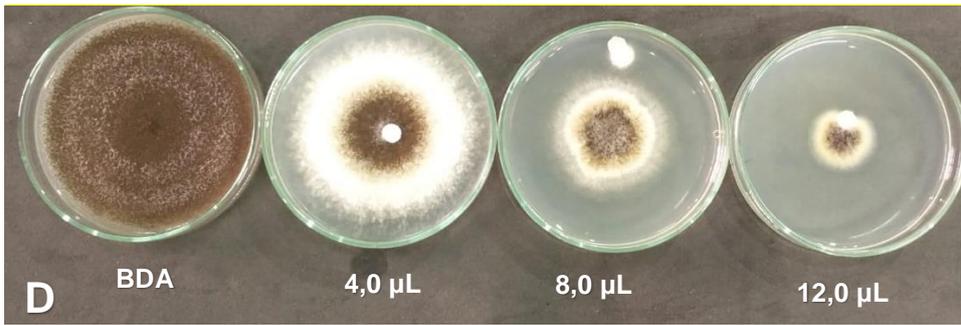
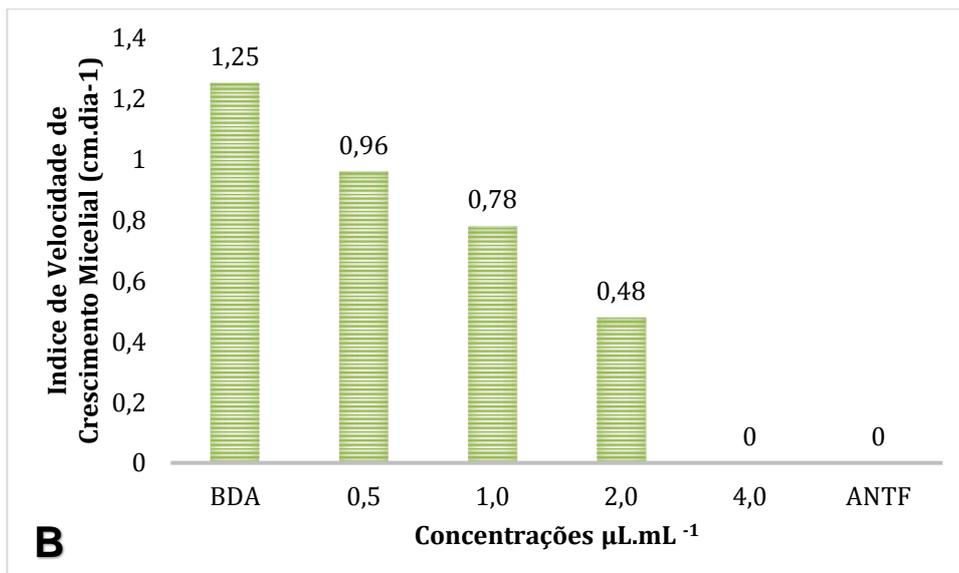
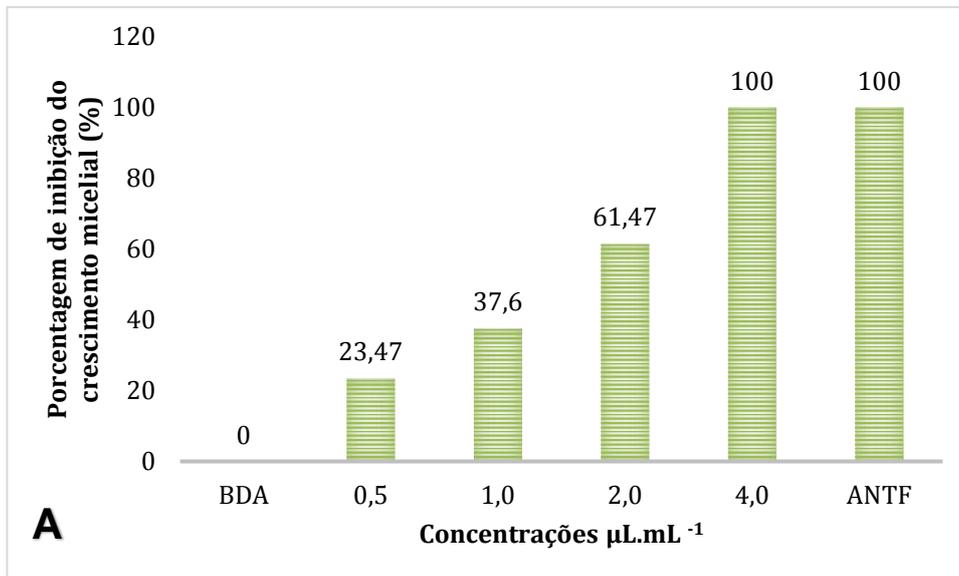


Figura 7: Efeito de diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Croton pulegioidorus* pela técnica de exposição aos voláteis, no índice de velocidade de crescimento micelial (cm.dia^{-1}) (A); Porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) (B); Números de esporos. mL^{-1} (C); Tamanho da colônia (D) do fitopatígeno *Aspergillus welwitschiae*.



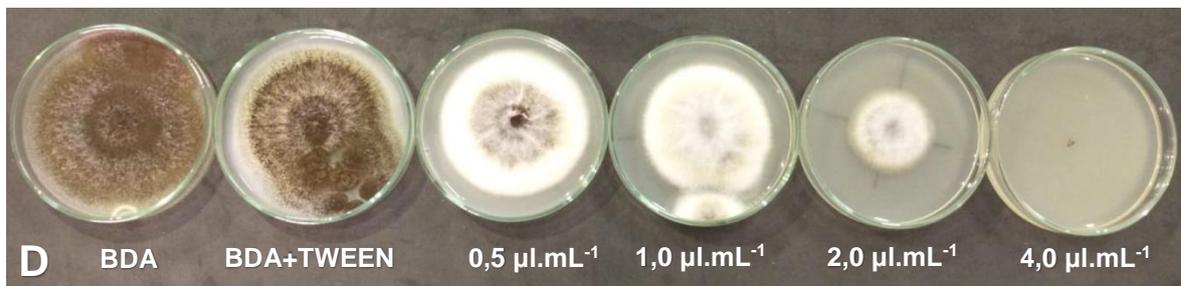
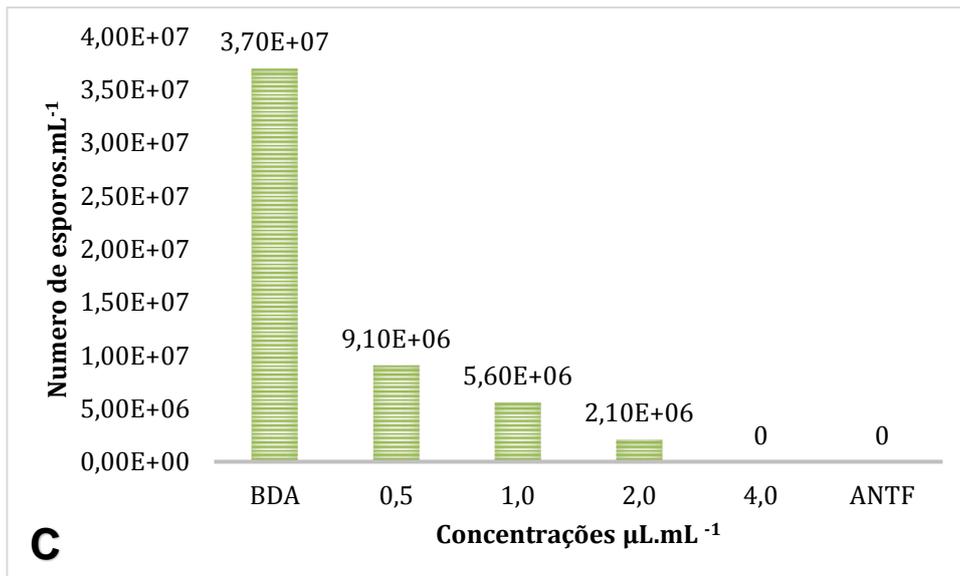
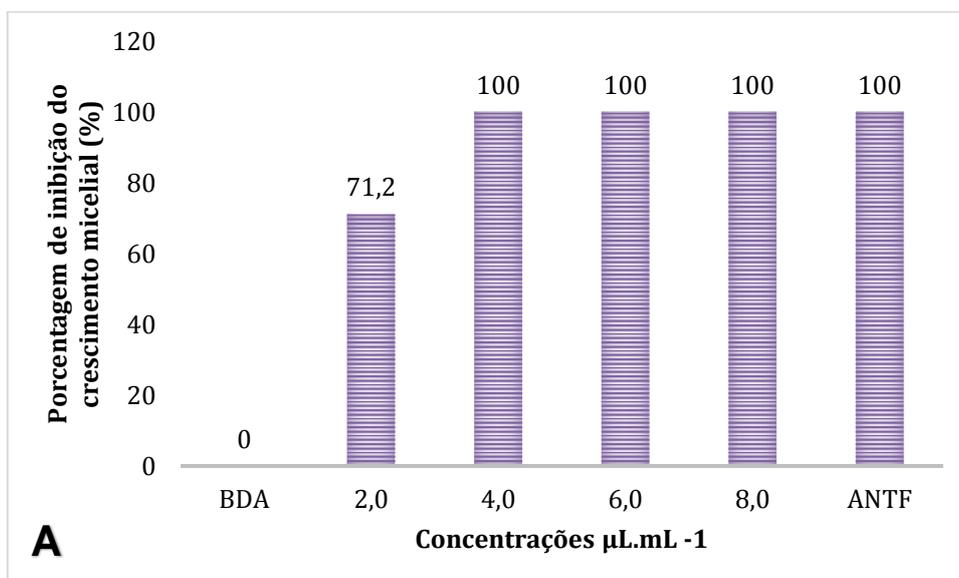


Figura 8: Efeito do óleo essencial de *Croton pulegiodorus* Baill pela técnica de diluição em meio de cultura na porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) (A); Índice de velocidade de crescimento micelial (cm.dia⁻¹) (B); Números de esporos.mL⁻¹ (C); Tamanho da colônia (D) do fitopatógeno *Aspergillus welwitschiae*. ANTF – Antifúngico



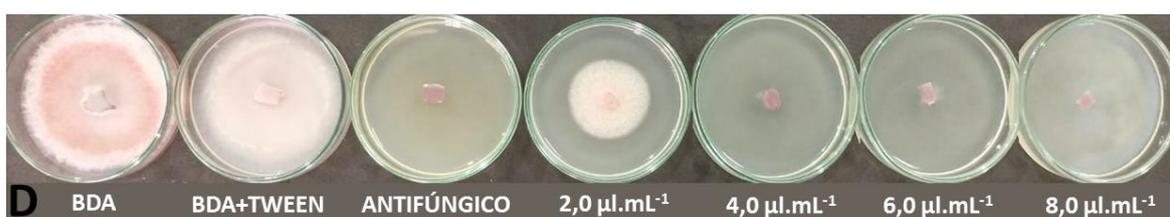
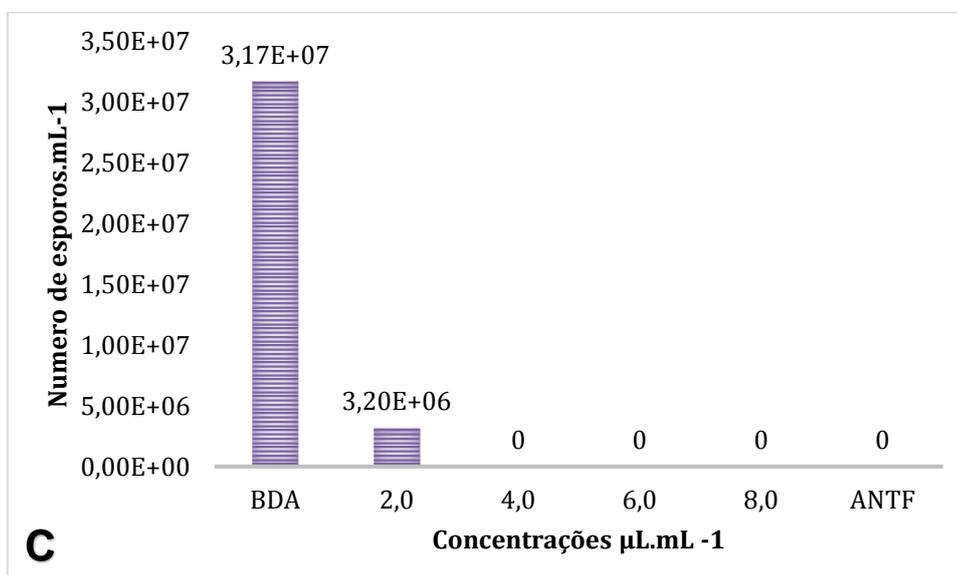
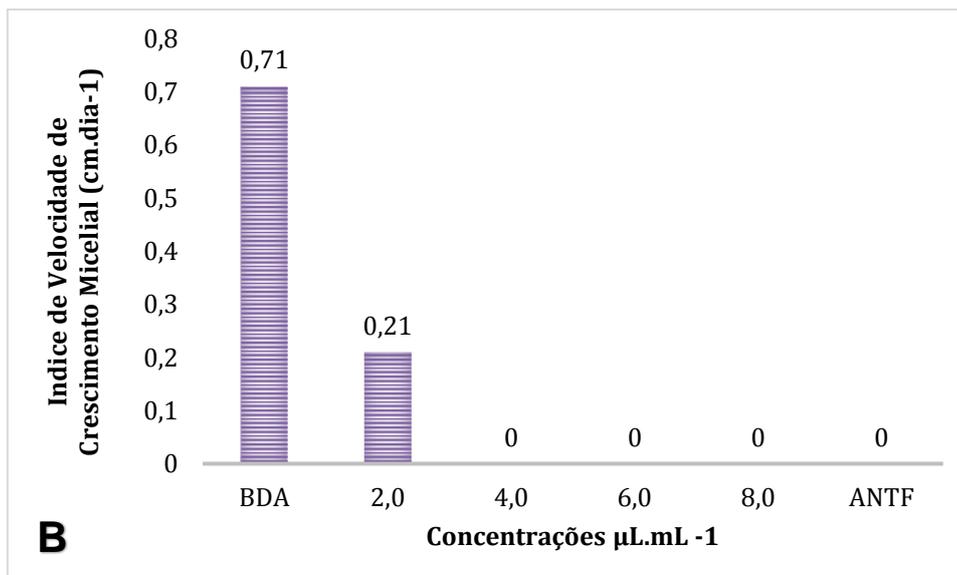


Figura 9: Efeito do óleo essencial de *Croton pulegiodorus* Baill pela técnica de diluição em meio de cultura na porcentagem de inibição do crescimento micelial (%) (A); Índice de velocidade de crescimento micelial (cm.dia⁻¹) (B); Números de esporos.mL⁻¹ (C); Tamanho da colônia (D) do fitopatógeno *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. ANTF – Antifúngico

Através das técnicas de exposição aos voláteis (figura 7) e diluição em meio de cultura (figura 8 e 9) foi possível confirmar a atividade fungistática e fungicida do óleo essencial de *C. pulegiodorus* Baill.

Para verificar a diferença entre os tratamentos aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal Wallis que verifica se duas ou mais medianas são iguais com nível de significância de 5%. Ressalta-se que, os resultados não seguem uma distribuição normal apontado pelo teste de Shapiro Wilk (p-valor < 0,05), o que justifica a aplicação deste teste não paramétrico.

Na metodologia de exposição aos voláteis a concentração 12 µL apresentou maior porcentagem de inibição (figura 7A) quando comparada as demais para o fitopatógeno *Aspergillus welwitschiae*, obteve a maior PICM (78,27%) na concentração de 12 µL e menor PICM (30,08%) para concentração de 4,0 µL.

Avaliando os p-valores das comparações duas a duas, houve diferença significativa entre o controle (BDA-tratamento controle) e a concentração de 8,0 µL (p-valor = 0,008), 12,0 µL (p-valor = 4,9e-07) e 4,0 e 12,0 µL (p-valor = 0,0042).

No índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) (figura 7B), o menor valor (0,33 cm.dia⁻¹) foi observado na concentração 12 µL e o maior valor (1,5 cm.dia⁻¹) tratamento controle (água autoclavada). No IVCM o teste demonstrou diferença significativa na concentração de 8,0 µL (p-valor = 0,0048) e 12,0 µL (p-valor = 4,9e-07) e 4,0 e 12,0 µL (p-valor = 0,0024).

Na produção de esporos (figura 7C) observou-se que a menor quantidade foi observada na concentração de 12 µL, ocorrendo uma redução de 89,64% para a produção de esporos. Houve diferença significativa na concentração de 12,0 µL (p-valor = 0,049).

Utilizando a técnica de exposição aos voláteis, Brito (2018) constatou a atividade inibidora do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth, sobre o crescimento micelial de *Aspergillus welwitschiae*, e *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Nesse estudo os melhores resultados de inibição foram observados na concentração de 10 µL, obtendo 51,9% e 47,73% para o crescimento e 65,30% e 67,33% para a produção de esporos nos fitopatógenos em estudo.

Na metodologia de difusão em ágar foi possível notar que a concentração 4,0 µL.mL⁻¹ apresentou maiores porcentagens de inibição (figura 8A – D) quando comparada as demais para o fitopatógeno *Aspergillus welwitschiae*, obteve a maior PICM (100%) (figura 8A) na concentração de 4,0 µL.mL⁻¹ e menor PICM (23,47%) para concentração de 0,5 µL.mL⁻¹.

Avaliando os p-valores das comparações duas a duas, podemos ver que o houve diferença significativa nas concentrações de 4,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ (p-valor = 2,4e-06), BDA e 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ (p-valor = 0,0168), 4,0 e 0,5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ (p-valor = 0,0024), 4,0 e 1,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ (p-valor = 0,0337). Considera-se que, a concentração de 4,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ teve ação fungicida e as demais concentrações promoveram ação fungistática (figura 8D), indicando que o óleo essencial neste estudo, tem pontencial antimicrobiano.

Para o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) (figura 8B), o menor valor (0,48 cm.dia^{-1}) foi observado na concentração 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e o maior valor (1,25 cm.dia^{-1}) tratamento controle (BDA puro). Carvalho (2017) e Jesus (2020) avaliando o efeito do óleo essencial de *Lippia alba* sobre o crescimento de *Aspergillus*, observou redução significativa do crescimento micelial do fitopatogeno, obtendo um IVCM médio diário de 0,63 cm na concentração de 1,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Ainda segundo Jesus (2020), a partir da concentração de 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ foi possível notar quase 100% da inibição do crescimento do fungo *A. welwitschiae*.

Na produção de esporos (figura 8C) observou-se que a maior quantidade foi no BDA apresentando média de 3,70E+07 esporos. mL^{-1} e a menor quantidade foi observada na concentração de 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, ocorrendo uma redução de 94,32% para a produção de esporos. Houve diferença significativa na concentração de 4,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ (p-valor = 0,019).

Na figura 9D, observa se que, houve crescimento do fitopatógeno nos tratamentos controle (BDA e BDA+TWEEN) e na concentração de 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, mesmo assim percebe-se que a concentração de 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, promoveu ação fungistático no *Fusarium*, onde a PICM foi de 71,20% (figura 9A).

Segundo Jesus (2020), a concentração de 2,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ do óleo essencial de *L. alba* retardou o crescimento de do *Fusarium oxysporum* reduzindo a sua taxa de desenvolvimento em torno de 29,15% e a partir da concentração 4,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ foi possível notar quase 100% da inibição do crescimento do fungo *F. oxysporum*, corroborando assim com os resultando apresentados nesse estudo.

O IVCM (figura 9B) e o Número de esporos (figura 9C), houve uma redução de 70,42% e 89,90% respectivamente, em comparação com o controle. Miranda et al (2022), em seu trabalho, observou que nas concentrações de 2,0 e 2,5 mg/mL , controlaram 99 e 100% o crescimento fúngico do *Fusarium oxysporum*, utilizando óleo essencial de *Piper divaricatum*. Outro estudo utilizando óleo essencial de *Piper*

auritum (8,4 mg/mL) apresentou índices antifúngicos de 50% contra o *F. oxysporum* (CHACÓN, et al., 2021)

A utilização do óleo essencial de *Croton pulegioidorus* no controle dos fitopatógenos em estudo, foi capaz de reduzir o crescimento micelial e o número de esporos produzidos à medida que a concentração era aumentada (Figuras 7, 8 e 9). Apesar dos fitopatógenos apresentarem comportamentos parecidos na concentração de 2,0 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, para o método difusão em meio, é importante considerar que os fungos apresentam estruturas morfológicas e patogenicidade distintas e o óleo essencial pode interagir de forma diferente em cada um.

Alguns autores sugerem que os compostos químicos presente nos óleos essenciais possuem a capacidade de danificar as enzimas no sistema celular associados à produção de energia e síntese de compostos estruturais (CONNER; BEUCHAT, 1984). Os monoterpenos são considerados os compostos que causam maiores impactos na membrana celular, aumentam a permeabilidade e a fluidez alterando a posição das proteínas levando ao extravasamento do conteúdo celular (MBACK et al., 2016).

Segundo Rocha et al. (2021) e Carvalho et al. (2022), em seus estudos, após a realização da análise dos componentes presentes no óleo essencial de *Croton pulegioidorus*, revelaram que o óleo essencial da espécie é rico em hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpenos oxigenados e ésteres monoterpênicos.

Dessa forma esses compostos podem ser responsáveis pela ruptura e perda do conteúdo citoplasmático e consequente morte da célula, que pode ser explicada também pela inibição da síntese de ergosterol que é responsável pela manutenção da permeabilidade e fluidez da membrana, a sua ausência e o acúmulo de seus precursores afetam a estrutura tornando o fungo vulnerável aos danos (KEDIA et al., 2016).

6.0 CONCLUSÕES

Os fatores ambientais influenciaram nos teores do óleo essencial e compostos fenólicos, sendo que a intensidade luminosa foi o fator que mais interferiu nas amostras coletadas na mesma localidade em períodos diferentes;

O óleo essencial de *Croton pulegioidorus* tem potencial antimicrobiano, com ação antifúngica (fungistática e ou fungicida) no controle de *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

A ação fungistática foi verificada nas concentrações menores que $4,0 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$, para os fungos *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, no método de diluição em meio.

O potencial fungicida nas concentrações maiores que $4,0 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$, para os fungos *Aspergillus welwitschiae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, no método de diluição em meio.

7.0 REFERÊNCIAS

- ADONIZIO, A. L., DOWNUM, K., BENNETT, B. C., MATHEE, K. Anti-quorum sensing activity of medicinal plants in southern Florida. **Journal of Ethnopharmacology**, 105(3), 427-435. 2006.
- ALBERT, A.; SAREEDENCHAI, V.; HELLER, W.; SEIDLITZ, H.K.; ZIDORN C. A temperatura é a chave para a variação altitudinal de compostos fenólicos em *Arnica montana* L. cv. ARBO. **Oecology** 160 : 1-8. 2009.
- ÅLENIUS, C. M.; VOGELMANN, T. C.; BORNMAN, J. F.; **New Phytol.** 131, 297. 1995
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants and animals of an importante seasonal dry forest in Brazil. **Ethnobiology and Conservation**, v. 9, n. 8, p. 1-53, mar. 2020.
- ALMEIDA-PEREIRA, C. S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of a *Croton tetradenius* Baill. germplasm, **Journal of Essential Oil Research.**, Sergipe, v. 31, n. 5, p. 379-389, nov./jun. 2019.
- ALENCAR FILHO J. M. T. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. **Revista Brasileira de Farmacologia**. Bahia, v. 27, n. 4, p. 440-444, fev./mar. 2017.
- ALMEIDA, T.S. et al. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**. Santa Maria, v. 44, n. 1, p. 630–633, jan. 2013.
- ALVES, M. O.; SANTIAGO, E.; GIRÃO; MOREIRA; L. A. R. **Diagnóstico socioeconômico do setor sisaleiro do nordeste brasileiro**. 2005. Disponível em: http://www.bnb.gov.br/projwebren/Exec/livroPDF.aspx?cd_livro=11. Acesso em: 13/10/ 2022.

- AGRIOS, G. Plant Pathology. Amsterdam: **Elsevier**, p. 922, 2005.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v. 2. 772 p. il. color. 2016.
- ANJOS, Q. Q. A., SILVA, S. L. D. C., SILVA, D. C., GUALBERTO, S. A., SANTOS, F. R., CARVALHO, M., SOUSA, D. L. Composição química do óleo essencial da parte aérea de *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) e a Sua bioatividade sobre o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), em relação a diferentes períodos de coleta. **Periódico Tchê Química**, 15(30), 364-379. 2018.
- ARAÚJO, F. M. et al. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. **Industrial Crops & Products**. v. 105, p. 203–206, 2017.
- ARJIN, C.; TAPINGKAE, W. Use of Phytogetic Compounds as Antibiotics Substitute in Monogastric Animal Diets. **Thai Journal of Animal Science**. Chiang Mai, v. 1, n. 1, p. 11-20, jan. 2014.
- APEL, M.A., SOBRAL, M., HENRIQUES, A.T. Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 16:402-407. 2006.
- ASEKUN, O.T.; GRIERSON, D.S.; AFOLAYAN, A.J. Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis*. **Food Chemistry** 101:995-998. 2006.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of Essential oil: Science, Technology, and Applications**. Nova York: Boca Raton CRC Press, 2010.
- BARROS, M. A. B., LOPES, G. M. B., WANDERLEY, M. B. Cadeia Produtiva da Banana: consumo, comercialização e produção no Estado de Pernambuco. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 39, n. 1, p. 84-104, 2008.
- BARROS, I. O.; SOARES, A. A. Adaptações anatômicas em folhas de marmeleiro e velame da caatinga brasileira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 192-198, jan/mar. 2013.
- BATISTA, I. C. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Murcha de *Fusarium* em bananeira: desafios frente a uma nova ameaça. **Desafios do Manejo de Doenças Radiculares Causadas por Fungos**, p. 57. 2018
- BEZERRA, D. P.; MARINHO FILHO, J. D.; ALVES, A. P. N. N.; PESSOA, C.; de MORAES, M. O.; PESSOA, O. D. L.; TORRES, M. C. M.; SILVEIRA, E. R.; VIANA, F. A.; COSTA-LOTUFO, L. V.; Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole. **Chemistry & Biodiversity**, 6, 1224. 2009.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

- BIEZA, K.; LOIS, R.; **Plant Physiol.** 126, 1105. 2001.
- BOTREL, P.P.; PINTO, J.E.B.; FERRAZ, B.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FIGUEIREDO, S.V. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* EpL. Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum Agronomy.** 32(3):533-538. 2010.
- BRITO, S. S. S. et al. A. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops & Products**, v. 113, p. 308–315, 2018.
- BRITO, S. S. da S.; SILVA, R. M. da; PEREIRA, J. A.; SILVA, F. Potencial do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth contra fungos *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Tese de Doutorado apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.** Cruz das Almas. 2018.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. et al. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology.** Fortaleza, v. 30, n. 1, p. 288–294, jan./set. 2007.
- CASTRO, K. N. D. C.; CHAGAS, A. C. D. S.; COSTA-JÚNIOR, L. M.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S. D.; RODRIGUES, T. H. S.; DE ANDRADE, I. M.; Acaricidal potential of volatile oils from *Croton* species on *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 29, 811, 2020.
- CARNEIRO-TORRES, D. S.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M.; BERRY, P. E.; RINNA, R. Three new species of *Croton* (Euphorbiaceae s.s.) from the Brazilian Caatinga. **Brittonia**, v. 63, n. 1, p. 122-132, 2011.
- CARVALHO, K. S.; SILVA, S. L. C.; SOUZA, I. A. de; GUALBERTO, S. A.; CRUZ, R. C. D. da.; SANTOS, F. R. S.; CARVALHO, M. G. de. 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. 3441-3448, 2016.
- CARVALHO, M. G. de, et al. *Croton pulegioidorus* Baill and *Croton piauiensis* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) Essential Oils: Chemical Composition and Anti-Leishmania Activity. **Revista Virtual Química.** 2022.
- CARVALHO FILHO, J.L.S.; BLANK, A.F.; ALVES, P.B.; EHLERT, P.A.D.; MELO, A.S.; CAVALCANTI, S.C.H.; ARRIGONI BLANK, M.F.; SILVA MANN, R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum*L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 16:24-30.2006.
- CARVALHO, Z. S. ***Lippia alba* (Mill) N.E. Brown: CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL FITOQUÍMICO.** 2017. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-Ba, 2017.

CASTRO, K. N. C. et al., Acaricidal potential of volatile oils from *Croton* species on *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Paraná, v. 29, n. 6, p. 811-815, jun./out. 2019.

CONSOLI, M. A.; SCARE, R. F.; PINTO, M. J. A.; MARKESTRAT; Plano de Melhoria Competitividade do APL dos Fornecedores da Indústria Automotiva. Ribeirão Preto, 2009. p. 119.

CONNER, D.E., BEUCHAT, L.R. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. **Journal of Food Science**, v. 49, n. 2, p. 429–434, 1984.

CORDEIRO, I. et al. ***Croton* in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB17497>. Acesso em: 26 de setembro de 2022

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; FILHO, P. E. M. Doenças e métodos de controle. In BORGES et al. (Eds.). O Cultivo da bananeira. 1 ed. Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**. P. 146-180.2004.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, SP: Agronômica Ceres, p. 99-117. 2005

COSTA FILHO, L. O. et al. Foliar cuticular n-alkane of some *Croton* species from Brazilian semiarid vegetation. **Biochemical Systematics and Ecology**., Pernambuco, v. 41, n. 1, p. 13–15, abr. 2012.

COSTA, J. G. M. et al. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 583-586, out/dez. 2008.

COUTINHO, W. M.; SUASSUNA, N. D.; LUZ, C. M.; SUINAGA, F. A.; SILVA, O. F. E. Bole rot of sisal caused by *Aspergillus niger* in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, 31, 6, 605, 2006.

CRISTANI, M., D'ARRIGO, M., MANDALARI, G., CASTELLI, F., SARPIETRO, M.G., MICIELI, D., VENUTI, V., BISIGNANO, G., SAIJA, A., TROMBETTA, D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.*, v. 55, n. 15, p. 6300–6308, 2007.

CHACÓN, C.; BOJÓRQUEZ-QUINTAL, E.; CAAMAL-CHAN, G.; RUÍZVALDIVIEZO, V.M.; MONTES-MOLINA, J.A.; GARRIDO-RAMÍREZ, E.R.; et al. In Vitro Antifungal Activity and Chemical Composition of *Piper auritum* Kunth Essential Oil against *Fusarium oxysporum* and *Fusarium equiseti*. **Agronomy**, v. 11, n. 6, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061098>.

Dia da Banana – Fruta é cultivada em todos os estados. **Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA)**. Disponível em:

<<https://cnabrazil.org.br/noticias/dia-da-banana-fruta-e-cultivada-em-todos-os-estados>>. Acesso em: 06 de outubro 2022.

DAGLI, N., DAGLI, R., MAHMOUD, R. S., BAROUDI, K. Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: **A review. Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry**, 5(5), 335–340. 2015.

DANTAS T. L. et al, Estudo etnofarmacológico de plantas medicinais: atividade antimicrobiana de extratos de *Allium sativum* L. (alho) e *Bixa orellana* L. (urucum). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14. n. 1, jan/mar 2018.

DA SILVA, T. L. et al. O óleo essencial de folhas de *Croton pulegioidorus* Baill apresenta atividade inseticida sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 354-363, 2019.

DE MARTINO, L. et al. Chemistry, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of volatile oils and their components. **Natural Product Communications**. Italia, v. 4, n. 1, p. 1741–1746, ago./nov. 2009.

DIXON, R.A.; PAIVA, N.L. Metabolismo de Fenilpropanóides Induzido por Estresse. **The Plant Cell**. 7, 1085-1097. 1995.

DÓRIA, G. A. A. et al. study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology**. Sergipe, v. 48, n. 6, p. 615–620, out./abr. 2010.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-316. Feb. 2000.

DUARTE, E. A. A.; DAMASCENO, C. L.; OLIVEIRA, T. A. S.; BARBOSA, L. O.; MARTINS, F. M.; QUEIROZ SILVA, J. R.; LIMA, T. E. F.; SILVA, R. M.; KATO, R. B.; BORTOLINI, D. E.; AZEVEDO, V.; GÓES-NETO, A.; SOARES, A. C. F. Putting the Mess in Order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the Etiological Agent of Sisal Bole Rot Disease in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, 9, 1227, 2018.

ELLIS, M.L., JIMENEZ, D.R., LEANDRO, L.F., MUNKVOLD, G.P. Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots. **Phytopathology**, v. 104, p. 1329-1339, 2014.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2016.

FERNANDES B. F. et al, estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua importância medicinal. **SAJES – Revista da Saúde da AJES**, Juína/MT, v. 5, n. 9, p. 16 – 22, Jan/Jun. 2019.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. et al. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 306 p. 2010.

- FRANCO, J.; NAKASHIMA, T.; FRANCO, L.; BOLLER, C. Composição química e atividade antimicrobiana in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F. Mull. ex Benth., Myrtaceae, extraído em diferentes intervalos de tempo. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 15:191-194. 2005
- GAMA, E. V. S., et al. (2015). Homeopathic drugs to control red rot disease in sisal plants. **Agronomy for Sustainable Development**, 35 (2), 649-656
- GASPAROTTO, L. PEREIRA, J. C. R. A. Cultura da bananeira na região Norte do Brasil. **EMBRAPA**, Brasília. 310 p. 2010.
- GUIMARÃES, L. G.L. et al. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: Composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciencia Agrônômica**, v.45, n. 2, p. 267-275, 2014.
- GUTIERREZ, J., BARRY-RYAN, C., BOURKE, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, 26(2), 142–150. 2009.
- GRACE, S. C.; LOGAN, B. A.; **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B**, 355, 1499. 2000.
- HONG, J.K., YANG, H.J., JUNG, H., YOON, D.J., SANG, M.K., JEUN, Y.C. Application of Volatile Antifungal Plant Essential Oils for Controlling Pepper Fruit Anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Pathol. J.**, v. 31, n. 3, p. 269-277, 2015.
- JESUS, V.F. de, *Lippia alba* (Mill) N. Brown ASSOCIADA ao *Trichoderma* spp.: **BIOMASSA, ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA**. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-Ba, 2020.
- KEDIA, A.; DWIVEDY, A.K.; JHA, D.K.; DUBEY, N.K. Efficacy of *Mentha spicata* essential oil in suppression of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in chickpea with particular emphasis to mode of antifungal action. **Protoplasma**, v. 253, p. 647–653, 2016.
- KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, n. 2, p. 120-132, May/Aug. 2010.
- LIMA, F.S.O.; CORREA, V.R.; NOGUEIRA S.R. et al. Nematodes affecting soybean and sustainable practices for their management. **InTechOpen** DOI:10.5772/67030. 2017.
- LIMA NETO, A. J., et al. Biofertilizante bovino, cobertura morta e revestimento lateral dos sulcos na produção de pimentão. **Revista Caatinga**, 26 (3), 1-8. 2013.
- MACHADO, W. J., PRATA, A. P. N., MELLO, A. A. Floristic composition in areas of Caatinga and Brejo de Altitude in Sergipe state, Brazil. **Check List: Journal of Species Lists and Distribution**, v. 8, n. 2, p. 1089-1101, 2012.

MACIEL, M. A. M.; CORTEZ, J. K. P. C.; GOMES, F. E. S. O gênero *Croton* e aspectos relevantes de diterpenos clerodanos. **Revista Fitos**, v. 2, n. 3, p. 54-73, 2006.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MAGALHÃES, C. R. I. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. São Paulo, v.17, n.4, supl. III, p.1150-1158, jan/ago. 2015.

MARTINO, L. DE, FEO, V. DE, FORMISANO, C., MIGNOLA, E., SENATORE, F. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) ietswaart growing wild in campania (Southern Italy). **Molecules**, 14(8), 2735–2746. 2009.

MARQUES, G. S., MONTEIRO, R. P. M., LEÃO, W. F., LYRA, M. A. A., PEIXOTO, M. S., ROLIM- NETO, P. J., & SOARES, L. A. L. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* Link. **Química Nova**, 35(3), 517–522. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300014>. 2012.

MATOS, A.P.; BORGES, M.F.; SILVA, S.O.; CORDEIRO, Z.J.M.; ANDRADE, S.M. Reaction of banana genotypes to *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum f.sp. cubense*) under field conditions in Brazil. In: Reunião da Associação para a Cooperação em Pesquisa e Desenvolvimento Integral das Musaceas (Bananas e Platanos), Guayaquil. **Anais... Guayaquil: ACORBAT**, p. 311-318. 1998.

MARKHAM, K. R.; TANNER, G. J.; CAASI-LIT, M.; WHITECROSS, M. I.; NAYUDU, M.; MITCHELL, K. A.; **Phytochemistry**, 49, 1913. 1998.

MEDEIROS, V. M. et al. Chemical composition and modulation of bacterial drug resistance of the essential oil from leaves of *Croton grewoides*. **Microbial Pathogenesis.**, João Pessoa, v. 111, n. 1, p. 468-471, out. 2017.

MIRANDA, F. M. et al. Promising antifungal activity of *Croton tricolor* stem essential oil against *Candida* yeasts, **Journal of Essential Oil Research.**, Bahia, v. 31, n. 3, p. 223-227, mai./nov. 2019.

MIRANDA, R. C. et al. BIOPROSPECÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper divaricatum* NO CONTROLE IN VITRO DE *Fusarium oxysporum*. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia**. 2022.

MILLEZI, F. M et al. Susceptibility of monospecies and dual-species biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to essential oils. **Journal of Food Safety.**, Portugal, v. 32, p. 351–359, jul. 2012.

MILLEZI, A. F. et al. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils thymus vulgaris, Cymbopogon citratus and laurusnobilis against five important foodborne pathogens. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, p. 167-172, 2012.

- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, ago. 2009.
- MOREIRA, G.C.; CARNEIRO, C.N.; DOS ANJOS, G.L.; DA SILVA, F.; SANTOS, J.L.O.; DIAS, F.S. Support vector machine and PCA for the exploratory analysis of *Salvia officinalis* samples treated with growth regulators based in the agronomic parameters and multielement composition. **Food Chem.** 373(Pt A):131345. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131345. Epub 2021 Oct 8. PMID: 34715635, mar. 2022.
- MBACK, M.N.L.N.; AGNANIET, H.; NGUIMATSIA, F.; DONGMO, P.M.J.; FOKOU, J.B.H.; BAKARNGA-VIA, I.; BOYOM, F.F.; MENUT, C. Optimization of antifungal activity of *Aeollanthus heliotropioides* oliv essential oil and Time Kill Kinetic Assay. **Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology**, v. 26, n. 3, p. 233-243, 2016.
- NADER, T. T. et al. Atividade antibiofilme de substâncias de *Croton urucurana* em *Staphylococcus aureus* isolado de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v. 38, n. 9, p. 1713-1719, set. 2018.
- NASIB, A.; ALI, K.; KHAN, S. In vitro propagation of croton (*Codiaeum variegatum*). **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 99-104, 2008.
- NAZZARO, F. et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals (Basel)**, Italy, v. 6, n. 12, p. 1451-74, set./nov. 2013.
- OLIVEIRA, R.N.; DIAS, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugeniapunicifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 15:39-43. 2005
- OLIVEIRA, D. G. A família Euphorbiaceae Juss. em um fragmento de Caatinga em Sergipe. **Scientia Plena**, v. 9, n. 4, 2013.
- OZ, M. et al. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. **Pharmacology & Therapeutics**. Califórnia, v. 152, n. 1, p. 83–97, ago. 2015.
- OOTANI, M.A. et al. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162-174, 2013.
- PANDEY, A. K.; KUMAR, P.; SINGH, P.; TRIPATHI, N. N.; BAJPAI, V. K. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. **Frontiers in Microbiology**, 7, 2161, 2017.
- PEIXINHO G. S. et al., Control of dry rot (*Lasiodiplodia theobromae*) in bunches of grapevine cv. Itália using essential oil and chitosan. **Summa phytopathol.** V.43, N.1 Botucatu Jan./Mar. 2017
- PEREIRA, W. F. Avaliação do potencial citotóxico, antifúngico e antibacteriano do extrato etanólico das folhas de *Croton conduplicatus* Kunth, em modelos experimentais in vitro. **Dissertação (Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica)** - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2019.

POTZERNHEIM, M.C.L.; BIZZO, H.R.; VIEIRA, R.F. Análise dos óleos essenciais de três espécies de Piper coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia** 16:246-251.2006

PADDA, M.S.; PICHA, D.H. Efeito do armazenamento em baixa temperatura na composição fenólica e atividade antioxidante da batata-doce. *Pós-colheita* **Biol Tec** 47: 176-180. 2008.

POHLERT, T. The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). 2014. Disponível em: <https://CRAN.Rproject.org/package=PMCMR>>. Acesso em: 20 de novembro de 2022.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 6, p. 653-656, 2006.

PLOETZ, R. C.; PEGG, K.G. Fusarium wilt. In: JONES, D.R. (ed). Diseases of banana, abaca and enset. **CAB International**, Wallingford. 1999.

PLOETZ, R.; PEGG, K. Fusarium wilt of banana and Wallace's line: Was the disease originally. **Australasian Plant Pathology**, Murdoch, v. 26, p. 239-249, 1997.

PRIMAVESI, A. **Agroecologia: Ecosfera, tecnosfera e agricultura**. São Paulo: Nobel. 199p., 1997.

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

RAUT, J. S., KARUPPAYIL, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, 62, 250–264.

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**, Porto Alegre, v. 73, n. 1, p. 31-38, maio, 2018.

ROCHA, R. R.; MATOS, M. N. C.; GUERRERO, J. A. P.; CAVALCANTE, R. M. B.; MELO, R. S.; AZEVEDO, Á. 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. pulegioidorus* baill. against *Staphylococcus aureus* isolates. **Microbial Pathogenesis**. 156, 104934. 2021.

ROYSE, D.; RIES, S. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. **Phytopathology**, v. 68, p. 603–607, 1977.

- ROLLAND, F.; BAENA-GONZALES, E.; SHEEN, J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology** 57:676-709. 2006.
- GUIMARÃES, L. G.L. et al. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: Composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciencia Agrônômica**, v.45, n. 2, p. 267-275, 2014.
- SAAD, N, Y.; MULLER, C. D.; LOBSTEIN, A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal**. France, v. 28, n. 5, p. 269– 279, jan./mai. 2013.
- SAMPAIO, D. B; MENDES FILHO, P. F.; MASCENA; A. M.; GOMES, V. F. F.; GUIMARÃES, F. V. A. Colonização micorrízica arbuscular e tolerância ao mal-do-Panamá em mudas de banana-maçã. v. 43, n. 3, p.462-469. 2012.
- SANTOS, A.S. et al. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório**. EMBRAPA, 2004. (Comunicado Técnico)
- SANTOS, P. É. M. DOS; DE OLIVEIRA, C. R. F. DE; MATOS, C. H. C. SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Sitophilus zeamais* AO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Croton pulegioides*. **Acta Biológica Paranaense**, v. 51, n. 1, 2022.
- SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos especiais. In: Simões CMO et al. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: **Editora da UFRGS/Editora da UFSC**, p. 403-434. 2004
- SEIA - Sistema Estadual de Informações Ambientais e de Recursos Hídricos. SEIA Monitoramento. **INEMA**. Banco de Dados Meteorológicos Disponível em: <<http://monitoramento.seia.ba.gov.br/login.xhtml>>. Acesso em: 20 de outubro 2022.
- SEFIDKON, F.; ABBASI, K.; JAMZAD, Z.; AHMADI, S. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. **Food Chemistry** 100:1054-1058. 2007.
- SENAR-RN integra projeto de incentivo ao plantio Sisal no RN**. Disponível em: <<https://cnabrazil.org.br/noticias/senar-rn-integra-projeto-de-incentivo-ao-plantio-sisal-no-rn>>. Acesso em: 13 de outubro de 2022.
- Sisal Brasil – Informativo 2021 – Publicação da INConsult. – Ano V – Nº 01- fevereiro de 2022. **COSIBRA**. Disponível em: https://www.cosibra.com.br/blog_ver.php?id=14>. Acesso em: 13 de outubro de 2022.
- 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. C. Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira. 65 f. **Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Alagoas**, Rio Largo, Brasil, 2007.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; JUNIOR, T. J. P.; VENZON, M.; FONSECA, M.C.M. **Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas**. In VENZON, M.; JUNIOR, T.J.P.; PALLINI, A. (Eds.). Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Epamig, pp. 33- 53, 2010.

SILVA, W. J. da. **Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.** São Cristóvão: Programa Regional de Desenvolvimento e meio Ambiente, 2006. Originalmente apresentada como dissertação de Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente, Universidade Federal de Sergipe, 2006.

SOARES, A. C. F.; SALOMÃO, M. S.; ALMEIDA, N. de S.; PEREZ, J. O.; GARRIDO, M. da S.; *Aspergillus niger* como agente causal de manchas foliares e podridão do pseudocaule do sisal. In: **XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Salvador, BA. 2006.

SOUZA, J.R.P.; MORAIS, H.; CARAMORI, P.H.; JOJANSSON, L.A.P.S.; MIRANDA, L.V. Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. **Horticultura Brasileira**. 26: 40-44. 2008.

SOUSA, R. F.; SOUSA, J. A. Metabólicos especiais associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, Pombal - PB, v. 11, n. 1, p. 01-08, jan/dez. 2017.

SOUZA, G. S. et al. Chemical composition and yield of essential oil from three *Croton* species. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 8, 2017b.

SOUZA, L. S. S. Extratos aquosos de alho (*Allium sativum* L.) e sisal (*Agave sisalana* Perrine) no controle de *Aspergillus niger* e da podridão vermelha do sisal. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, Brasil, 2010.

SCHUSTER, E et al., On the safety of *Aspergillus niger* – a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 59 (4-5), 426-435, 2002.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINIAH, 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**. Índia, v. 2016, n. 3012462, p. 1-21, jul./out. 2016.

VASCONCELOS, E. C. D. Caracterização do potencial bioativo do óleo essencial e do extrato aquoso das folhas de *Croton blanchetianus* Baill. (2022).

VIRGILLITO, S. B. Estatística aplicada. 3ª Ed. **Rev. e ampl. Edicon**, São Paulo, 2006.

TALBAOUI, A., JAMALY, N., ANEB, M., IDRISSE, A., BOUKSAIM, M., GMOUH, S., AMZAZI, S., MOUSSAOUITI, M., BENJOUAD, A., BAKRI, Y. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. **Journal of Medicinal Plants Research**, 6(31), 4593–4600. 2012.

TAVECHIO, W. L. G. et al. Alternativas para a prevenção e controle de patógenos na piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, [SI], v. 35, n. 2, p. 335 - 341, nov. 2018.

TELICI, I.; BAYRAM, E.; YILMAZ, G.; AVCI, B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). **Biochemical Systematics and Ecology** 34:489-497. 2006

TONINI, P.P.; PURGATO, E.; BUCKERIDGE, M.S. Effects of abscisic acid, ethylene and sugars on the mobilization of storage proteins and carbohydrates in seeds of the tropical tree *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Leguminosae). **Annals of botany** 106:607-616. 2010.

TORRES, D. S. C. Diversidade de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no bioma Caatinga. Bahia: Departamento de Ciências Biológicas, 2009. Originalmente apresentada como **dissertação de doutorado em Botânica**, Universidade Estadual de Feira de Santana, 2009.

TORRES, M. da C. de M. Estudo Químico e Biológico de *Croton regelianus* var. *matosii* (Euphorbiaceae). Fortaleza: Programa de Pós-Graduação em Química, 2008. **Originalmente apresentada como dissertação de Mestrado em Química Orgânica, Universidade Federal do Ceará**, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: **Artmed**. 954 p. 2013.

TAIZ L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal 3 Ed. Porto Alegre: **Editora Artmed**. 2004.

TICO B. M. et al., Óleos essenciais no controle do *Fusarium* sp. da cana de açúcar in vitro. **Revista Brasileira de Meio Ambiente** v. 7, n. 3, 2019.

YAP, P. S. X. et al. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. **The Open Microbiology Journal.**, Malaysia, v. 8, n. 1, p. 6-14, jan. 2014.

XU, W.H.; LIU, W. Y.; LIANG, Q. Chemical Constituents from *Croton* Species and Their Biological Activities. **Molecules.**, China, v. 23, n. 9, p. 2333, jul./set. 2018.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S.; Analysis of phenolic plant metabolites, 1st ed., **Blackwell Scientific Publications**: Oxford, cap. 3. 1994.