

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

ITALO RAFAEL DE LIMA MONTEIRO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE
CERAS EPICUTICULARES FOLIARES DE ESPÉCIES DA CAATINGA**

RECIFE

2022

ÍTALO RAFAEL DE LIMA MONTEIRO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE
CERAS EPICUTICULARES FOLIARES DE ESPÉCIES DA CAATINGA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos de obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Antônio Fernando M. Oliveira.

Área de concentração: Ecologia e Conservação.

Linha Transversal: Botânica Aplicada e Etnobotânica

RECIFE

2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Monteiro, Italo Rafael de Lima.

Caracterização química e avaliação do potencial antimicrobiano de ceras epicuticulares foliares de espécies da caatinga. / Italo Rafael de Lima Monteiro. – 2022.

104 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Antonio Fernando M. Oliveira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Antimicrobianos. 2. Bactérias. 3. Bioensaios. 4. Fungos. 5. Terpenoides. I. Oliveira, Antonio Fernando M. (orient.). II. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-055

ÍTALO RAFAEL DE LIMA MONTEIRO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE
CERAS EPICUTICULARES FOLIARES DE ESPÉCIES DA CAATINGA**

APROVADA EM: 23 de fevereiro de 2022

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira
Departamento de Botânica (UFPE)
Orientador

Profa. Dra. Eugênia Cristina Gonçalves Pereira
Departamento de Ciências Geográficas (UFPE)
Avaliador Interno

Prof. Dr. Rafael de Paiva Farias
Centro Multidisciplinar (UFAC)
Avaliador Externo

Prof. Dr. Marciel Teixeira de Oliveira
Departamento de Botânica (UFPE)
Avaliador Interno - Suplente

Profa. Dra. Karla Viviane de Figueiredo-Lima
Secretaria de Educação e Esportes de Pernambuco
Avaliador Externo - Suplente

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, lugar que me acolheu da graduação até o mestrado e me proporcionou oportunidades de acesso à Educação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa e auxílio financeiro o que possibilitou a realização dessa pesquisa.

Ao meu orientador Antônio Fernando Moraes de Oliveira, obrigado por me acolher no início do mestrado, por toda ajuda na escrita, por todo conhecimento transmitido, humildade e paciência para propagar seus conhecimentos.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecologia Aplicada e Fitoquímica – LEAF da UFPE. Jael, Felicidade, Edward, João e Aline. Obrigado pelo companheirismo, conversas e ensinamentos.

Aos colegas do Laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores – UFPE, Athaline Diniz, Professora Patrícia Vieira Thiago, Ewerton e Manu. Obrigado pelo acolhimento, colaboração e ensinamentos sobre os Fungos.

Aos meus colegas do PPGBV, Mayara, Djalma e David José. Por toda a experiência, conhecimentos compartilhados e conversas.

A Professora Norma Gusmão e sua aluna Ninive pela a colaboração e disponibilização de espaço no Depto. de Antibióticos – UFPE, para realização dos testes antibacterianos.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal (PPBGV) da UFPE, os coordenadores, professores e secretários.

À minha família, em especial, aos meus pais, Isavan Monteiro e Fátima Maria, por sempre terem acreditado em mim, por todo apoio na minha vida e aos meus estudos.

Aos meus amigos de São Loureço da Mata, obrigado pelo companheirismo e energias positivas.

Jailson, obrigado por me escutar, pela paciência e por me divertir nos momentos difíceis, sempre se disponibilizou a me ajudar de todas as formas. Vinícius, obrigado pelo carinho, paciência e compreensão quando eu passava dias ocupado com a dissertação.

Obrigado a todos e todas que contribuíram para este trabalho de alguma forma, da banca examinadora a outras pessoas que não foram citadas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da cutícula vegetal 16

Figura 2. Exemplos de triterpenoides encontrados como constituintes das ceras cuticulares. 18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais classes de lipídios alifáticos encontradas em ceras cuticulares 17

Tabela 2. Classes de compostos encontrados em ceras epicuticulares e suas interações com
fungos fitopatogênicos. 31

RESUMO

A cera epicuticular representa a face mais externa da epiderme interagindo com os agentes de natureza biótica e abiótica na superfície das plantas. Quimicamente, as ceras (epi e intracuticulares) são formadas por constituintes alifáticos de cadeias longas e por compostos cíclicos, os quais são os principais responsáveis pelas funções desempenhadas pela cutícula, como a proteção da planta contra a perda excessiva de água durante a transpiração cuticular. Todavia a composição e a ultraestrutura dos constituintes cuticulares revelam outros papéis importantes como a proteção contra o excesso de radiação solar e a prevenção contra insetos herbívoros e outros patógenos, principalmente os fungos. Os estudos sobre potencial antimicrobiano de ceras epicuticulares são desenvolvidos há décadas, sobretudo, nas espécies de importância agrônômica. Várias espécies da Caatinga já foram investigadas quanto ao seu potencial antimicrobiano. Todavia, o potencial antimicrobiano baseado em constituintes de natureza cuticular é ausente até a presente data em plantas nativas. Os objetivos deste trabalho foram quantificar e identificar a composição química das ceras epicuticulares de *Allamanda blanchetii* (Apocynaceae), *Aspidosperma pyrifolium* (Apocynaceae), *Cynophalla flexuosa* (Capparaceae), *Jatropha mutabilis* e *Croton heliotropiifolius* (Euphorbiaceae) ocorrentes na Caatinga, bem como avaliar o potencial antimicrobiano dos constituintes. A quantificação e identificação dos constituintes químicos das ceras epicuticulares foi realizada através de cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Os ensaios antifúngicos foram realizados frente à *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, fungos fitopatogênicos de importância agrônômica mundialmente. Para este propósito foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a avaliação do efeito das ceras epicuticulares no crescimento micelial em meio sólido. Os extratos cuticulares também foram testados frente à cepas bacterianas de importância clínica como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Serratia* sp. Nestes ensaios, foi utilizado o método de microdiluição em caldo e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada por subcultivo em meio sólido. Os principais constituintes identificados na cera foliar das espécies foram triterpenos e *n*-alcanos. Álcoois primários, ácidos graxos, tocoferóis, fitoesteroides e alcaloides foram identificados em menores proporções. Nenhuma inibição significativa do crescimento micelial em meio sólido foi observada, porém, a germinação dos esporos de *C. gloeosporioides* foi inibida por quatro extratos testados no ensaio de microdiluição, sendo o extrato de *A. pyrifolium* (128 µg/mL) e *J. mutabilis* (256 µg/mL) os

mais ativos com inibição de 100%. Nenhum dos extratos testados até 1024 µg/mL inibiu a germinação dos esporos de *F. oxyspoum*. Sobre os testes antibacterianos, o extrato de *J. mutabilis* apresentou baixa atividade contra *B. subtilis* na concentração de 1030 µg/mL, seguido por *A. blanchetii* (6180 µg/mL) contra *E. coli*. Do ponto de vista químico, as espécies com maior atividade apresentaram como compostos majoritários os triterpenos lupeol (*A. pyrifolium*), os ácidos ursólico e oleanólico (*A. blanchetii*) e uma mistura de lupeol e lupenona (*J. mutabilis*). Esses achados ampliam o conhecimento da diversidade química cuticular de algumas plantas na Caatinga, bem como o potencial antimicrobiano de triterpenos cuticulares de algumas espécies aqui estudadas.

Palavras-chave: Antimicrobianos; Bactérias; Bioensaios; Fungos; Terpenoides.

ABSTRACT

The epicuticular wax of plants represents the outermost surface of the epidermis interacting with agents of a biotic and abiotic nature. Chemically, epi- and intracuticular waxes are formed by long-chain aliphatic constituents and cyclic compounds, which are primarily responsible for the functions performed by the cuticle. The protection of the plant against excessive water loss during cuticular transpiration stands out as the main of these functions. However, the composition and ultrastructure of the cuticular constituents reveal other important roles, such as protection against excess solar radiation and prevention against herbivorous insects and other pathogens, especially fungi. Studies on the antimicrobial potential of epicuticular waxes have been developed for decades, especially in species of agronomic importance. Several species of Caatinga have already been investigated for their antimicrobial potential. However, no analysis on the antimicrobial potential based on cuticular constituents has been conducted to date. The objectives of this work were to identify the chemical composition and evaluate the antimicrobial potential of the epicuticular waxes of *Allamanda blanchetii* (Apocynaceae), *Aspidosperma pyrifolium* (Apocynaceae), *Cynophalla flexuosa* (Capparaceae), *Jatropha mutabilis* and *Croton heliotropiifolius* (Euphorbiaceae). The quantification and identification of chemical compounds were performed using gas chromatography and mass spectrometry. Antifungal assays were carried out against *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum gloeosporioides*, phytopathogenic fungi of agronomic importance. For this purpose, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined and the effect of the wax on mycelial growth in solid medium was evaluated. The cuticular extracts were also tested against bacterial strains of clinical importance such as *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Serratia* sp. In these assays, the broth microdilution method was used and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was determined by subculture on solid medium. The main constituents identified in the leaf wax of the species were triterpenes and *n*-alkanes. Primary alcohols, fatty acids, tocopherols, phytosteroids, and alkaloids were identified in smaller proportions. No significant inhibition of mycelial growth in solid medium was observed, however, the germination of *C. gloeosporioides* spores was inhibited by four extracts tested in the microdilution assay, being the extracts of *A. pyrifolium* (128 µg/mL) and *J. mutabilis* (256 µg/mL) the most active, causing 100% inhibition. None of the extracts tested up to 1024 µg/mL inhibited the germination of *F. oxysporum* spores. Regarding antibacterial tests, the extract of *J. mutabilis* showed significant

results against *B. subtilis* at a concentration of 1030 µg/mL, followed by the extract of *A. blanchetii* (6180 µg/mL) against *E. coli*. From a chemical point of view, the most active species presented as major compounds the triterpenes lupeol (*A. pyriformis*), ursolic and oleanolic acids (*A. blanchetii*), and a mixture of lupeol and lupenone (*J. mutabilis*). *C. flexuosa*, which presented n-alkanes as major wax constituents, showed the lowest activity among the tested species. These findings expand the knowledge about the cuticular chemical diversity of some species from Caatinga not yet investigated, as well as about the antimicrobial potential of cuticular triterpenes of some of the species studied here.

Keywords: Antimicrobials; Bacteria; Bioassays; Fungi; Terpenoids.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivos Gerais	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1 Caatinga: Características Ambientais e Conservação	14
3.2 Ceras Epicuticulares	15
3.3 Ceras Epicuticulares em Espécies Vegetais Brasileiras	19
3.4 Fungos Fitopatogênicos e Patógenos Bacterianos	22
3.4.1 <i>Características dos Fungos e Evidências sobre Atividade Antifúngica das Ceras Epicuticulares</i>	22
3.4.2 <i>Ceras Epicuticulares e interações com Fungos</i>	27
3.4.3 <i>Características das Bactérias e evidências sobre atividade Antibacteriana das Ceras Epicuticulares</i>	32
3.5 Espécies da Caatinga selecionadas para estudos de atividade antimicrobiana	36
3.5.1 <i>Allamanda blanchetii</i>	36
3.5.2 <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	37
3.5.3 <i>Croton heliotropiifolius</i>	37
3.5.4 <i>Cynophalla flexuosa</i>	38
3.5.5 <i>Jatropha mutabilis</i>	39
REFERÊNCIAS	40
4 MANUSCRITO	61
ANEXOS	98

1 APRESENTAÇÃO

A Floresta Tropical Sazonalmente Seca Brasileira, também conhecida como Caatinga, é um ecossistema com características únicas, cobrindo grande parte da região Nordeste do Brasil e do norte do estado de Minas Gerais. As plantas neste ambiente são adaptadas a condições extremas, resistindo a temperaturas anuais elevadas e baixos índices de precipitação pluviométrica. Inúmeras pesquisas já apontaram a importância da diversificada flora dessa região. Várias espécies vegetais da Caatinga, por exemplo, são utilizadas pelas comunidades tradicionais como alimentos, recursos madeireiros e medicinais.

Apesar de diversos estudos de natureza ecofisiológica, química e farmacológica na Caatinga, investigações relacionando a cutícula vegetal ainda são escassas. A cutícula vegetal consiste em uma camada acelular presente nos órgãos aéreos primários dos vegetais. Estruturalmente é formada por uma camada interna denominada cutina, constituída de carboidratos e lipídios associados (ceras intracuticulares) e por uma mais externa formada por uma mistura complexa de lipídios alifáticos e cíclicos, genericamente chamados de ceras epicuticulares. As ceras epicuticulares constituem a principal interface entre o interior da planta com o ambiente, protegendo-a contra agentes bióticos e abióticos.

Funcionalmente, as ceras cuticulares minimizam a perda excessiva de água durante a transpiração cuticular, sendo esta sua função primária. Devido a sua composição e arranjo de seus constituintes, a cutícula possui outras funções vitais para a planta, como por exemplo, atuar como barreira para proteção contra radiação solar excessiva e poluentes atmosféricos. A herbivoria, a qual as plantas estão sujeitas, também pode ser mediada até certo ponto pelas ceras epicuticulares. Assim, insetos podem evitar de se estabelecer em uma planta devido às características químicas da cutícula. Agentes patogênicos como fungos e bactérias também podem ter seu crescimento diminuído pela ação dos constituintes epicuticulares, os quais podem inibir a germinação dos esporos, por exemplo.

Neste sentido, produtos naturais demonstram ser fontes para novos pesticidas, visto que produtos agroquímicos sintéticos provocam o agravamento da poluição ambiental e contaminação humana. De forma semelhante, há uma crescente tentativa de pesquisadores de encontrar novas substâncias antibacterianas de origem vegetal. A resistência bacteriana aos antibióticos é um dos problemas de saúde pública global, que ameaça o controle e tratamento de infecções bacterianas.

Diante do exposto, o presente trabalho analisou se a composição química da cera cuticular foliar de cinco espécies ocorrentes na Caatinga e o seu potencial antifúngico *in vitro* contra espécies de relevância agrônômica, bem como analisou o potencial antibacteriano dos extratos cuticulares.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Identificar a composição química e avaliar o potencial antimicrobiano *in vitro* das ceras epicuticulares foliares de cinco espécies ocorrentes na Caatinga, *Allamanda blanchetii* A.DC., *Aspidosperma pyrifolium* Mart. & Zucc (Apocynaceae), *Croton heliotropiifolius* Kunth, *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) e *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae).

2.2 Objetivos específicos

- Identificar e determinar a proporção dos principais constituintes da cera epicuticular foliar das espécies estudadas.
- Avaliar o potencial antifúngico das ceras epicuticulares contra linhagens fitopatogênicas pertencentes aos gêneros *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Alternaria*.
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos epicuticulares sobre o crescimento dos fungos.
- Determinar os valores da CIM e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos epicuticulares sobre o crescimento de bactérias patogênicas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Caatinga: Características Ambientais e Conservação.

A Caatinga é um domínio fitogeográfico tipicamente brasileiro caracterizado pelo clima semiárido. O termo Caatinga é derivado do tupi “ka'a [mata] + tinga [branca]” significando “mata-branca” devido às características da vegetação, em geral, caducifólia, xerófita e espinhosa. Também é referida como Floresta Tropical Sazonalmente Seca, tratada no inglês como *Seasonally Dry Tropical Forests* (SDTF) (PENNINGTON *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2012; APGAUA *et al.*, 2014). A principal característica abiótica dessas florestas é a precipitação média anual menor que 1800 mm (MURPHY E LUGO 1986; GENTRY, 1995). Na Caatinga, a precipitação anual média sofre variação em tempo e espaço. Aproximadamente 70% da região recebem entre 600 a 1000 mm de precipitação média anual e 0,6% da região menos que 400 mm. Algumas áreas montanhosas conseguem receber aproximadamente 1800 mm de precipitação média por ano (SILVA *et al.*, 2017b). Como resultado da precipitação irregular, a vegetação da Caatinga está submetida à deficiência hídrica sazonal (VELOSO *et al.*, 2002).

A região da Caatinga (= caatingas) é constituída por um mosaico diversificado de florestas secas e vegetação arbustiva de dossel baixo. Além disso, as plantas possuem áreas basais menores do que as de florestas tropicais úmidas (MURPHY E LUGO, 1986; VELOSO *et al.*, 2002;). De acordo com a Sinopse do Censo Demográfico para o Semiárido brasileiro – (INSA 2012), essa é a região semiárida mais populosa do mundo, com 26 habitantes por km². Além disso, a Caatinga é a maior e mais diversa floresta tropical sazonalmente seca na região Neotropical, cobrindo 912,529 km² do território brasileiro (SILVA *et al.*, 2017b).

A intensificação da ação humana, sobretudo, na perturbação do ambiente natural e uso não sustentável dos recursos da Caatinga, está contribuindo para a redução de biomassa e desertificação (LEAL *et al.*, 2005). A população do ambiente rural tem uma grande dependência dos recursos naturais para sobrevivência, consequentemente, a exploração gradativa é maior (SINGH, 1998). Atividades como remoção de produtos florestais e a caça de animais silvestres da Caatinga geram transformações nas condições do habitat. Essas atividades afetam não apenas o ciclo de vida do uso de recursos, mas também a sustentabilidade das práticas humanas e a dinâmica de todo o sistema socioecológico (ALBUQUERQUE *et al.*, 2017). Somado a isto,

a crescente urbanização na Caatinga intensifica um modelo de uso extrativista dos recursos. Assim, é preciso refletir sobre estratégias de conservação e uso sustentável (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007a).

3.2 Ceras Epicuticulares

A cutícula vegetal consiste em uma camada protetora acelular que reveste todos os órgãos aéreos primários das plantas. É formada internamente pela cutina, esta, constituída por carboidratos e lipídios associados (ceras intracuticulares) e por uma porção mais externa formada por misturas complexas de lipídios denominados conjuntamente de ceras epicuticulares. Morfologicamente as ceras epicuticulares podem ser depositadas na superfície dos órgãos vegetais sob forma de filmes (morfologia amorfa) ou de cristais quando vistas por microscopia eletrônica de varredura (**Figura 1**) (JETTER *et al.*, 2000; JETTER *et al.*, 2006; POLLARD *et al.*, 2008; BUSCHHAUS E JETTER, 2011).

A natureza lipídica torna a cutícula hidrofóbica, sendo esta característica crucial para a conquista do ambiente terrestre pelos ancestrais aquáticos (POST-BEITTENMILLER, 1996). Sabe-se que a cutícula possui diversas funções vitais para as plantas, tais como, proteger as folhas de elevados índices de radiação solar e de poluentes atmosféricos, inibir o ataque de patógenos e herbívoros, mas primariamente, controlar a perda excessiva de água durante a transpiração cuticular (POST-BEITTENMILLER, 1996; RISTIC E JENKS, 2002; MULLER E RIEDERER, 2005; BUSCHHAUS E JETTER, 2011; YEATS E ROSE, 2013).

Quimicamente, as ceras cuticulares são formadas por uma mistura complexa de compostos hidrofóbicos. Dentre estes, as classes mais onipresentes e frequentemente encontradas são formadas por compostos alifáticos de cadeia longa (JETTER *et al.*, 2006). Os ácidos graxos, notadamente os ácidos palmítico e esteárico, são os formadores dos demais constituintes alifáticos cuticulares como *n*-alcanos, álcoois primários e secundários, aldeídos, cetonas e ésteres (KUNST E SAMUELS, 2003; ZEISLER-DIEHL *et al.*, 2020).

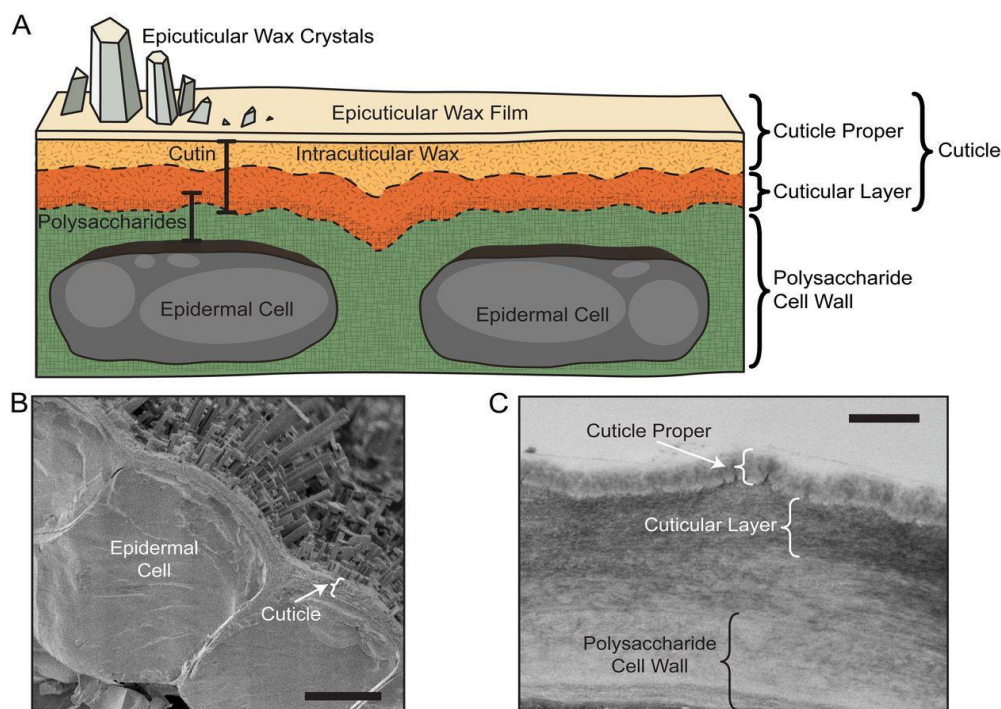


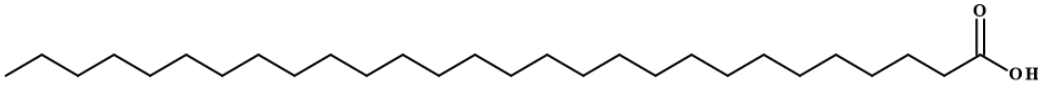
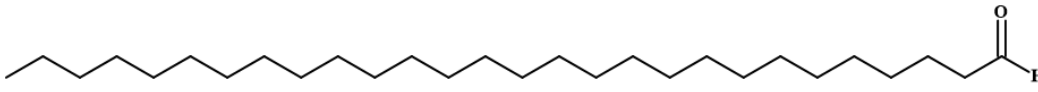
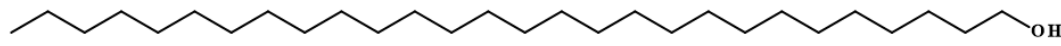
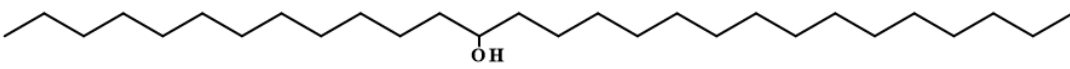
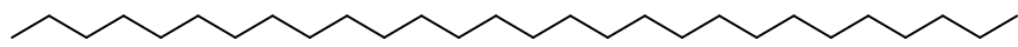
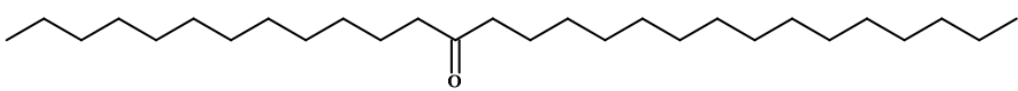
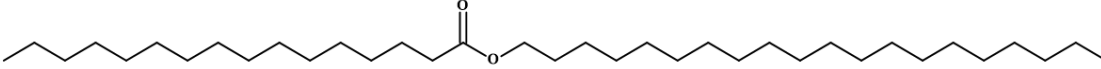
Figura 1. Estrutura da cutícula vegetal **A:** Diagrama esquemático destacando as principais estruturas da cutícula vegetal. **B:** Imagem de microscopia eletrônica de varredura de epiderme e cutícula em *Arabidopsis*, vista em corte transversal. Bar = 5 μ m. **C:** Imagem de micrografia eletrônica de transmissão de uma parede celular epidérmica do caule de *Arabidopsis* e cutícula. Bar = 500 nm. Fonte: YEATS E ROSE, (2013).

Metodologicamente, é possível extrair os constituintes cuticulares da superfície das folhas, frutos e brotos com o uso de solventes orgânicos. Após análises cromatográficas verifica-se que a maioria das estruturas possuem longas cadeias formadas por dezenas de átomos de carbono (ex. 15 a 60 átomos de carbono) (RIEDERER E SCHNEIDER, 1989; JETTER *et al.*, 2006).

Os ácidos graxos, por exemplo, são caracterizados pela presença do grupo terminal carboxila (COOH) e um comprimento médio de C₂₀ a C₂₄ átomos de carbono. Os alcanos são formados essencialmente por átomos de carbonos e hidrogênios com comprimento de cadeia de C₂₁ a C₃₅ átomos. Os álcoois primários possuem um grupo terminal hidroxila (OH) e um comprimento de cadeia de C₂₂ a C₄₀. Nos álcoois secundários, o grupo funcional hidroxila está entre dois ou mais carbonos (dióis) e tipicamente possuem de C₁₅ a C₃₅. (JETTER *et al.*, 2006; SZAKIEL *et al.*, 2012; YEATS E ROSE 2013). Os aldeídos são caracterizados pela presença do grupo terminal carbonila (CHO) e apresentam comprimento de C₂₄ a C₃₆. Cetonas apresentam o grupo carbonila (CO) em uma posição intermediária da cadeia (comprimento de

C₂₁ a C₃₅). Os ésteres (COO) são estruturas formadas a partir da reação entre ácidos graxos e álcoois, são caracterizados por um comprimento de cadeia extremamente grande, entre C₃₂ e C₆₄ (JETTER *et al.*, 2006; SZAKIEL *et al.*, 2012; YEATS E ROSE 2013). As principais classes de lipídios cuticulares são mostradas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Principais classes de lipídios alifáticos encontradas em ceras cuticulares.

Classe	Estrutura genérica
Ácido graxo	
Aldeído	
Álcool primário	
Álcool secundário	
n-Alcano	
Cetona	
Éster	

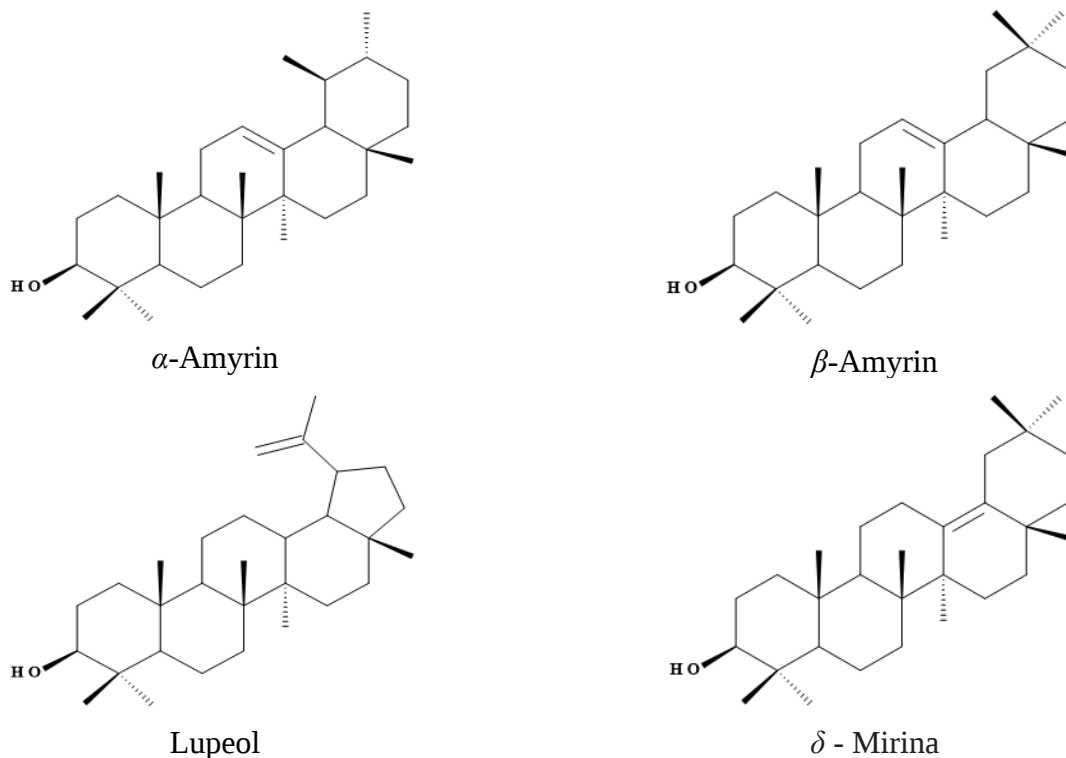
Fonte: Adaptado de YEATS E ROSE (2013).

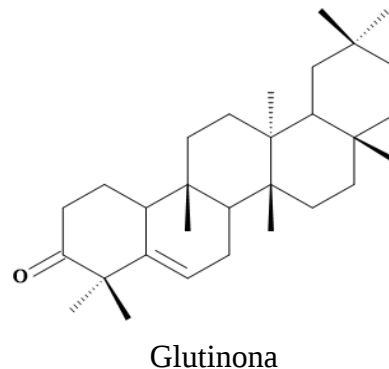
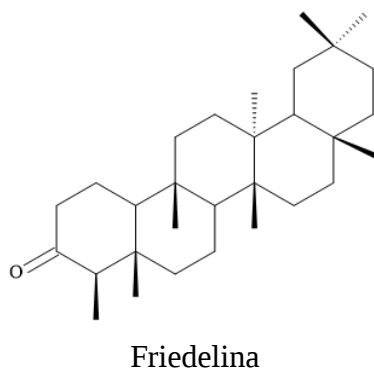
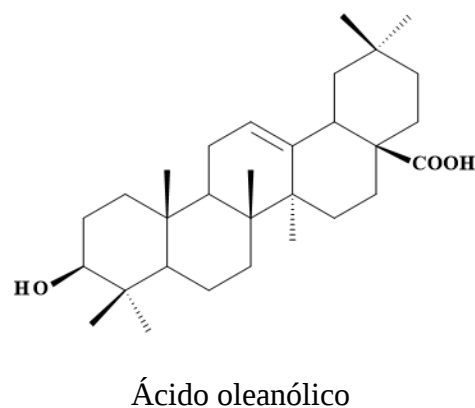
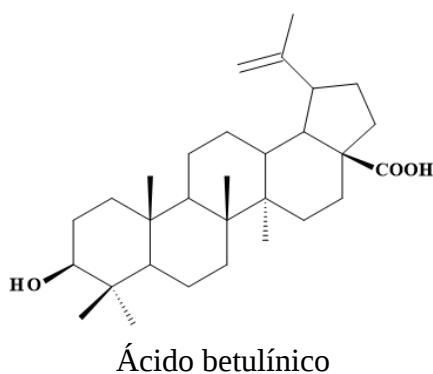
Além dos constituintes alifáticos, há diversos componentes cíclicos na cutícula como triterpenoides (os mais frequente), compostos nitrogenados e fenólicos. Estes constituintes podem estar presentes em pequenas quantidades em algumas espécies, enquanto podem dominar a mistura em outras espécies (BAKER, 1982; MULLER E RIEDERER, 2005; JETTER *et al.*, 2006). No caso dos triterpenos, a grande maioria é pentacíclica (**Figura 2**). Segundo Buschhaus e Jetter (2011), os triterpenos estão localizados quase que exclusivamente no compartimento intracuticular.

Em relação às diferenças na composição química entre a porção intracuticular e epicuticular, Buchhaus e Jetter (2011) relataram que na camada intracuticular, os compostos cíclicos predominam em até 95%. Por outro lado, na porção epicuticular, os mais representativos são os compostos de cadeia alifática (65 a 100%). No geral, álcoois primários tendem a acumular-se em maior quantidade na camada de cera intracuticular, enquanto *n*-alcanos, ácidos graxos livres e álcoois secundários tendem para a epicuticular (BUCHHAUS E JETTER, 2011).

Em síntese, a composição química de ceras cuticulares é altamente diversificada, não só entre diferentes espécies de plantas, mas também entre órgãos de uma mesma planta. Além disso, a composição pode ser afetada nos estágios de desenvolvimento da planta, bem como pela localização geográfica e as condições ambientais (POST-BEITTENMILLER, 1996; JETTER *et al.*, 2006; BUCHHAUS E JETTER, 2011; LI *et al.*, 2014). Dessa forma, a composição química influencia na morfologia, arranjo e a microestrutura da superfície da planta, determinando a adesão relativa de partículas de água, pesticidas, esporos de microrganismos e outros depósitos transportados pelo ar (BELDING *et al.* 2000).

Figura 2: Exemplos de triterpenoides encontrados como constituintes das ceras cuticulares.





Fonte: Adaptado de JETTER *et al.*, 2006; SZAKIEL *et al.*, 2012.

3.3 Ceras Epicuticulares em Espécies Vegetais Brasileiras

Alguns trabalhos sobre ceras epicuticulares de espécies brasileiras foram realizados em diferentes domínios, incluindo a Caatinga. Salatino e Salatino (1983), investigaram a importância taxonômica do estudo das ceras em 24 espécies de Annonaceae. Parafinas (= *n*-alcanos), cetonas e álcoois insaturados foram detectados por esses autores através de análises cromatográficas e espectrométricas. Amaral *et al.* (1985), quantificaram o teor de cera foliar epicuticular de eudicotiledoneas do Cerrado. Posteriormente, Salatino *et al.* (1985) aumentaram o número de espécies examinadas para este o cerrado. Salatino *et al.* (1986, 1989, 1991) investigaram a morfologia das superfícies foliares de espécies lenhosas do Cerrado, bem como a significância taxonômica dos alcanos epicuticulares em espécies de Velloziaceae.

O rendimento total de ceras foliares de oito espécies aquáticas foi investigado por Amaral *et al.* (1990), sendo os alcanos priorizados nas análises. Alguns estudos também demonstraram atividade antiherbivoria de constituintes cuticulares (VARANDA *et al.*, 1992; SALATINO *et al.*, 1998). Varanda *et al.* (1992) observaram que a queda na taxa de

sobrevivência de *Schizaphis graminum* Rond. (Hemiptera: Aphididae) foi provocada pelo ácido ursólico da cera de *Jacaranda decurrens* Cham. (Bignoniaceae). A influência das ceras epicuticulares foliares de nove espécies lenhosas do Cerrado no comportamento de forrageamento da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Formicidae, Attini) foi investigada por Salatino *et al.* (1998). Folhas de *Didymopanax vinosum* E. March. (Araliaceae) e *Ouratea spectabilis* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) foram as mais evitadas pelas formigas. Segundo estes autores, o triterpeno lupeol e *n*-álcoois primários podem ser os responsáveis pelos efeitos observados.

Machado e Barros (1995) estudaram a estrutura das ceras epicuticulares em *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (Arecaceae), sugerindo que a contínua e uniforme camada de cera adaxial deve ser eficaz no controle da transpiração cuticular. Varanda e Santos (1996) realizaram uma análise comparativa da composição das ceras entre plantas do Cerrado e de Floresta Estacional Semidecídua. Os autores observaram um maior teor de ceras nas espécies do Cerrado, mas os hidrocarbonetos predominaram nas espécies de Floresta Estacional Semidecídua.

Mimura *et al.* (1998) encontraram dois padrões de distribuição de alcanos cuticulares em oito espécies de *Huberia* DC. (Melastomataceae). Com base em análises de agrupamento (distância Euclidiana e UPGMA) foi verificado que um dos padrões foi caracterizado pelo predomínio de hentriacontano (C31) ou tritriacontano (C33) e o outro tendo nonacosano (C29) como homólogos principais.

Outros trabalhos de natureza quimiotaxônomica foram realizados por diferentes autores. Motta *et al.* (2009), constataram uma baixa variabilidade intraespecífica em 23 espécimes de sete espécies de *Camarea* A.St.-Hil. (Malpighiaceae). A distribuição dos *n*-alcanos poderia ser útil para o estabelecimento de associações entre as espécies do gênero, mas inadequada para distinguir entre os gêneros da família. Cordeiro *et al.* (2011) estudaram a composição química das ceras epicuticulares de duas espécies de Apocynaceae ocorrentes em matas e restingas brasileiras: *Mandevilla guanabarica* Casar. ex M.F. Sales, Kin.-Gouv. & A.O. Simões e *Mandevilla moricandiana* (A. DC.) Woodson. Segundo estes autores, *n*-alcanos (nonacosano-C29, hentriacontano-C31 e tritriacontano-C33) e triterpenos (lupeol e α e β -amirina) foram os principais constituintes identificados. Costa Filho *et al.* (2012) estudaram a distribuição de *n*-alcanos epicuticulares de sete espécies do gênero *Croton* L. da Caatinga, mostrando o predomínio de C29 e C31 neste táxon. Silva *et al.* (2012) verificaram o potencial

quimiotaxonômico dos *n*-alcanos epicuticulares foliares de nove espécies do gênero *Solanum* L. subgênero *Leptostemonum* (Solanaceae). A análise fenética mostrou três agrupamentos caracterizados pelo predomínio de C31, C33 e um outro formado pela distribuição equitativa de C33 e pentatriacontano-C35.

Os estudos de natureza química e ecofisiológica das ceras epicuticulares para espécies da Caatinga são escassos. Oliveira e Salatino (2000) foram os primeiros a estudar os constituintes químicos de algumas espécies da Caatinga. Dentre as quatro espécies analisadas pelos autores *n*-alcanos predominaram em duas delas, *Capparis yco* Mart. (Capparaceae) e *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae), enquanto triterpenos foram majoritários em *Aspidosperma pyrifolium* Mart. & Zucc. (Apocynaceae) e *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). Experimentalmente, Oliveira *et al.* (2003) verificaram que o potencial antitranspirante das ceras de espécies da Caatinga e Cerrado eram dependentes da composição química. Espécies em cujas ceras predominavam *n*-alcanos perdiam menos água do que naquelas em que os triterpenos foram majoritários. A integridade da cera cuticular foliar na manutenção das trocas gasosas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Bailon e *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) foi relatada por Figueiredo *et al.* (2012; 2015). Nestes estudos foram constatados que a síntese e deposição de cera foi induzida pelo déficit hídrico.

A caracterização química da cera cuticular de duas cultivares de mamona (*Ricinus communis* L., Euphorbiaceae) foi descrita por Silva *et al.* (2016; 2017a). As cultivares BRS Energia e BRS Nordestina diferiram na composição química da cera, presumindo-se que o teor e a composição da cera poderiam impactar no controle da perda excessiva de água entre essas duas cultivares com diferentes graus de tolerância à seca. Posteriormente, Silva *et al.* (2021) descreveram que sob estresse hídrico, ambos genótipos apresentaram aumento na quantidade relativa de *n*-alcanos e ácidos graxos.

Medeiros *et al.* (2017) relataram que a redução da disponibilidade de água no solo causava alterações morfológicas e ecofisiológicas em *A. pyrifolium*. Pereira *et al.* (2019) reportaram que a falta da cera epicuticular na epiderme adaxial de *C. flexuosa* alteravam o metabolismo fotossintético foliar, bem como as características morfoanatômicas das folhas. Em ambos os estudos, a camada de cera foi alterada quimicamente a partir do déficit hídrico imposto.

Embora haja estudos com ceras epicuticulares de plantas da Caatinga, em sua maioria, esses trabalhos abordaram aspectos químicos, ecofisiológicos e taxonômicos. Nenhum estudo

sobre a bioatividade da cera cuticular de espécies ocorrente neste domínio foi relatado até o presente momento.

3.4 Fungos fitopatogênicos e Patógenos Bacterianos

3.4.1 Características dos fungos e evidências sobre atividade Antifúngica das Ceras Epicuticulares

Os fungos são organismos eucariontes uni ou pluricelulares. Diferentemente das plantas, não realizam fotossíntese e obtêm nutrientes através da absorção de materiais orgânicos do ambiente – seja do solo, da água do mar, da água doce ou de um hospedeiro animal ou vegetal (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016). Morfologicamente, as formas mais comuns são os bolores, formados por massas visíveis denominadas micélios, compostas de longos filamentos (hifas) e as leveduras, unicelulares. Os fungos reproduzem-se sexuada e assexuadamente e podem ser de vida livre ou atuar como agentes patogênicos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016).

Doenças de plantas causadas por patógenos fúngicos ocasionam grandes perdas na produção de alimentos em todo mundo. As perdas de safra devido a esses organismos prejudiciais, podem ser evitadas ou reduzidas por meio de medidas de proteção mecânicas e químicas (OERKE, 2006; CANTRELL *et al.*, 2012; FISHER *et al.*, 2018) Neste sentido, produtos naturais demonstram ser fontes para novos pesticidas (CANTRELL *et al.*, 2012). Por outro lado, o manejo de culturas e uso de agroquímicos sintéticos, como benzimidazóis e hidrocarbonetos aromáticos são os principais métodos utilizados na prevenção e controle (OERKE, 2006; CANTRELL *et al.*, 2012; IANTAS *et al.*, 2021). Apesar de eficientes, são ambientalmente indesejáveis podendo levar ao agravamento da poluição ambiental e contaminação humana (BARNARD E PADGITT, 1997; KIM *et al.*, 2018). O uso de agroquímicos também levou ao aumento e seleção de patógenos fúngicos resistentes (BRENT E HOLLOMON, 1998; DEISING *et al.*, 2008).

Tem havido um aumento significativo no desenvolvimento de antifúngicos de origem natural. Por exemplo, uma preparação das saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd. (Amaranthaceae) foi registrada para uso contra o patógeno de plantas *Botrytis cinerea* Pers. (STUARDO E MARTÍN, 2008). Da mesma forma, uma preparação bruta de saponinas de

Quillaja saponaria Molina (Quillajaceae) é fungicida para os patógenos de plantas *Penicillium roquefortii* e *Aspergillus ochraceus* (DIXIT *et al.*, 2010). Sharma *et al.* (2012) relataram que o composto isotiocianato de alila da semente de *Brassica juncea* (L.) Czern. (Brassicaceae) pode ser utilizado como agente antifúngico contra fitopatógenos.

Os extratos brutos vegetais apresentam resultados promissores para o controle de fitopatógenos (BAJPAI *et al.*, 2008; AL-REZA *et al.*, 2010; KNAAK *et al.*, 2013; SHIRAZI *et al.*, 2020). Bajpai *et al.* (2008) relataram que extratos brutos de folhas de *Silene armeria* L. (Caryophyllaceae), inibiram o crescimento dos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *Colletotrichum capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Botrytis cineria*, nas concentrações de 500, 125, 500, 500, 1000 e 62,5 µg/ml, respectivamente. De forma semelhante, extratos de flores de *Cestrum nocturnum* L. (Solanaceae) apresentaram inibição *in vitro* no crescimento de *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. capsici*, *C. capsici*, *S. sclerotiorum* e *B. cineria*, em concentrações de 125 até 1000 µg/mL (AL-REZA *et al.*, 2010).

Martin *et al.* (1957) relataram que algumas frações de cera de folhas de *Malus domestica* Borkh. (Rosaceae) demonstraram capacidade de inibir a germinação de *Podosphaera leucotricha*. Similarmente, Adams *et al.* (1962) e Johnston e Sproston (1965) sugeriram que os componentes solúveis da cera de *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) influenciaram a natureza antifúngica, diminuindo significativamente o crescimento de *Stemphylium sarcinaeforme*, *Alternaria solani*, *Botrytis allii*, *Glomerella* e *Monilinia fructicola*. Genders (1965) evidenciou que ceras epicuticulares de roseiras poderiam desempenhar um papel importante na resistência ao patógeno da mancha negra *Diplocarpon rosae*. Heather (1967) demonstrou que as ceras de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (Myrtaceae) desempenhavam uma função de resistência contra *Phaeoseptoria eucalypti*.

Quanto ao estudo da atividade antifúngica de ceras epicuticulares, Martin e Juniper (1970) publicaram o primeiro livro dedicado exclusivamente à cutícula vegetal. Esta obra ressalta o papel das ceras como barreira efetiva contra patógenos fúngicos. Vários autores encontraram princípios antifúngicos na cera cuticular de folhas e bagas de algumas variedades do café (*Coffea arabica* L., Rubiaceae). Nutman e Roberts (1960), Firman (1964), Hocking (1967), Lampard e Carter (1973), por exemplo, constataram que a cutícula é um fator de resistência importante ao *Colletotrichum coffeanum* Noack, e que, alguma diferença química ou física seria responsável pela inibição.

Blakeman e Sztejnberg (1973) sugeriram que a natureza química da cera de folhas de beterraba (*Beta vulgaris* L., Amaranthaceae) foi responsável pelo processo de inibição da germinação dos esporos de *Botrytis cinerea*. Parbery e Blakeman (1978) descreveram que os extratos com altas concentrações de cera de *B. vulgaris* e *Chrysanthemum morifolium* Ramat. (Asteraceae), inibiram a germinação dos conídios do gênero *Colletotrichum*. Segundo Rossall e Mansfield (1980), a germinação de *Botrytis cinerea* foi inibida nas camadas de cera foliar de *Vicia faba* L. (Fabaceae) depositadas por quatro metodologias diferentes. A atividade antifúngica foi associada a fração de álcoois primários da cera. Cohen *et al.* (1983) identificaram *in vivo* um diterpeno na cera de tabaco (*Nicotiana glutinosa* L., Solanaceae) inibidora do oídio (*Erysiphe cichoracearum*). Quando aplicado externamente às superfícies das folhas de plantas suscetíveis, este diterpeno inibiu fortemente a emergência dos tubos germinativos.

Reuveni *et al.* (1987) relataram que quando os componentes solúveis em acetona foram removidos da superfície das folhas de *Nicotiana tabacum* L., cv. Ky-14, a suscetibilidade ao mofo azul (*Peronospora tabacina*) aumentava. Na análise do extrato, identificaram-se, α - e β -4,8,13-duxatrieno-1,3-dióis como principais componentes antifúngicos removidos da superfície da folha. Esses compostos inibiram germinação de esporângios e desenvolvimento do mofo. De forma semelhante, Conn e Tewari (1989) mostraram que a remoção da cera cuticular em quatro cultivares de *Brassica* spp. aumentou significativamente a germinação de conídios de *Alternaria brassicae*. Outros estudos também reforçaram que a remoção de ceras epicuticulares, resultou em uma germinação de conídios maior e mais rápida em comparação com as superfícies intactas (BLAKEMAN, 1973; MARSHALL *et al.*, 1980; KOLATTUKUDY *et al.*, 1995; INYANG *et al.*, 1999; REISIGE *et al.*, 2006; ZABKA *et al.*, 2008).

Tomás-barberán *et al.* (1988) verificaram que 5,7-dimetoxiflavona, 3,5,6,7-tetrametoxiflavona, 5,6,7-trimetoxiflavona, 3,5,7-trimetoxiflavona, 5,6,7,8-tetrametoxiflavona e 3,5,6,7,8-pentametoxiflavona, isoladas da superfície das folhas e caules de *Helichrysum nitens* Oliv. & Hiern (Asteraceae) apresentaram atividade antifúngica. Em *Brassica oleracea* var. *gongulodes* L. (Brassicaceae), a estrutura e espessura da camada de ceras atuam na defesa contra o patógeno *Botrytis cinerea* (SCHWAB *et al.*, 1995). Segundo Kolattukudy *et al.* (1995) e Inyang *et al.* (1999), a composição e a ultraestrutura dos lipídios de superfície nos vegetais, podem inibir a germinação e formação de apressórios, no entanto algumas substâncias cuticulares também podem estimular a formação dessas estruturas.

O crescimento fúngico *in vitro* de *Metarhizium anisopliae* foi estimulado por compostos epicuticulares da colza (cv. Falcon), couve chinesa (cv. Tip Top) e nabo (cv. Tokyo Cross), táxons da família Brassicaceae (Inyang *et al.*, 1999). Estes autores verificaram que a germinação era mais pronunciada nas superfícies foliares sem parafinas do que nas folhas intactas.

Jenks e Ashworth (1999) descreveram que a estrutura e composição de ceras epicuticulares podem ser associadas à proteção contra fungos patogênicos, muitas vezes, exclusivas para a interação específica entre planta-patógeno. Em síntese, o equilíbrio entre a natureza química desses componentes cuticulares é determinante para cera de determinada espécie promover ou inibir a germinação e diferenciação das estruturas de infecção (KOLATTUKUDY *et al.*, 1995).

Em espécies do gênero *Lolium* (Poaceae), as propriedades da superfície adaxial da folha desencadearam a infecção por *Erysiphe graminis*. No entanto, na superfície abaxial, a infecção não ocorria e os conídios não formavam tubo germinativo (CARVER *et al.*, 1990). Posteriormente, Carver *et al.* (1996) sugeriram que a infecção por *E. graminis* não ocorre na superfície abaxial em *Lolium* spp. (Poaceae) devido a inibição dos conídios pela cera. A remoção da cera cuticular com clorofórmio restaurava a infecção.

García *et al.* (1997) constataram que o 5-(*n*)-alquilresorcinol, fração constituinte da cera de *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), mostrou-se responsável pela resistência aos patógenos *Aspergillus niger* e *Penicillium crysogenum*. Russin *et al.* (1997) descreveram que a cera dos grãos do milho GT-MAS: gk (*Zea mays* L. Poaceae), diminuíram o crescimento de *Aspergillus flavus* em 35% quando comparado ao tratamento controle. Gembah *et al.* (2001) confirmaram que ceras do milho inibiram o crescimento de *A. flavus*. Os compostos semelhantes a fenóis e hexadecanoato de etila mostraram ser proeminentes nas bandas associadas à resistência.

Um dos poucos estudos envolvendo a atividade antifúngica da cera cuticular de espécies brasileiras foi realizado por Alcerito *et al.* (2002). Esses autores identificaram na cera epicuticular das folhas de *Arrabidaea brachypoda* Bureau (Bignoniaceae), ocorrente no Cerrado, quatro flavonoides (3', 4'-di-hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona, cirsiolol, cirsimaritina e hispidulina) com atividade antifúngica contra o fitopatógeno *Cladosporium sphaerospermum*.

Além de atuar contra fungos fitopatogênicos, a cera cuticular também tem demonstrado potencial contra fungos patógenos em humanos. Passos *et al.* (2002) constataram que os extratos da cera de *Caryocar brasiliense* A.St.-Hil. (Caryocaraceae), exibiram um acentuado

potencial antifúngico sobre os isolados de *Cryptococcus neoformans*, uma levedura encapsulada que pode viver tanto em plantas como em animais. De forma similar, os extratos de *Annona squamosa* L. (Annonaceae), demonstraram atividade antifúngica moderada frente a *Aspergillus niger* (SHANKER *et al.*, 2007). Neste estudo foram identificados constituintes ativos nas folhas como 11-hidroxi-16-hentriacontanona, seu isômero 10-hidroxi-16-hentriacontanona e 16-hentriacontanona (palmitona). Johann *et al.* (2007) também verificaram que a cera cuticular das cascas de *Citrus* spp. (Rutaceae) apresentou atividade antimicrobiana contra os fungos dermatófitos *Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporum canis*.

Segundo Goodwin *et al.* (2007), as baixas concentrações de ésteres forneceram maior suscetibilidade à infecção do fitopatógeno *Diplocarpon rosae* em espécies do gênero *Rosa* (Rosaceae), enquanto espécies com proporções elevadas de ésteres e baixas de alcanos, apresentaram resistência. Os componentes da cera da planta hospedeira, *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. (Poaceae), e não hospedeira *Festuca arundinacea* Schreb. (Poaceae), desempenharam papéis importantes na determinação da eficácia com que essas plantas foram capazes de combater a invasão de *Curvularia eragrostidis* (WANG *et al.*, 2008).

Compostos antifúngicos na superfície de *Pyrus bretschneideri* Rehd cv. Pingguoli (Rosaceae) foram referidos em alguns estudos. Segundo Li *et al.* (2008), os ácidos palmítico, oleico e linolênico, além do esqualeno e ésteres alquílicos de ftalato poderiam ser os responsáveis pela inibição *in vitro* da germinação de conídios e do crescimento micelial de *Alternaria alternata*. Yin *et al.* (2011) e Chen *et al.* (2014) identificaram no fruto de *P. bretschneideri*, além dos compostos citados anteriormente, *n*-alcanos, aldeídos e triterpenos. Estes autores também constataram que a remoção da cera estimulava a germinação dos esporos e o crescimento micelial.

Ainda sobre o papel protetor dos componentes cuticulares de *P. bretschneideri* em diferentes estágios de desenvolvimento do fruto, a cera inibiu significativamente a germinação e crescimento micelial de *Alternaria alternata* (LI *et al.*, 2014; TANG *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2017). De acordo com os resultados de Yin *et al.* (2011) e Wu *et al.* (2017), os terpenoides em frutos de *P. bretschneideri* desempenham um papel na proteção da infecção da podridão causada por *A. alternata*. Similarmente, Wang *et al.* (2021) descreveram que terpenoides em ceras de *Lycium barbarum* L. (Solanaceae), podem contribuir para a resistência ao *A. alternata*.

O processo de inibição do fungo biotrófico *Golovinomyces orontii*, causador do oídio em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae), mostrou-se diferente nas variedades *cer3*

(resistente) e *cer1* (suscetível) (INADA E SAVORY, 2011). As diferenças nos efeitos de inibição da pré-penetração e crescimento micelial nas variedades, podem estar relacionadas à natureza química da cera entre os dois mutantes.

O papel das ceras foliares e de bagas da videira (*Vitis* sp., Vitaceae) como mecanismo de resistência a *Erysiphe necator* causador do oídio da videira foram analisados por Ozer *et al.* (2017). Nesse os autores identificaram 27 ácidos graxos, 26 alcanos, seis terpenos, três esteroides e outros compostos nas frações com alta atividade antifúngica ($\geq 75\%$ de inibição da germinação).

Segundo Potts *et al.* (2016), as diferenças na química da cera epicuticular de espécies do gênero *Eucalyptus* foram relacionadas à resistência ao patógeno *Austropuccinia psidii*. Similarmente, Santos *et al.* (2019) analisaram as ceras epicuticulares de 21 espécies de *Eucalyptus* para determinar a composição e classificá-las como susceptíveis ou resistentes ao *A. psidii*. Duas espécies foram classificadas como altamente resistentes, quatro como susceptíveis, e as demais com baixa resistência. Sugeriu-se que compostos específicos de cera podem ser responsáveis pela bioatividade.

Xiao *et al.* (2020) detectaram que o extrato bruto da cera foliar de *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Poaceae), potencializou o crescimento de *Penicillium* sp, no entanto diminuiu o diâmetro da colônia de *Alternaria alternata*. Por outro lado, a cera do caule de *S. bicolor* supriu o crescimento de *Penicillium* sp, mas não de *A. alternata*. Esses autores atribuíram as diferenças de bioatividade às variações químicas na cera. Carvalho *et al.* (2022) evidenciaram que a cera do genótipo resistente do cacau (*Theobroma cacao* L. Malvaceae), possui moléculas antifúngicas com atividade inibitória contra a germinação de basidiósporos de *Moniliophthora perniciosa* *in vitro*.

3.4.2 Ceras Epicuticulares e Interações com Fungos

Diversos autores têm constatado que os constituintes cuticulares podem apresentar um importante papel como sinalizadores para germinação e crescimento de fungos, tornando-se indutores desse processo. Inúmeros trabalhos descreveram que tanto hidrofobicidade da superfície, quanto os componentes de ceras epicuticulares, podem estimular os processos germinativos através de pistas químicas na superfície (TSUBA *et al.*, 2002; GNIWOTTA *et al.*,

2005; REISIGE *et al.*, 2006; ZABKA *et al.*, 2008; RINGELMANN *et al.*, 2009; HANSJAKOB *et al.*, 2010, 2011, 2012; UPPALAPATI *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2014; JU *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2019). Em sua grande maioria, os estudos envolvem espécies vegetais de importância agrônômica.

Segundo Akai *et al.* (1967), Maheshwari *et al.* (1967), Von Schütt (1971; 1972), Macko (1981) e Trione (1981), fungos fitopatogênicos usam componentes químicos da cutícula para desencadear a germinação e diferenciação dos tubos germinativos em apressórios. A sinalização, no entanto, é específica de patógeno e hospedeiro. Prusky e Saka (1989) relataram que o patógeno causador da antracnose do abacate, *Colletotrichum gloeosporioides*, germina e forma apressórios sobre ceras do fruto, sugerindo que há um estímulo químico presente na cera indutor à formação de estruturas de infecção. Podila *et al.* (1993) e Kolattukudy *et al.* (1995), comprovaram que a germinação e formação de apressórios por *C. gloeosporioides* foram seletivamente induzidos pela fração de álcoois de cadeias longas da cera do abacate (*Persea americana* Miller var. Haas, (Lauraceae), mas não sobre ceras de outras plantas.

Hegde e kolattukudy (1997) observaram que os conídios de *Magnaporthe grisea* germinaram e formaram apressórios ao entrar em contato com a superfície foliar de arroz. Tais autores atribuíram a indução da germinação e diferenciação aos componentes hidrofóbicos como hidrocarbonetos e álcoois alifáticos. Em estudos com *Capsicum annuum* L. (Solanaceae), esporos de *C. gloeosporioides* (isolado KG02) germinavam sobre ceras da variedade de frutos verdes, no entanto permanecem pouco ativos em superfícies da variedade de frutos vermelhos. Tal incompatibilidade foi correlacionada com a natureza química da camada de cera cuticular (OH *et al.*, 1999). Ésteres e ácidos graxos cuticulares podem induzir a lipase fúngica, facilitando a adesão e penetração dos conídios de *Botrytis cinerea* em *Vitis vinifera* cv. Pinot (COMMENIL *et al.*, 1999).

Tsuba *et al.* (2002) constataram que o aldeído hexacosanal presentes na folha de *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), era o fator responsável pela diferenciação do tubo germinativo do oídio *Brumeria graminis*, enquanto o aldeído triacontanal, na cera de folhas de repolho (uma planta não hospedeira), era muito menos eficaz nessa diferenciação. A avaliação da influência da cera epicuticular de *Pisum sativum* L. (Leguminosae) na germinação e diferenciação de *Erysiphe pisi* foi realizada por Gniwotta *et al.* (2005). Segundo estes autores, a superfície adaxial ofereceu maior estímulo na germinação e diferenciação. A superfície adaxial de *P. sativum* possui altas concentrações de álcoois primários (hexacosanol - C₂₆), enquanto a

superfície abaxial continha quantidades maiores de *n*-alcanos (hentriacontano - C₃₁) e baixo teor de álcoois primários.

Puccinia graminis, patógeno do trigo (*Triticum compactum* L. Poaceae), necessita de aldeídos epicuticulares específicos (nonacosanal - C₂₈) para induzir a formação de apressórios (REISIGE *et al.*, 2006). Os autores constataram que extratos clorofórmicos das ceras epicuticulares do trigo, mas não os extratos hexânicos, induziram 50% da germinação e produção de apressórios do fitopatógeno da ferrugem. Além disso, o extrato hexânico de ceras do trigo não foi indutivo, que em contraste com o extrato clorofórmico, não continha a banda de aldeído (REISIGE *et al.*, 2006).

Zabka *et al.* (2008) constataram que os dois principais componentes da cera de *H. vulgare*, o álcool hexacosanol e o aldeído (hexacosanal), mostraram atividades distintas na diferenciação do oídio *B. graminis*. O álcool inibiu efetivamente a diferenciação dos conídios, enquanto o aldeído a estimulou. A cera cuticular de *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. (Poaceae) potencializou significativamente o crescimento dos tubos germinativos dos conídios de *Curvularia eragrostidis*, mas não teve efeito na formação de apressórios (WANG *et al.*, 2008).

Feng *et al.* (2009) constataram que a remoção da cera foliar de *Triticum aestivum* L. comprometia os componentes da patogenicidade fúngica de *B. graminis*, incluindo adesão de conídios, formação de apressório e crescimento de hifas. Segundo esses autores, a cera apresenta alcanos como pistas químicas para desencadear a infecção. Ringelmann *et al.* (2009) descreveram que os processos de pré-penetração do fungo oídio *B. graminis* f.sp. *hordei* em *Lolium perene* L. (Poaceae) foram estimulados por aldeídos de cadeia longa (principalmente *n*-hexacosanal). Posteriormente, Hansjakob *et al.* (2011) verificaram que a ausência de aldeídos de cadeia longa comprometia a germinação de *B. graminis*, enquanto o revestimento da folha do milho selvagem (*Zea mays* cv. 836B) com ácido *n*-docosanóico, reduziu a germinação dos conídios. Em outro estudo, Hansjakob *et al.* (2012) confirmaram que o desenvolvimento do tubo germinativo primário em *B. graminis* f.sp. *hordei* era estimulado por aldeídos de cadeia longa.

Chen *et al.* (2014) demonstraram que extratos metanólicos e clorofórmicos das ceras de *Pyrus bretschneideri* estimularam o crescimento micelial de *Alternaria alternata*. No entanto, o crescimento foi inibido com ceras extraídas com éter e *n*-hexano. Este resultado sugeriu que o método de extração também é capaz de influenciar a bioatividade, devido a solubilidade dos diferentes compostos cuticulares nos solventes utilizados.

Segundo Zhu *et al.* (2017), os aldeídos *n*-hexacosanal e *n*-octacosanal foram mais eficazes na formação de ascósporos e diferenciação de conídios de *B. graminis* f.sp. *tritici* (Bgt) *in vitro*. Em *Eucalyptus grandis* W. Hill., Santos *et al.* (2019) identificaram o ácido hexadecanóico como sendo capaz de estimular a germinação de uresdósporos de *Austropuccinia psidii*.

Em espécies do gênero *Prunus* (Rosaceae), elevadas taxas de infecções pelo patógeno *Clasterosporium carpophilum* ocorreram em superfícies nas quais *n*-octadecanal e 1-hexacosanol estavam presentes (KHROMYKH *et al.*, 2020). Além disso, os autores constataram uma correlação positiva entre o grau da infecção e o teor do *n*-alcano tetrapentacontano, sugerindo uma atividade protetora ou sinérgica para a infecção. Esses dados reforçam o papel de sinalização química que as ceras exercem aos patógenos.

Nos últimos anos, pesquisas têm sido direcionadas para os aspectos genéticos que regulam a biossíntese de ceras cuticulares. A manipulação de genes para obtenção de uma cera com uma composição cuticular específica é de grande importância para a área de agronomia. Esses achados podem ser úteis para uma seleção de genótipos resistentes em estudos de melhoramento.

As modificações na expressão do gene *cer1* em mutantes de *Arabidopsis thaliana*, por exemplo, aumentaram a suscetibilidade ao patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*. A superexpressão desse gene causou um acúmulo de alcanos de cadeia longa na superfície, atuando como componentes ativadores do desenvolvimento fúngico (BOURDENX *et al.*, 2011). Yan Xue *et al.* (2014) destacaram que a infecção da folha de plantas mutantes *acbp1* de *A. thaliana* por *Botrytis cinerea* foi decorrente da diminuição do teor de ceras. Especificamente, *n*-alcanos com C₃₁ e C₃₃ átomos de carbonos e ácidos graxos com C₂₈ átomos de carbonos, que apresentaram taxas reduzidas em comparação ao tipo selvagem.

De forma semelhante, plantas mutantes de *Medicago truncatula* Gaertn (Leguminosae), conhecidas como *irg1*, apresentaram resistência à ferrugem causada por *Phakopsora pachyrhizi* e *Puccinia emaculata* e, ao patógeno da antracnose (*Colletotrichum trifolii*). Essa resistência foi possivelmente devida à perda completa dos cristais de cera epicuticular da superfície abaxial e hidrofobicidade superficial reduzida na folha. A composição das ceras na superfície abaxial de mutantes *irg1* apresentou mais que 90% de redução de álcoois primários (C₃₀) e um aumento preferencial de *n*-alcanos C₂₉ e C₃₁ em comparação com o tipo selvagem (UPPALAPATI *et al.*, 2012).

Delventhal *et al.* (2014) investigaram a resposta de linhagens não hospedeiras a uma espécie de fungo do complexo *Magnaporthe*. A presença desse fungo na superfície da cevada

(*Hordeum vulgare*) desencadeia a expressão do gene *CYP96B22* envolvido na biossíntese de ceras epicuticulares e, dessa forma, os constituintes cuticulares impedem a penetração do fitopatógeno. Em outra pesquisa com cevada (*H. vulgare*), Weidenbach *et al.* (2014) evidenciaram que os esporos de *B. graminis* apresentaram germinação reduzida em plantas mutantes. A análise de espectrometria de massas revelou que o mutante tem significativamente menos constituintes alifáticos com cadeias carbônicas acima de 24 átomos.

A partir dos exemplos, fica evidente que as ceras epicuticulares, além de inibir o crescimento fúngico, são capazes também de sinalizar, positivamente, para diferentes tipos de patógenos. Deste modo, os estudos revelam que o processo de infecção fúngica é altamente complexo e dependente da composição química da cutícula das plantas. A **Tabela 2** sumariza os achados apresentados.

Tabela 2. Compostos isolados encontrados em ceras epicuticulares e suas interações com fungos fitopatogênicos.

Classes/Referências	Tipo de atividade verificada	Componente químico
Ácidos graxos		
Santos <i>et al.</i> , (2019) Hansjakob <i>et al.</i> , (2011)	Atividade estimulante Atividade inibitória	Ácido hexadecanóico Ácido <i>n</i> -docosanóico
Álcoois		
Khromykh <i>et al.</i> , (2020) Zabka <i>et al.</i> (2008)	Atividade estimulante Atividade protetora	1-Hexacosanol <i>n</i> -Hexacosanol
Aldeídos		
Khromykh <i>et al.</i> (2020)	Atividade estimulante	<i>n</i> -Octadecanal
Reisige <i>et al.</i> , (2006); Zhu <i>et al.</i> , (2017).	Sinalização para formação de apressórios	<i>n</i> -Octacosanal
Tsuba <i>et al.</i> , (2002) Ringelmann <i>et al.</i> , (2009) Zabka <i>et al.</i> (2008) Zhu <i>et al.</i> , (2017) Hansjakob <i>et al.</i> , (2010)	Sinalização para germinação. Atividade estimulante	<i>n</i> -Hexacosanal
Alcanos		
Khromykh <i>et al.</i> (2020)	Atividade protetora ou cúmplice da infecção	Tetrapentacontano
Cetonas		
Shanker <i>et al.</i> , (2007)	Atividade antifúngica	11-hidroxi-16-hentriacontanona 10-hidroxi-16-hentriacontanona

16-hentriacontanona

Flavonoides

Tomás-barberán <i>et al.</i> , (1988)	Atividade antifúngica	5,7-dimetoxiflavona, 3,5,6,7-tetrametoxiflavona, 5,6,7-trimetoxiflavona, 3,5,7-trimetoxiflavona, 5,6,7,8-tetrametoxiflavona 3,5,6,7,8-penta metoxiflavona
Alcerito <i>et al.</i> , (2002)	Atividade antifúngica	3',4'-dihidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona Cirsiliol Cirsimaritina Hispidulina

Terpenóides

Reuveni <i>et al.</i> , (1987)	Atividade antifúngica	α - e β -4,8,13-duxatrieno-1,3-dióis
Cohen <i>et al.</i> , (1983)	Atividade antifúngica	2-ketoepimanol

Outros compostos

García <i>et al.</i> , (1997)	Atividade antifúngica	5-(n)-alquilresorcinol
-------------------------------	-----------------------	------------------------

3.4.3 Características das bactérias e evidências sobre atividade antibacteriana das ceras epicuticulares

Bactérias são organismos com estrutura relativamente simples e unicelulares. Devido ao fato de seu material genético não ser envolto por uma membrana nuclear, as células bacterianas são denominadas de procariontes (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016). Morfologicamente, as bactérias apresentam-se em formato de esfera (cocos), de bastão (bacilos) e de espiral. De acordo com o arranjo celular e agrupamento dos cocos, eles podem ser chamados de diplococos, estreptococos, tétrades, sarcinas e estafilococos. Os bacilos, apresentam-se em forma de bacilo único, em pares (diplobacilos) ou em cadeias (estreptobacilos) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016). As bactérias espirais, têm uma ou mais curvaturas, algumas são bastões curvos chamados de vibriões. Outras, em formato helicoidal, chamadas espiro, por último, em formato helicoidal e flexível, são chamadas de espiroquetas. Além disso, geralmente se reproduzem por divisão binária e são nutridas por compostos orgânicos encontrados na natureza e de organismos vivos ou mortos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016).

Quanto à diversidade bacteriana, de acordo com o resultado da coloração de Gram, as bactérias são classificadas em Gram-positivas ou Gram-negativas. Esta separação baseia-se, principalmente na constituição da superfície da parede celular bacteriana (MADIGAN *et al.*, 2016). Em bactérias Gram-negativas a superfície é composta pela bicamada lipídica, uma intermediária de peptideoglicano e uma segunda membrana denominada lipopolissacarídica. As Gram-positivas são constituídas pela membrana citoplasmática e uma única camada espessa de peptideoglicano (MADIGAN *et al.*, 2016). Assim, tais características estruturais são capazes de interferir na atividade biológica de um antibiótico. As bactérias Gram-positivas, por exemplo, geralmente são susceptíveis à penicilina, enquanto a maior parte das Gram-negativas são resistentes (MADIGAN *et al.*, 2016; COSTA E JUNIOR, 2017).

As pesquisas em direção a novos antimicrobianos também são voltadas para as substâncias de origem vegetal (PINTO *et al.*, 2002; SILVA E JÚNIOR, 2010; TRENTIN *et al.*, 2011). A maioria dos fitoquímicos antimicrobianos, pertencem às classes dos compostos fenólicos, terpenos, alcaloides e peptídeos (SINGH, 2017). No entanto, constituintes de cera vegetal, como 16-hentriacontanona (cetona), já demonstraram atividade antibacteriana frente a patógenos humanos (SHANKER *et al.*, 2007). O estudo da atividade antimicrobiana de extratos vegetais *in vitro* é avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo-teste; esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM) (NCCLS document M7-A7, 2006; OSTROSKY *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2013; DOS SANTOS *et al.*, 2019).

Extratos brutos de diferentes órgãos de algumas espécies Brasileiras já tiveram seu potencial antibacteriano verificado *in vitro*, tais como: *Tabebuia avellaneda* Lorentz ex Griseb (Bignoniaceae) (MACHADO *et al.*, 2003), *Cnidocolus quercifolius* Pohl. (Euphorbiaceae), *Phyllanthus* sp. (Phyllanthaceae), *Pseudobombax marginatum* (A. St.-Hill., Juss. & Cambess.) (Malvaceae) e *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) (ALMEIDA *et al.*, 2012), *Buchenavia tetraphylla* (Aubl.) R. A. Howard (Combretaceae) (OLIVEIRA *et al.*, 2012), *Indigofera suffruticosa* Mill. (Fabaceae), *Sida urens* L. (Malvaceae), *Acanthospermum hispidum* DC. (Asteraceae), *Euphorbia hyssopifolia* L. (SILVA *et al.*, 2013), *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet (Burseraceae), *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson (Fabaceae), *Myracrodruon urundeuva* Alemão (Anacardiaceae) (TRENTIN *et al.*, 2011; 2014), *Annona vepretorum* Mart., *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Annonaceae) (ALMEIDA *et al.*, 2014; LIMA-SARAIVA *et al.*, 2017), *Mesosphaerum suaveolens* (Lamiaceae) (BEZERRA *et al.*, 2020) e *Croton tetradenius* Baill. (Euphorbiaceae) (SIQUEIRA *et al.*, 2021).

A Filosfera é um termo utilizado para se referir ao ambiente na superfície das folhas e frutos, que é físico, químico e biologicamente distinto da planta e da atmosfera que os rodeiam. Desta forma, fungos e bactérias que vivem neste habitat, são classificados como epifíticos quando não interferem na vida do hospedeiro (RUINEN, 1956; LEVEAU, 2006) e, patogênicos quando causam doenças no hospedeiro. Na Filosfera há uma grande quantidade de microrganismos, os quais são estimados em 10^{26} de bactérias (MORRIS E KINKEL, 2002).

No processo de interação planta-patógeno, as primeiras estruturas que os patógenos foliares se deparam são os cristais e filmes de ceras epicuticulares depositados na superfície. Assim, algumas evidências demonstram um relevante papel de ceras foliares nas interações bióticas com uma gama de microrganismos (RIEDERER, 2006; POLLARD *et al.*, 2008; YEATS E ROSE, 2013). Sabe-se que as ceras podem manter as células bacterianas e fúngicas suficientemente longes da epiderme da planta e, também, resistir à degradação microbiana (SWAIN, 1977). Além disso, um conjunto de fatores localizados na superfície foliar pode influenciar na resistência ou suscetibilidade da planta, como por exemplo, permeabilidade cuticular (BESSIRE *et al.*, 2007), hidrofobicidade da superfície (TSUBA *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2017), ângulo de contato dos cristais (ZABKA *et al.*, 2008) e composição química (YEATS E ROSE, 2013). Ainda assim, segundo estes últimos autores, alguns mecanismos de defesas são complexos e ainda não bem compreendidos.

Assim como patógenos de origem fúngicas, a maioria dos estudos sobre o papel das ceras epicuticulares contra agentes bacterianos foram conduzidos com espécies vegetais de interesse econômico. Marcell E Beatiie (2002a; 2002b) investigaram a colonização de duas espécies bacterianas, a saprófita *Pantoea agglomerans* e o patógeno *Clavibacter michiganensis* subsp. *Nebraskensis* utilizando como planta hospedeira uma linhagem selvagem e um grupo de mutantes do milho. Os autores observaram que as linhagens mutantes (*gl1*, *gl3*, *gl4*, *gl5* e *gl20*) retiveram populações bacterianas maiores do que o tipo selvagem. Segundo estes autores, a menor quantidade de cera nas linhagens mutantes pode ter motivado uma maior proliferação bacteriana.

Alguns componentes isolados da cera de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) demonstraram atividade antibacteriana moderada *in vitro* frente a patógenos humanos Gram-positivos (*Bacillus subtilis*, *Bacillus sphaericus*, *Staphylococcus aureus*) e Gram-negativos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella aerogenes* e *Chromobacterium violaceum*). Neste estudo, 11-hidroxi-16-hentriacontanona, seu isômero 10-hidroxi-16-hentriacontanona e 16-hentriacontanona (palmitona) demonstraram significativa atividade antibacteriana, notadamente a palmitona (SHANKER *et al.*, 2007).

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. (Brassicaceae) é uma das espécies modelo mais estudadas em diferentes pesquisas. Deste modo, a descoberta e entendimento de um fenômeno biológico na espécie pode facilitar o entendimento em outros grupos de organismos (PINTO *et al.*, 2002; DELATORRE E SILVA, 2008). Dentre essas pesquisas, existe uma área focada no grupo de vários *Arabidopsis* mutantes afetados na biossíntese de ceras, conhecidos como *eceriferum* (*cer*; literalmente “não carregador de cera”) (JENKS *et al.*, 1995).

Tang *et al.* (2007) investigando o mutante de *A. thaliana sma4*, em comparação com a planta selvagem, constataram que a linhagem *sma4* apresentava suscetibilidade ao patógeno bacteriano *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000. No entanto, este mutante apresentava resistência à germinação dos esporos fúngicos de *B. cinerea*. Concluiu-se que a enzima LACS2 codificava constituintes da cutina ou de outras estruturas cuticulares responsáveis pelo potencial antifúngico observado.

Modificações na expressão do gene *cer1*, aumentavam a suscetibilidade aos patógenos bacterianos *P. syringae* pv tomato DC3000 e DC3000/avrRpt2. Este gene codifica a enzima formadora de alcanos de cadeia longa, sugerindo que o super acúmulo desses compostos desencadeia a suscetibilidade ao patógeno (BOURDENX *et al.*, 2011). Mutantes de *A. thaliana eceriferum* (*cer1*, *cer6*, *cer9*, *cer16*) comparados ao respectivo tipo selvagem (*Landsberg erecta*), resultou na maior colonização de clados bacterianos, enquanto o tipo selvagem foi colonizado por apenas um único clado. A composição química da cera cuticular vegetal pode ser um fator que influencia a diversidade da comunidade bacteriana na Filosfera (REISBERG *et al.*, 2013).

Em *Arabidopsis dewax*, Ju *et al.* (2017) relataram resistência ao patógeno bacteriano *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. Essa planta transgênica apresenta potencial para o desenvolvimento de linhagens de *Brassica* resistentes a várias doenças. Em *A. thaliana eca2*, ocorreu resistência ao patógeno bacteriano *P. syringae*. Além disso, na caracterização química, *eca2* tem uma redução significativa tanto da cera cuticular quanto da cutina. Sugerindo que *eca2* é um modelo interessante para caracterizar a base molecular das defesas das plantas contra diferentes interações bióticas (BLANC *et al.*, 2018).

3.5 Espécies da caatinga selecionadas para estudos de atividade antimicrobiana

3.5.1 *Allamanda blanchetii*

Allamanda blanchetii é uma das cinco espécies de Apocynaceae endêmicas do Brasil, ocorrendo na maioria das vezes nos afloramentos rochosos e distribuindo-se na Caatinga e no Cerrado (GIULIETTI *et al.*, 2002). Popularmente é utilizada para problemas cardíacos, hipertensão, laxante, emético e catártico (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007b). O extrato da folha da espécie demonstrou propriedades biológicas variadas como atividade de eliminação de radicais livres de DPPH, atividade citotóxica no bioensaio de letalidade de artêmia, atividade trombolítica e atividade antibacteriana no ensaio de difusão em disco (SHARMIN *et al.*, 2013).

Uma outra espécie do gênero, *Allamanda cathartica* L., muito utilizada como planta ornamental. É vastamente encontrada na Amazônia, Mata atlântica e Cerrado. Medicinalmente, sua casca, folhas e flores aliviam inflamação, constipação, ascite e dor de cabeça por aplicação externa. Há alegações de que o extrato destilado da planta cura doenças infecciosas fúngicas e bacterianas (CHAVEERACH *et al.*, 2014). Além disso, pequenas quantidades são utilizadas como laxantes e eméticos. Quando usado em excesso, no entanto, torna-se um laxante forte e causa vômito excessivo, e, às vezes, até morte (PUPATTANAPONG, 1979).

In vitro, uma substância isolada de *A. cathartica* apresentou forte fungitoxicidade contra alguns causadores de dermatomicoses em animais e seres humanos (TIWARI *et al.*, 2002). Extratos obtidos de diferentes órgãos com diclorometano mostraram uma alta atividade antifúngica contra os dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Microsporum gypseum* (NAHAR *et al.*, 2010). Além de patógenos humanos, Masuduzzaman *et al.*, (2008) relataram que o extrato da folha foi considerado eficaz contra patógenos de plantas.

Em relação a composição da cera cuticular, alguns estudos foram realizados com espécies da família Apocynaceae, como por exemplo *A. pyrifolium* (OLIVEIRA *et al.*, 2000; MEDEIROS *et al.*, 2017), *Mandevilla guanabara* Casar. ex M.F.Sales, Kin.-Gouv. & A.O.Simões e *M. moricandiana* (A.DC.) Woodson (CORDEIRO *et al.*, 2011). Triterpenos pentacíclicos e *n*-alcanos ocorrem com frequência. Assim, partindo de uma abordagem quimiotaxonômica, é relevante que *A. blanchetii* seja submetida a testes antimicrobianos e de caracterização dos componentes cuticulares.

3.5.2 *Aspidosperma pyrifolium*

Aspidosperma pyrifolium popularmente conhecido como “pereiro”, pertence à família Apocynaceae e apresenta uma vasta distribuição geográfica nos domínios da Caatinga e do Cerrado. Possui de três a oito metros de altura ou assume um hábito mais arbustivo na Caatinga (OLIVEIRA, 1999; LEMOS *et al.*, 2012). É amplamente utilizada na medicina popular e sua madeira é usada na fabricação de móveis (SANTOS *et al.*, 2009). Espécies de *Aspidosperma* são conhecidas pelo potencial antiplasmodial em condições de malária (CHIERRITO *et al.*, 2014; AGUIAR *et al.*, 2015), anti-leishmania (CUNHA *et al.*, 2012), antinociceptivas, anti-inflamatório (AQUINO *et al.*, 2013), neuroprotetora, antioxidante e anti-inflamatória (ARAÚJO *et al.*, 2018).

Popularmente, a casca de *A. pyrifolium* é utilizada para tratar várias doenças, como dermatite, gastrite e malária, devido ao seu potencial anti-inflamatório (AGRA *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2019). Além disso, é conhecida como responsável por abortamentos em caprinos (SOUZA LIMA E SOTO-BLANCO, 2010). Seu potencial inseticida também foi descrito (TRINDADE *et al.*, 2008). Quanto a atividade antimicrobiana, algumas espécies do gênero já demonstraram atividades contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli* (OLIVEIRA *et al.*, 2009); *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *S. aureus* e *B. subtilis* (PESSINI *et al.*, 2012); incluindo *A. pyrifolium* frente à *S. aureus* (ROCHA *et al.*, 2018).

Em relação aos estudos com a cera cuticular de *A. pyrifolium*, a composição química já foi descrita por Oliveira *et al.* (2000) e Medeiros *et al.* (2017). Segundo esses autores, os principais constituintes da cera cuticular foliar desta espécie foram triterpenos e *n*-alcanos. Devido às diversas bioatividades mencionadas para a espécie e, a ausência de estudos sobre a bioatividade de seus constituintes de natureza cuticular, a avaliação do potencial antimicrobiano da espécie parece ser promissora.

3.5.3 *Croton heliotropiifolius*

Croton heliotropiifolius (Euphorbiaceae) é popularmente conhecida como “velame”. O táxon apresenta uma ampla distribuição nas américas. No Brasil, é mais comum em vegetação

de Caatinga, Cerrado e Mata atlântica (CARUZO et al., 2022). Trata-se de um arbusto aromático, com folhas e ramos cobertos por tricomas estrelados (LUCENA, 2009). É descrito seu uso em estudos etnofarmacológicos para tratamento de doenças como anemia, gripe, tosse, dor de estômago, distúrbios menstruais, dor nas costas e doenças do sangue utilizando diversos órgãos da planta (ALBUQUERQUE et al., 2007b), inflamação generalizada e dermatite (SARAIVA et al., 2015), dor de coluna (ROQUE et al., 2010), doenças parasitárias (VASCO-DOS-SANTOS et al., 2018; MACÊDO et al., 2015), febre e tumores (MACÊDO et al., 2015).

Estudos preliminares mostraram toxicidade moderada para *Artemia salina* (SILVA et al., 2018), atividade antibacteriana (ANGÉLICO et al., 2014; ARAÚJO et al., 2017), antifúngica e antioxidante (BRITO et al., 2018). Além disso, diversas atividades biológicas foram identificadas em espécies de *Croton*, como por exemplo em *C. ericoideus* Baill. atividade amebicida (VUNDA et al., 2012), atividade antioxidante em extratos *C. argyrophyllodes* Muell. Arg. (NERI et al., 2021), atividade antibacteriana do óleo de *C. adamantinus* Müll. Arg., *C. argyrophyllus* Kunth e *Croton tetradenius* Baill. (XIMENES et al., 2013; ARAÚJO et al., 2020; SIQUEIRA et al., 2021), atividade antinociceptiva e cicatrizante de *C. adamantinus* (XIMENES et al., 2013), atividade fitotóxica e nematicida do extrato de *C. ehrenbergii* Schltdl. (RIOS et al., 2019).

Em referência à composição da cera epicuticular, Costa Filho et al. (2012) estudaram a distribuição de *n*-alcanos em espécies de *Croton*, incluindo *C. heliotropiifolius*. Nenhum outro estudo tem sido conduzido neste aspecto. Desta forma, é interessante que esta espécie seja submetida a estudo antimicrobiano dos seus constituintes cuticulares, devido às várias espécies deste gênero possuírem algum tipo de propriedade medicinal comprovada.

3.5.4 *Cynophalla flexuosa*

Cynophalla flexuosa (Capparaceae), conhecida como “feijão-bravo”, é uma espécie nativa do semiárido que tem como sinônimo *Capparis flexuosa* (L.) L. Na Caatinga, é uma das espécies mais comuns, podendo assumir hábito arbustivo-arbóreo. Mantém-se verde durante quase todo o ano (SOARES NETO et al., 2014). Os poucos estudos realizados com a espécie são direcionados principalmente a taxonomia e ecofisiologia (SOARES NETO et al., 2014; FIGUEIREDO et al., 2018). Contudo, as análises químicas de ceras epicuticulares de *C.*

flexuosa foi efetuada por Pereira *et al.* (2019), sendo triterpenoides os principais componentes encontrados.

Popularmente, *C. flexuosa* é indicada como antídoto para picadas de cobras, utilizada no tratamento de febres, como depurativo e restauração do fluxo menstrual (ALBUQUERQUE E ANDRADE 2002; RIBEIRO *et al.*, 2014; YAZBEK *et al.*, 2016). Além disso, apresenta potencial bioinseticida sobre as larvas de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (SASAKI *et al.*, 2013). O óleo essencial de *C. flexuosa* demonstrou potencial antioxidante e atividade anti-acetilcolinesterase (CARVALHO *et al.*, 2021). O extrato hidroetanólico demonstrou efeito antioxidante e atividade inibitória de uma cepa de *Candida* spp. (SALAZAR *et al.*, 2022). O feijão-bravo é uma das espécies utilizadas para a alimentação animal da região do semiárido, sobretudo devido ao seu valor nutricional (ALMEIDA-NETO *et al.*, 2011).

Algumas espécies da família Capparaceae são utilizadas na medicina popular por vários grupos tradicionais (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007a; NAZAR *et al.*, 2020). Também são possuidoras de atributos farmacológicos (SECK *et al.*, 1993), como atividade antimicrobiana *in vitro* (PENDOTA *et al.*, 2015), atividade inibitória do crescimento de células cancerígenas (SUFFREDINI *et al.*, 2006), atividade antiviral (SIMÕES *et al.*, 2010), antinociceptiva, antirreumática, hipolipidêmica, antiaterosclerótica, antiangiogênica, antioxidante, anti-inflamatória (NAZAR *et al.*, 2020).

3.5.5 *Jatropha mutabilis*

Jatropha mutabilis (Euphorbiaceae) é uma espécie endêmica do Brasil, ocorrendo no Domínio Fitogeográfico da Caatinga (BIGIO *et al.*, 2022). A caracterização química da cera epicuticular de duas espécies do gênero *Jatropha*, uma delas nativa da Caatinga, são relatados em Figueiredo *et al.* (2012) e Figueiredo *et al.* (2015). Sabandar *et al.* (2013) revisaram as propriedades medicinais, fitoquímicas e farmacológicas do gênero. Estes autores descreveram que *J. curcas* L., *J. gaumeri* Greenm., *J. gossypifolia* L., *J. multifida* L., *J. nana* Dalzell & Gibson, *J. unicostata* Balf. f. possuem atividade antibacteriana (SABANDAR *et al.*, 2013). *J. curcas* também apresentou atividade antifúngica, a qual também foi descrita para *J. multifida* L. (WEI *et al.*, 2005).

Além da atividade antimicrobiana, estudos farmacológicos demonstraram várias atividades biológicas para as espécies do gênero. Por exemplo, antiprotozoário, anticoagulante, imunomodulador, anti-inflamatório, antioxidante, protoscolicida, inseticida, moluscicida, e inibição da acetilcolinesterase (SABANDAR *et al.*, 2013). Recentemente, o extrato de *J. mutabilis* reduziu os sintomas da tosse e aumentou o muco aquoso em camundongos (COSTA *et al.*, 2021). Assim, o gênero possui forte potencial para fonte de novas drogas, devido às suas várias atividades promissoras.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. B. et al. Studies on the disease resistance of *Ginkgo biloba*. **Phytopathology**, v. 52, n. 3, p. 233-236, 1962.
- AGRA, M. F. et al. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p.114-140, 2007.
- AGUIAR, A. C. C et al. *Aspidosperma* (Apocynaceae) plant cytotoxicity and activity towards malaria parasites. Part II: experimental studies with *Aspidosperma ramiflorum* in vivo and in vitro. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 7, p. 906-913, 2015.
- AKAI, S et al. An anatomical approach to the mechanisms of fungal infection. In: **The Dynamic Role of Molecular Constituents in Plant Parasite Interaction** (Ed. by C, J, Mirocha, I, Uritani), 1967, p, 120, American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, p.76–91, 2007a.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325–354, 2007b.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. People and natural resources in the Caatinga. In: **Caatinga**. Springer, Cham, 2017. p. 303-333.

ALBUQUERQUE, U. P; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.

ALCERITO, T. et al. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: Flavonoids and antifungal activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 7, p. 677-683, 2002.

ALMEIDA NETO, J. X. et al. Crescimento e bromatologia do feijão-bravo (*Capparis flexuosa* L.) em área de Caatinga no Curimataú paraibano, Brasil. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 488-494, 2011.

ALMEIDA, C. D. F. C. B. R. et al. Comparative study of the antimicrobial activity of native and exotic plants from the Caatinga and Atlantic Forest selected through an ethnobotanical survey. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 2, p. 201-207, 2012.

ALMEIDA, J. R. G. S. et al. Antioxidant, cytotoxic and Antimicrobial activity of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 258-264, 2014.

ALMEIDA, V. L. et al. Aspidosperma species: A review of their chemistry and biological activities. **Journal of ethnopharmacology**, v. 231, p. 125-140, 2019.

AL-REZA, S. M. et al. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 96, n. 2, p. 86-92, 2010.

AMARAL M. C. E., SALATINO M. L. F. AND SALATINO A. Cera epicuticular de Dicotiledôneas do Cerrado. **Revista brasileira de Botânica**, v.8, n. 1, p. 127-130, 1985.

AMARAL, M. C. E., SILVA, A. J. B. AND SALATINO, A. Alkanes of surface waxes from eight aquatic angiosperms. **Aquatic Botany**. v. 36, n. 3, p. 281-286, 1990.

ANGÉLICO, E. C. et al. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils and Crotons varieties modulator in the Brazilians Northeast semiarid. **African Journal of Plant Science**, v. 8, n. 7, p. 392-397, 2014.

APGAUA, D. M. G. et al. Tree community structure in a seasonally dry tropical forest remnant, Brazil. **CERNE**, Lavras, v. 20, n. 2, p. 173-182, 2014.

AQUINO, A. B. et al. The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-8, 2013.

ARAÚJO, D. P. et al. *Aspidosperma pyrifolium* Mart: neuroprotective, antioxidant and anti-inflammatory effects in a Parkinson's disease model in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 6, p. 787-796, 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 and Products**, v. 105, p. 203-206, 2017.

ARAÚJO, L. G. et al. Chemodiversity and Antibacterial Activity of the Essential Oil of Leaves of *Croton argyrophyllus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 10, p. e2000575, 2020.

BAJPAI, V. K. et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. **Bioresource technology**, v. 99, n. 18, p. 8903-8908, 2008.

BAKER, E. A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: Cutler, D.F., Alvin, K.L., Price, C.E. (Eds.), **The Plant Cuticle**. Academic Press, p. 139–165, 1982.

BARNARD, C. et al. Pesticide use and its measurement. **International Pest Control**, v. 39, n. 5, p. 161-164, 1997.

BEATTIE, G. A.; MARCELL, L. M. Effect of alterations in cuticular wax biosynthesis on the physicochemical properties and topography of maize leaf surfaces. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 1, p. 1–16, 2002b.

BELDING, R. D. et al. Relationship between apple fruit epicuticular wax and growth of *Peltaster fruticola* and *Leptodontidium elatius*, two fungi that cause sooty blotch disease. **Plant Disease**, v. 84, n. 7, p. 767-772, 2000.

BESSIRE, M. et al. A permeable cuticle in Arabidopsis leads to a strong resistance to *Botrytis cinerea*. **EMBO Journal**, v. 26, n. 8, p. 2158–2168, 2007.

BEZERRA, J. W. A. et al. *Mesosphaerum suaveolens* (Lamiaceae): Source of antimicrobial and antioxidant compounds. **Research, Society and Development**. v. 9, n. 8, p. e575986161-e575986161, 2020.

BLAKEMAN, J. P. The chemical environment of leaf surfaces with special reference to spore germination of pathogenic fungi. **Pesticide Science**, v. 4, n. 4, p. 575-588, 1973.

BLAKEMAN, J. P.; SZTEJNBERG, A. Effect of surface wax on inhibition of germination of *Botrytis cinerea* spores on beetroot leaves. **Physiological Plant Pathology**, v. 3, n. 2, p. 269-278, 1973.

BLANC, C. et al. The cuticle mutant *eca2* modifies plant defense responses to biotrophic and necrotrophic pathogens and herbivory insects. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 3, p. 344–355, 2018.

BOURDENX, B. et al. Overexpression of Arabidopsis ECERIFERUM1 promotes wax very-long-chain alkane biosynthesis and influences plant response to biotic and abiotic stresses. **Plant Physiology**, v. 156, n. 1, p. 29–45, 2011.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: the assessment of risk**. Brussels: Global Crop Protection Federation, 1998.

BRITO, S. S. S. et al. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 308-315, 2018.

BUSCHHAUS, C. JETTER, R. Composition differences between epicuticular and intracuticular wax substructures: How do plants seal their epidermal surfaces, **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 3, p. 841-853, 2011.

CARUZO, M.B.R. et al. *Croton in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17517>>. Acesso em: 01 ago. 2022

CANTRELL, C. L. et al. Natural products as sources for new pesticides. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 6, p. 1231-1242, 2012.

CARVALHO, M. R. et al. Bioassay methods for extraction and detection of antifungal potential of the epicuticular layer of *Theobroma cacao* pods against the witches' broom pathogen. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 1, p. 343-348, 2022.

CARVALHO, N. K. G. et al. Essential Oil of *Cynophalla flexuosa* and its Cytotoxicity, Antioxidant, and Anti-Acetylcholinesterase Effect. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 57, n. 3, p. 566-568-3, 2021.

CARVER, T. L. W. et al. Influences of host surface features on development of *Erysiphe graminis* and *Erysiphe pisi*. In: **Plant Cuticles – Na Integrated Functional Approach** (ed. G. Kerstiens), Bios Scientific Publisher Ltd., Oxford, p. 255-266, 1996.

CARVER, T. L. W. et al. The role of the abaxial leaf surface waxes of *Lolium* spp. in resistance to *Erysiphe graminis*. **Plant Pathology**, v. 39, n. 4, p. 573-583, 1990.

CHAVEERACH, A. et al. Genetic verification and chemical contents identification of Allamanda species (Apocynaceae). **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 3, 2014.

CHEN, S. J., et al. Solvent effects on the ultrastructure and gainst composition of cuticular wax and its potential bioactive role gainst *Alternaria alternata* in Pingguoli Pear, **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 5, p. 1137-1145, 2014.

CHIERRITO, T. P. C et al. Anti-malarial activity of indole alkaloids isolated from *Aspidosperma olivaceum*. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2014.

COHEN, Y. et al. A preformed chemical inhibitor of tobacco powdery mildew on leaves of *Nicotiana glutinosa*. **Physiological Plant Pathology**, v. 22, n. 2, p. 143-150, 1983.

COMMENIL, P. et al. Molecular characterization of a lipase induced in *Botrytis cinerea* by components of grape berry cuticle. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 55, n. 1, p. 37-43, 1999.

CONN, K. L.; TEWARI, J. P. Interactions of *Alternaria brassicae* conidia with leaf epicuticular wax of canola. **Mycological Research**, v. 93, n. 2, p. 240-242, 1989.

CORDEIRO, S. Z. et al. Composition of epicuticular wax layer of two species of *Mandevilla* (Apocynoideae, Apocynaceae) from Rio de Janeiro, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 3, p. 198-202, 2011.

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

COSTA, A. L. P; JUNIOR, A. C. S. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

COSTA, E. C. et al. *Jatropha mutabilis*, a new source of vitexin: HPLC quantification and pharmacological evaluation. **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 6200-6203, 2021.

CUNHA, A. et al. Anti-leishmanial activity of alkaloidal extracts obtained from different organs of *Aspidosperma ramiflorum*. **Phytomedicine**, v. 19, n. 5, p. 413-417, 2012.

DEISING, H. B. et al. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 286-295, 2008.

DELATORRE, C. A, DA SILVA, A. A. *Arabidopsis thaliana*: uma pequena planta um grande papel *Arabidopsis thaliana*: a small plant a big role. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 58-67, 2008.

DELVENTHAL, R. et al. Ectoparasitic growth of *Magnaporthe* on barley triggers expression of the putative barley wax biosynthesis gene CYP96B22 which is involved in penetration resistance. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 1-14, 2014.

DIXIT, V. et al. Fungal growth inhibition of regenerated cellulose nanofibrous membranes containing *Quillaja saponin*. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 59, n. 3, p. 417-423, 2010.

DOS SANTOS, F. S. M. et al. Polyphenolic composition, antibacterial, modulator and neuroprotective activity of *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (Cleomaceae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 9, n. 1, p. 12, 2019.

FENG, J. et al. Analysis of a *Blumeria graminis*-secreted lipase reveals the importance of host epicuticular wax components for fungal adhesion and development. **Molecular Plant-microbe Interactions**, v. 22, n. 12, p. 1601-1610, 2009.

FIGUEIREDO, K. V. et al. Leaf phytohormone levels and stomatal control in an evergreen woody species under semiarid environment in a Brazilian seasonally dry tropical forest. **Plant Growth Regulation**, v. 85, n. 3, p. 437-445, 2018.

FIGUEIREDO, K.V. et al. Changes in leaf epicuticular wax, gas exchange and biochemistry metabolism between *Jatropha mollissima* and *Jatropha curcas* under semi-arid conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.37, n. 6, p. 1-11, 2015.

FIGUEIREDO, K.V. et al. Epicuticular-wax removal influences gas exchange and water relations in the leaves of an exotic and native species from a Brazilian semiarid region under induced drought stress. **Australian Journal of Botany**, v. 60, n. 8, p. 685-692, 2012.

FIRMAN, I. D. Screening of coffee for resistance to coffee berry disease. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v. 29, n. 3, p. 192-194, 1964.

FISHER, M. C. et al. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. **Science**, v. 360, n. 6390, p. 739-742, 2018.

BIGIO, N. C. et al. *Jatropha* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17583>>. Acesso em: 01 ago. 2022.

GARCÍA, S. et al. Chemical basis of the resistance of barley seeds to pathogenic fungi. **Phytochemistry**, v. 44, n. 3, p. 415-418, 1997.

GEMBEH, S. V. et al. Identification of chemical components of corn kernel pericarp wax associated with resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4635-4641, 2001.

GENDERS, R. rose; **a complete handbook**. 1965. p. 65.

GENTRY, A.H., **Diversity and floristic composition of neotropical dry forests, in Seasonally Dry Tropical Forests**, Bullock, S.H., Mooney, H.A. and Medina, E., Eds, Cambridge University Press, Cambridge, 1995, 146.

GIULIETTI, A. M. et al. Espécies endêmicas da caatinga. In: Sampaio, E. V. B., et al (Ed.). **Vegetação e Flora da Caatinga. Recife: Associação Plantas do Nordeste - APNE &** Centro Nordestino de Informação sobre Plantas, p. 103-118, 2002.

GNIWOTTA, F. et al. What do microbes encounter at the plant surface? Chemical composition of pea leaf cuticular waxes. **Plant Physiology**, v. 139, n. 1, p. 519-530, 2005.

GOODWIN, S. M. et al. Leaf cutin monomers, cuticular waxes, and blackspot resistance in rose. **HortScience**, v. 42, n. 7, p. 1631-1635, 2007.

HANSJAKOB, A. et al. Appressorium morphogenesis and cell cycle progression are linked in the grass powdery mildew fungus *Blumeria graminis*. **Fungal Biology**, v. 116, n. 8, p. 890-901, 2012.

HANSJAKOB, A. et al. Very-long-chain aldehydes promote in vitro prepenetration processes of *Blumeria graminis* in a dose- and chain length-dependent manner. **New Phytologist**, v. 188, n. 4, p. 1039-1054, 2010.

HANSJAKOB, A. et al. Wax matters: Absence of very-long-chain aldehydes from the leaf cuticular wax of the glossy11 mutant of maize compromises the prepenetration processes of *Blumeria graminis*. **Plant Pathology**, v. 60, n. 6, p. 1151-1161, 2011.

HEATHER, W. A. Leaf characteristics of *Eucalyptus bicostata* Maiden et al. Seedlings affecting the deposition and germination of spores of *Phaeoseptoria eucalypti* (Hansf.) Walker. **Australian Journal of Biological Sciences**. v. 20, n. 6, p. 1155-1160, 1967.

HEGDE, Y.; KOLATTUKUDY, P. E. Cuticular waxes relieve self-inhibition of germination and appressorium formation by the conidia of *Magnaporthe grisea*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 51, n. 2, p. 75-84, 1997.

HOCKING, D. Disease resistance in coffee berries I, II and III. **East African Agricultural and Forestry Journal**, v. 33, n. 2, p. 197-200, 1967.

IANTAS, J. et al. Endophytes of Brazilian Medicinal Plants With Activity Against Phytopathogens. **Frontiers in microbiology**, v. 12, n. 714750, p. 2454, 2021.

INADA, N., SAVORY, E. A. Inhibition of prepenetration processes of the powdery mildew *Golovinomyces orontii* on host inflorescence stems is reduced in the *Arabidopsis* cuticular mutant cer3 but not in cer1. **Journal of General Plant Pathology**, v. 77, n. 5, p. 273-281, 2011.

INSA, IN do S. Sinopse do censo demográfico para o Semiárido Brasileiro. **Minsitério da Ciência Tecnologia e Inovação**, 2012.

INYANG, E. N. et al. The effect of crucifer epicuticular waxes and leaf extracts on the germination and virulence of *Metarhizium anisopliae* conidia. **Mycological Research**, v. 103, n. 4, p. 419-426, 1999.

JENKS, M. A. AND ASHWORTH, E. Plant epicuticular waxes: function, production, and genetics. **Horticultural Reviews**, v. 23, p. 1-68, 1999.

JENKS, M. A. et al. Leaf epicuticular waxes of the Eceriferum mutants in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 108, n. 1, p. 369-377, 1995.

JETTER, R. et al. Composition of plant cuticular waxes. In: Riederer M, Muller C, eds. **Biology of The Plant Cuticle**, Vol. 23. Oxford: Blackwell, 2006, 145-181p.

JETTER, R. et al. Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: Evidence from *Prunus laurocerasus* L. **Plant, Cell and Environment**, v. 23, n. 6, p. 619-628, 2000.

JOHANN, S. et al. Antimicrobial activity of wax and hexane extracts from *Citrus* spp. peels. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 6, p. 681-685, 2007.

JOHNSTON, H. W., AND SPROSTON, T. The inhibition of fungus infection pegs in *Ginkgo biloba*. **Phytopathology**, v. 55, n. 2, p. 225-227, 1965.

JU, S. et al. DEWAX transcription factor is involved in resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana* and *Camelina sativa*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1210, p. 1-13, 2017.

KHROMYKH, N. O. et al. Cuticular wax composition of mature leaves of species and hybrids of the genus *Prunus* differing in resistance to clasterosporium disease. **Biosystems Diversity**, v. 28, n. 4, p. 370-375, 2020.

KIM, B. et al. Identification of novel compounds, oleanane-and ursane-type triterpene glycosides, from *Trevesia palmata*: their biocontrol activity against phytopathogenic fungi. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

KNAAK, N. et al. Chemical characterization and anti-fungal activity of plant extracts and essential oils on the *Bipolaris oryzae* and *Gerlachia oryzae* phytopathogens. **Australasian Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 469-475, 2013.

KOLATTUKUDY, P. E. et al. Surface signaling in pathogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 10, p. 4080-4087, 1995.

KUNST, L.; SAMUELS, A. L. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. **Progress in Lipid Research**, v. 42, n. 1, p. 51-80, 2003.

LAMPARD, J. F., CARTER, G. A. Chemical investigations on resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica*. An antifungal compound in coffee cuticular wax. **Annals of Applied Biology**, v. 73, n. 1, p. 31-37, 1973.

LEAL, I. R. et al. Changing the course of biodiversity conservation in the caatinga of northeastern Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 701-706, 2005.

LEMOS, J. R. et al. Distribuição geográfica mundial de plantas lenhosas da Estação Ecológica de Aiuaba, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 446, 2012.

LEVEAU, J. H. J. Microbial communities in the phyllosphere. In: Riederer M, Muller C, eds. **Biology of the plant cuticle**, Vol. 23. Oxford: Blackwell, 334-359p. 2006.

LI, Y. C. et al. Detection and isolation of preformed antifungal compounds from the peel of *Pyrus bretschneideri* Rehd. cv. *Pingguoli* at different stages of maturity. **Journal of Phytopathology**, v. 156, n. 2, p. 115-119, 2008.

LI, Y. et al. Chemical composition of cuticular waxes during fruit development of Pingguoli pear and their potential role on early events of *Alternaria alternata* infection. **Functional Plant Biology**, v. 41, n. 3, p. 313-320, 2014.

LIMA-SARAIVA, S. R. G. D. et al. Chemical analysis and evaluation of antioxidant, antimicrobial, and photoprotective activities of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2017, n. 1713921, p. 10, 2017.

LUCENA, M. F. D. A. **Diversidade de Euphorbiaceae s.l. no nordeste do Brasil**. (Tese de Doutorado). Recife:Universidade Federal de Pernambuco, p. 1-197, 2009.

MACÊDO, D. G. et al. Práticas terapêuticas tradicionais: uso e conhecimento de plantas do cerrado no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 14, n. 6, p. 491-508, 2015.

MACHADO, R. D., AND BARROS, C. F. Epidermis and epicuticular waxes of *Syagrus coronata* leaflets. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, n. 12, p. 1947-1952, 1995.

MACHADO, T. B. et al. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 21, n. 3, p. 279-284, 2003.

- MACKO V. Inhibitors and stimulants of spore germination and infection structure formation in fungi. In G Turian, HR Holh, eds, **The Fungal Spore Morphogenetic Controls**. Academic Press, New York, p. 565-584, 1981.
- MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MAHESHWARI, R. et al. Physical and chemical factors controlling development of infection structures from urediospore germ-tubes of rust fungi **Phytopathology**, v.57, p. 855-862, 1967.
- MARCELL, L. M., BEATTIE, G. A. Effect of leaf surface waxes on leaf colonization by *Pantoea agglomerans* and *Clavibacter michiganensis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 15, n. 12, p. 1236–1244, 2002a.
- MARSHALL, D. S. et al. Infection cushion formation on rice sheaths by *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 70, n. 10, p. 947-950, 1980.
- MARTIN, J. T. et al. Defence mechanism of plants against fungi: fungistatic properties of apple leaf wax. **Nature**, v. 180, n. 8, p. 796- 797, 1957.
- MARTIN, J. T., JUNIPER, B. E. **The cuticles of plants**. Edinburgh, UK: Edward Arnold. 1970.
- MASUDUZZAMAN, S. et al. Determination of inhibitory action of Allamanda leaf extracts against some important plant pathogens. **Journal of Agriculture & Rural Development**, v. 6, n. 1, p. 107-112, 2008.
- MEDEIROS, C. D. et al. Leaf epicuticular wax content changes under different rainfall regimes, and its removal affects the leaf chlorophyll content and gas exchanges of *Aspidosperma pyrifolium* in a seasonally dry tropical forest. **South African Journal of Botany**, v. 111, p. 267-274, 2017.
- MIMURA M. R. M. et al. Alkanes from epicuticular waxes of Huberia species: taxonomic implications. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 26, n. 5, p. 581-588, 1998.
- MORRIS, C. E. AND KINKEL, L.L. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields, in **Phyllosphere Microbiology** (eds S.E. Lindow, E.I. Hecht-Poinar and V.J. Elliot), APS Press, Minnesota, pp. 365–375, 2002.
- MOTTA, L. B. et al. Foliar cuticular alkanes of Camarea (Malpighiaceae) and their taxonomic significance, **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, n. 1, p. 35-39, 2009.

MULLER, C.; RIEDERER, M. Plant surface properties in chemical ecology. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 11, p. 2621-2651, 2005.

MURPHY, P. G., AND LUGO A. E. “**Ecology of Tropical Dry Forest.**” *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 17, n. 1, p. 67-88, 1986.

NAHAR, A. et al. Studies on antidermatophytic effect of *Allamanda cathartica*. **Bangladesh Journal of Pharmacology**. v. 5, n. 1, p. 5-7, 2010.

NAZAR, S. et al. *Capparis decidua* Edgew (Forssk.): A comprehensive review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and nutraceutical potential. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 1901-1916, 2020.

NERI, T. S. et al. Phytochemical characterization, antioxidant potential and antibacterial activity of the *Croton argyrophylloides* Muell. Arg. (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Biology**. 2023, v. 83, e236649, 2021.

NUTMAN, F. J., ROBERTS, F. M. Investigations on a disease of *Coffea arabica* caused by a form of *Colletotrichum coffeanum* Noack. **Transactions of the British Mycological Society**, v.43, n.3, p.489-505, 1960.

OERKE, E. C. Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science**, v. 144, n. 1, p. 31-43, 2006.

OH, B. J. et al. Effect of cuticular wax layers of green and red pepper fruits on infection by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Phytopathology**, v. 147, n. 9, p. 547-552, 1999.

OLIVEIRA, A. F. M. et al. Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 75, n. 4, p. 431-439, 2003.

OLIVEIRA, A. F. M., SALATINO, A. Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 55, n. 9-10, p. 688–692, 2000.

OLIVEIRA, A. J. B. D. **Estudo de seis espécies do gênero *Aspidosperma* utilizando GC, GC/MS e HPLC: Análise qualitativa e quantitativa.** Tese (Doutorado), Instituto de Química, Unicamp, Campinas, São Paulo, 1999.

OLIVEIRA, A. J. B. et al. Preliminary studies on the antibacterial activity of crude extracts and alkaloids from species of *Aspidosperma*. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 11, p. 1085-1089, 2009.

OLIVEIRA, Y. L. C. D. et al. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Buchenavia tetraphylla* (Aubl.) RA Howard (Combretaceae: Combretoideae). **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 301-307, 2008.

OZER, N. et al. Investigations on the role of cuticular wax in resistance to powdery mildew in grapevine. **Journal of General Plant Pathology**, v. 83, n. 5, p. 316-328, 2017.

PARBERY, D. G., BLAKEMAN, J. P. Effect of substances associated with leaf surfaces on appressorium formation by *Colletotrichum acutatum*. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 70, n. 1, p. 7-19, 1978.

PASSOS, X. S. et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 623-627, 2002.

PENDOTA, S. C. et al. In vitro antimicrobial activity of extracts and an isolated compound from *Boscia albitrunca* leaves. **South African Journal of Botany**, v. 96, p. 91-93, 2015.

PENNINGTON, R.T. et al. An overview of the plant diversity, biogeography and conservation of Neotropical savannas and seasonally dry forests. In: PENNINGTON, R. T; LEWIS G. P. & RATTER J.A. (eds.). **Neotropical savannas and dry forests: plant diversity, biogeography, and conservation**. Oxford, Taylor & Francis CRC Press. p. 1-9, 2006.

PEREIRA, S. et al. Changes in foliar epicuticular wax and photosynthesis metabolism in evergreen woody species under different soil water availability. **Photosynthetica**, v. 57, n. 1, p. 192-201, 2019.

PESSINI, G. L. et al. Evaluation of antimicrobial activity of three *Aspidosperma* species. **Pharmacology**, v. 1, n. Special issue, p. 112-119, 2012.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

PODILA, G. K. et al. Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Physiology**, v. 103, n. 1, p. 267-272, 1993.

POLLARD, M. et al. Building lipid barriers: biosynthesis of cutin and suberin. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 5, p. 236-246, 2008.

POST-BEITTENMILLER, D. Biochemistry and molecular biology of wax production in plants. **Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology** v. 47, n. 1, p. 405-30, 1996.

POTTS, B. M. et al. Evolutionary history shapes the susceptibility of an island tree flora to an exotic pathogen. **Forest Ecology and Management**, v. 368, p. 183-193, 2016.

PRUSKY, D.; SAKA, H. The role of epicuticular wax of avocado fruit in appressoria formation of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytoparasitica**, v. 17, n. 140, p.509-516, 1989.

PUPATTANAPONG, L. **Thai Medicinal Plants**. Vol. 2. Neutummadakanpim, Bangkok, Thailand, p. 180, 1979.

REISBERG, E. E. et al. Distinct phyllosphere bacterial communities on Arabidopsis wax mutant leaves. **PloS One**, v. 8, n. 11, p. e78613, 2013.

REISIGE, K, et al. The C 28 aldehyde octacosanal is a morphogenetically active component involved in host plant recognition and infection structure differentiation in the wheat stem rust fungus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 68, n. 1, p. 33-40, 2006.

REUVENI, M. et al. Removal of duvatrienediols from the surface of tobacco leaves increases their susceptibility to blue mold. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 30, n. 3, p. 441-451, 1987.

RIBEIRO, D. A. et al. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 912-930, 2014.

RIEDERER, M. Thermodynamics of the water permeability of plant cuticles: characterization of the polar pathway. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 12, p. 2937-2942, 2006.

RIEDERER, M; SCHNEIDER, G. Comparative study of the composition of waxes extracted from isolated leaf cuticles and from whole leaves of Citrus: evidence for selective extraction. **Physiologia plantarum**, v. 77, n. 3, p. 373-384, 1989.

RINGELMANN, A. et al. Two sides of a leaf blade: *Blumeria graminis* needs chemical cues in cuticular waxes of *Lolium perenne* for germination and differentiation. **Planta**, v. 230, n. 1, p. 95-105, 2009.

RIOS, M. Y. et al. Phytotoxic and nematocide evaluation of *Croton ehrenbergii* (Euphorbiaceae). **Pest management science**, v. 75, n. 8, p. 2158-2165, 2019.

RISTIC, Z., JENKS, M. A. Leaf cuticle and water loss in maize lines differing in dehydration avoidance, **Journal of Plant Physiology**, v. 159, n. 6, p. 645-651, 2002.

ROCHA, M. P. et al. Biological activities of extracts from *Aspidosperma subincanum* Mart. and in silico prediction for inhibition of acetylcholinesterase. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 10, p. 2021-2033, 2018.

ROQUE, A. A. et al. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

ROSSALL, S., MANSFIELD, J. W. Investigation of the causes of poor germination of Botrytis spp. on broad bean leaves (*Vicia faba* L.). **Physiological Plant Pathology**, v. 16, n. 3, p. 369-382, 1980.

RUINEN, J. Occurrence of Beijerinckia species in the 'phyllosphere'. **Nature**, v. 177, n. 4501, p. 220-221, 1956.

RUSSIN, J. S. et al. Comparison of kernel wax from corn genotypes resistant or susceptible to *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, v. 87, n. 5, p. 529-533, 1997.

SABANDAR, S.W. et al. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. **Phytochemistry**, v. 85, p. 7-29, 2013.

SALATINO, A. et al. An appraisal of the plasticity of alkane profiles of some species of Velloziaceae. **Biochemical. Systematics and Ecology**, v. 19, n. 3, p. 241-248, 1991.

SALATINO, A. et al. Ceras epicuticulares delas superficies adaxial y abaxial de hojas de dicotiledoneas del Cerrado brasileiro. **Medio Ambiente**. v. 7, p. 15-20, 1985.

SALATINO, A. et al. Effects of constituents of the foliar epicuticular lar wax of *Didymopanax vinosum* on the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 86, n. 3, p. 261-266, 1998.

SALATINO, A. et al. Microscopia eletrônica de varredura de superfícies foliares de espécies lenhosas do Cerrado. **Revista brasileira de Botânica**. v. 9, n. 2, p.117-124, 1986.

SALATINO, M. L. F., et al. Alkanes of foliar epicuticular waxes of Velloziaceae. **Phytochemistry**, v. 28, n. 4, p. 1105-1114, 1989.

SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. Constituents of the unsaponifiable fraction of the foliar epicuticular wax and the systematics of Annonaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 6, p. 23-28, 1983.

SALAZAR, G. J. T. et al. Antioxidant and Antifungal Activity of the *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae) against Opportunistic Fungal Pathogens. **Future Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 16-30, 2022.

SANTOS, A. P. B. et al. **Guia de Campo de Árvores da Caatinga**. Editora e gráfica Franciscana Ltda., Petrolina, 2009.

SANTOS, I. B. et al. The Eucalyptus cuticular Waxes contribute in preformed defense against *Austropuccinia psidii*. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 1978, 2019.

SANTOS, R. M. et al. Identity and relationships of the Arboreal Caatinga among other floristic units of seasonally dry tropical forests (SDTFs) of north-eastern and Central Brazil. **Ecology and Evolution**, v. 2, n. 2, p. 409-428, 2012.

SARAIWA, M. E. et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 171, p. 141-153, 2015.

SASAKI, D. Y. et al. Potencial bioinseticida de um inibidor de tripsina de sementes de *Capparis flexuosa*. **Biológicas & Saúde**, v. 3, n. 9, 17 jul. 2013.

SCHWAB, M., et al. The significance of epicuticular waxes for defence of pathogens as shown for *Botrytis cinerea* infections of kohlrabi and pea plants. **Die Gartenbauwissenschaft**. v. 160, n. 3, p. 102-109, 1995.

SECK, D. et al. Biological activity of the shrub *Boscia senegalensis* (PERS.) LAM. ex Poir. (Capparaceae) on stored grain insects. **Journal Chemical Ecology**, v. 19, n. 2, p. 377-389, 1993.

SHANKER, K. S. et al. Isolation and antimicrobial evaluation of isomeric hydroxy ketones in leaf cuticular waxes of *Annona squamosa*. **Phytochemical Analysis**, v. 18, n. 1, p. 7-12, 2007.

SHARMA, H. K. et al. Effect of various process treatment conditions on the allyl isothiocyanate extraction rate from mustard meal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 3, p. 368-372, 2012.

SHARMIN, T. et al. Investigation of biological activities of *Allamanda blanchetii*, the violet Allamanda. **Journal of Pharmacy Research**, v. 6, n. 7, p. 761-764, 2013.

SHIRAZI, M. et al. Antifungal activity of some medicinal plant extracts against soil-borne phytopathogens. **Pakistan Journal of Botany**, v. 52, n. 2, p. 679-85, 2020.

SILVA, A. C. O. et al. Which approach is more effective in the selection of plants with antimicrobial activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, n. 308980, p. 9, 2013.

SILVA, J. D. A. G. et al. Atividade tóxica in vitro de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 1, p. 112, 2018.

SILVA, J. M. C. et al. (Ed.). **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**. Springer, 2017b.

SILVA, K. M. M., et al. Leaf cuticular alkanes of *Solanum* subg. *Leptostemonum* Dunal (Bitter) of some northeast Brazilian species: Composition and taxonomic significance. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 44, p. 48-52, 2012.

SILVA, M. M. A. et al. Chemical composition and ultrastructure of the foliar cuticular wax of two Brazilian cultivars of castor bean (*Ricinus communis* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 558-563. 2017a.

SILVA, M. M. A. et al. Response of *Ricinus communis* L. to in vitro water stress induced by polyethylene glycol. **Plant Growth Regulation**, v. 78, n. 2, p. 195-204, 2016.

SILVA, M. M. A. et al. Water Stress-Induced Responses in the Growth, Cuticular Wax Composition, Chloroplast Pigments and Soluble Protein Content, and Redox Metabolism of Two Genotypes of *Ricinus communis* L. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 1, p. 342-352, 2021.

SILVA, N. C. C., JÚNIOR, A. F. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. 2010, v. 16, n. 3, p. 402-413. 2010.

SIMÕES, C. et al. Antiviral activity of *Cleome rosea* extracts from field-grown plants and tissue culture-derived materials against acyclovir-resistant *Herpes simplex* viruses type 1 (ACVr-HSV-1) and type 2 (ACVr-HSV-2). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 93-99, 2010.

SINGH, I. Antimicrobials in Higher Plants: classification, mode of action and bioactivities. **Chemical Biology Letters**, v. 4, n. 1, p. 48-62, 2017.

SINGH, S. Chronic disturbance, a principal cause of environmental. **Environmental Conservation**, v. 25, n. 1, p. 1-2, 1998.

SIQUEIRA, I. B. et al. In vitro antibacterial activity of essential oils of *Croton tetradenius* Baill. from the Brazilian Caatinga Biome and its synergistic effect with ciprofloxacin and meropenem. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 24, n. 1, p. 12-21, 2021.

SOARES NETO, R. L. et al. Flora of Ceará state, Brazil: Capparaceae. **Rodriguésia**, v. 65, n. 3, p. 671-684, 2014.

SOUZA LIMA, M. C. J.; SOTO-BLANCO B. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyrifolium* Mart.: Biological and cytotoxic effects, **Toxicon**, v. 55, n. 2, p. 320-324, 2010.

STUARDO, M.; SAN MARTÍN, R. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. **Industrial crops and products**, v. 27, n. 3, p. 296-302, 2008.

SUFFREDINI, I. B. et al. In vitro prostate cancer cell growth inhibition by Brazilian plant extracts. **Pharmazie**. Eschborn: Govi-verlag Pharmazeutischer Verlag Gmbh, v. 61, n. 8, p. 722-724, 2006.

SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. **Annual review of plant physiology**, v. 28, n. 1, p. 479-501, 1977.

SZAKIEL, A. et al. Fruit cuticular waxes as a source of biologically active triterpenoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 2-3, p. 263-284, 2012.

TANG, D. et al. Mutations in *LACS2*, a Long-Chain Acyl-Coenzyme A Synthetase, Enhance Susceptibility to Avirulent *Pseudomonas syringae* But Confer Resistance to *Botrytis cinerea* in Arabidopsis, **Plant Physiology**, v. 144, n. 2, p. 1093–1103, 2007.

TANG, Y. et al. Role of pear fruit cuticular wax and surface hydrophobicity in regulating the pre-penetration phase of *Alternaria alternata* infection. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 5, p. 313-322, 2017.

TIWARI, T. N. et al. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 4, p. 393-394, 2002.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A. et al. Antifungal epicuticular methylated flavonoids from *Helichrysum nitens*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 3, p. 753-755, 1988.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016.

TRENTIN, D. D. S. et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 327-335, 2011.

TRENTIN, D. S. et al. Medicinal plants from brazilian caatinga: antibiofilm and antibacterial activities against *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, p. 264-271, 2014.

TRINDADE, R. C. P. et al. Mortality of *Plutella xylostella* larvae treated with *Aspidosperma pyrifolium* ethanol extracts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1813-1816, 2008.

TRIONE, E. J. Natural regulators of fungal development. In R. C. Staples, G. H. Toenissen, eds, **Plant Disease Control**. Wiley, London, p. 85-102, 1981.

TSUBA, M. et al. Chemical factors of the leaf surface involved in the morphogenesis of *Blumeria graminis*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 60, n. 2, p. 51-57, 2002.

UPPALAPATI, S. R. et al. Loss of abaxial leaf epicuticular wax in *Medicago truncatula* irg1/palm Mutants results in reduced spore differentiation of anthracnose and nonhost rust pathogens. **The Plant Cell**, v. 24, n. 1, p. 353-370, 2012.

VARANDA, E. M. et al. Effects of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizciphis graminum*. **Journal of Nature Products**. v. 55, n. 6, p. 800-803, 1992.

VARANDA, E. M; SANTOS, D. Y. A. C. Ceras foliares epicuticulares de espécies congêneres da mata e do cerrado. **Acta Botanica Brasilica**, v. 10, n. 1, p. 51-58, 1996.

VASCO-DOS-SANTOS, D. R. et al. Plantas antiparasitárias utilizadas pelos indígenas Kantaruré-Batida (ne-Brasil): etnobotânica e riscos de erosão dos saberes locais. **Ambiente & Sociedade**, v. 21, e001111, 2018.

VELOSO, A. L. et al. **Ecorregiões: Propostas Para o Bioma Caatinga**. Associação Plantas do Nordeste, Instituto de Conservação Ambiental and The Nature Conservancy do Brasil, Recife, 2002.

VON SCHÜTT, P. Untersuchungen über den Einfluß von Cuticularwachsen auf die Infektionsfähigkeit pathogener Pilze: 1. *Lophodermium pinastri* und *Botrytis cinerea* 1. **European Journal of Forest Pathology**, v. 1, n. 1, p. 32-50, 1971.

VON SCHÜTT, P. Untersuchungen über den Einfluß von Cuticularwachsen auf die Infektionsfähigkeit pathogener Pilze: 2 *Rhytisma acerinum*, *Microsphaera alphitoides* und *Fusarium oxysporum*. **European Journal of Forest Pathology**, v. 2, n. 1, p. 43-59, 1972.

VUNDA, S. L. L. et al. Chemical composition and amoebicidal activity of *Croton pallidulus*, *Croton ericoides*, and *Croton isabelli* (Euphorbiaceae) essential oils. **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 961-966, 2012.

WANG, F. et al. Effects of epicuticular wax from *Digitaria sanguinalis* and *Festuca arundinacea* on infection by *Curvularia eragrostidis*. **Australasian Plant Pathology**, v. 37, n. 1, p. 43-52, 2008.

WANG, P. et al. Chemical Composition, Crystal Morphology, and Key Gene Expression of the Cuticular Waxes of Goji (*Lycium barbarum* L.) Berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 28, p. 7874-7883, 2021.

WEI, Q. et al. Isolation, characterisation and antifungal activity of β -1,3-glucanase from seeds of *Jatropha curcas* **South African Journal of Botany**, v. 71, n. 1, p. 95-99, 2005.

WEIDENBACH, D. et al. Evolutionary conserved function of barley and Arabidopsis 3-KETOACYL-CoA SYNTHASES in providing wax signals for germination of powdery mildew fungi. **Plant physiology**, v. 166, n. 3, p. 1621-1633, 2014.

WU, X. et al. Chemical composition, crystal morphology and key gene expression of cuticular waxes of Asian pears at harvest and after storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 132, p. 71-80, 2017.

XIAO, Y et al. Chemical profiles of cuticular waxes on various organs of *Sorghum bicolor* and their antifungal activities. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 596-604, 2020.

XIMENES, R. M. et al. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 758-764, 2013.

YAN XUE et al. Arabidopsis membrane-associated acyl-CoA-binding protein ACBP1 is involved in stem cuticle formation. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 18, p. 5473-5483, 2014.

YAZBEK, P. B. et al. Plants used during maternity, menstrual cycle and other women's health conditions among Brazilian cultures. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 179, p. 310-331, 2016.

YEATS, T. H.; ROSE, J. K. C. The formation and function of plant cuticles. **Plant physiology**, v. 163, n. 1, p. 5-20, 2013.

YIN, Y. et al. Chemical composition and antifungal activity of cuticular wax isolated from Asian pear fruit (cv. Pingguoli). **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 4, p. 577-582, 2011.

ZABKA, V. et al. Host surface properties affect prepenetration processes in the barley powdery mildew fungus. **New Phytologist**, v. 177, n. 1, p. 251-263, 2008.

ZEISLER-DIEHL V.V. et al. Plant Cuticular Waxes: Composition, Function, and Interactions with Microorganisms. In: Wilkes H. (eds) **Hydrocarbons, Oils and Lipids: Diversity, Origin, Chemistry and Fate. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology**. Springer, Cham. 2020.

ZEISLER-DIEHL, V. V. et al. Plant cuticular waxes: composition, function, and interactions with microorganisms. **Hydrocarbons, oils and lipids: diversity, origin, chemistry and fate**, p. 123-138, 2020.

ZHU, M. et al. Very-long-chain aldehydes induce appressorium formation in ascospores of the wheat powdery mildew fungus *Blumeria graminis*. **Fungal Biology**, v. 121, n. 8, p. 716-728, 2017.

5 MANUSCRITO

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE CERAS EPICUTICULARES FOLIARES DE CINCO ESPÉCIES DE UMA FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA BRASILEIRA

A ser submetido ao Annals of Applied Biology

Fator de impacto: 2,750, Qualis A2

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE CERAS EPICUTICULARES FOLIARES DE CINCO ESPÉCIES DE UMA FLORESTA TROPICAL SAZONALMENTE SECA BRASILEIRA

Ítalo Rafael de Lima Monteiro¹, Ninive Bezerra Florêncio², Norma Buarque de Gusmão², Maria Daniela Silva Buonafina-Paz³, Rejane Pereira Neves³, Déborah Yara Alves Cursino dos Santos⁴, Antônio Fernando Moraes de Oliveira^{1,*}

¹Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica, Recife, PE, 50740-600, Brazil

²Universidade Federal de Pernambuco, Departamento Antibióticos, Recife-PE, 50740-520, Brazil

³Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Micologia, Recife-PE, 50740-600, Brazil

⁴Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, São Paulo, SP, 05508-090, Brazil

* Corresponding author: afmoliveira@gmail.com; ORCID 0000-0002-0938-9345

Resumo

A cutícula vegetal é uma camada extracelular formada por carboidratos e lipídios associados, genericamente designados de ceras cuticulares. A composição e a ultraestrutura das ceras revelam papéis importantes na prevenção contra insetos herbívoros e microrganismos. Neste sentido, esta estrutura acelular pode ser fonte para novos pesticidas e antimicrobianos de origem natural. No presente estudo, a composição química da cera epicuticular e avaliação do potencial antimicrobiano de *Allamanda blanchetii*, *Aspidosperma pyrifolium*, *Cynophalla flexuosa*, *Jatropha mutabilis* e *Croton heliotropiifolius*, foram determinados frente a fungos fitopatogênicos de importância agrônômica e contra cepas bacterianas de importância clínica. Nenhuma inibição significativa sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium oxysporum* foi observada. A germinação dos esporos de *C. gloeosporioides* foi inibida por quatro extratos testados, sendo o extrato de *A. pyrifolium* (128 µg/mL) e *J. mutabilis* (256 µg/mL) os mais ativos com 100% de inibição. Sobre

os testes antibacterianos, o extrato de *J. mutabilis* apresentou baixa atividade contra *B. subtilis* na concentração de 1030 µg/mL e *A. blanchetii* (6180 µg/mL) contra *E. coli*. Do ponto de vista químico, as espécies apresentaram como compostos majoritários os triterpenos lupeol (*A. pyrifolium*), os ácidos ursólico e oleanólico (*A. blanchetii*) e uma mistura de lupeol e lupenona (*J. mutabilis*). *C. flexuosa*, em cuja cera predominaram *n*-alcanos, foi a espécie com nenhuma atividade dentre as testadas.

Palavras-chave: Antimicrobianos; Bactérias; Bioensaios; Fungos; Terpenoides.

1. Introdução

A cutícula vegetal consiste em uma camada hidrofóbica extracelular que reveste a superfície aérea primária das plantas. É formada por uma matriz denominada cutina, um poliéster insolúvel, e lipídios associados (Kunst e Samuels, 2009; Buschhaus e Jetter, 2011). Os lipídios cuticulares, genericamente designados como ceras cuticulares, são constituídos por ácidos graxos de cadeias longas e seus derivados como álcoois, aldeídos, alcanos, cetonas e ésteres (Seo *et al.*, 2011; Jetter *et al.*, 2006; Zeisler-Diehl *et al.*, 2020). Além dos constituintes alifáticos, compostos cíclicos, principalmente triterpenoides, também podem estar presentes na composição da cera cuticular (Jetter *et al.*, 2006).

A cutícula possui como função primária a proteção da planta contra a transpiração cuticular excessiva, sendo muito importante em espécies sujeitas a estresse hídrico severo. Entretanto, a sua complexa composição e ultraestrutura confere à planta tolerância a outros tipos de estresses ambientais como anteparo à radiação solar excessiva, aclimação a temperaturas extremas e proteção contra insetos herbívoros e microrganismos patógenos (Yeats e Rose, 2013; Kim *et al.*, 2017). Devido ao seu posicionamento, os lipídios cuticulares atuam

como uma verdadeira interface entre a planta e o meio externo. Neste sentido, acredita-se que ceras epicuticulares executam funções importantes na proteção da planta contra bactérias e fungos patogênicos (Jenks *et al.*, 1999; Ziv *et al.*, 2018).

Por causa dos efeitos ambientalmente indesejáveis dos agroquímicos, faz-se necessário a busca por novos antimicrobianos, como os produtos naturais de origem vegetal (Cantrell *et al.*, 2012; Iantas *et al.*, 2021). Esses produtos, possuem uma diversificada variedade de metabólitos que podem apresentar atividade biológica (Rodrigues *et al.*, 2018; Shirazi *et al.*, 2020). Consequentemente, estudos sobre identificação de atividade biológica, investigação de alvos celulares e mecanismos de ação, permitem e contribuem para o processo de descoberta de novos produtos bioativos (Mottaghipisheh *et al.*, 2020).

Há vários relatos na literatura que tanto a cera bruta como suas frações e constituintes isolados são capazes de inibir a germinação de esporos fúngicos evitando assim a proliferação de patógenos na superfície vegetal (Martin *et al.*, 1957; Blakeman e Szejnberg, 1973; Russin *et al.*, 1997; Gembah *et al.*, 2001; Yin *et al.*, 2011; Carvalho *et al.*, 2022). Ainda que a cera epicuticular possa impedir a germinação de esporos em sua superfície, situações em que ela estimula o processo de estabelecimento de patógenos também foram verificadas (Kolattukudy *et al.*, 1995; Inyang *et al.*, 1999).

Espécies de plantas de ocorrência na Caatinga, uma floresta tropical sazonalmente seca Brasileira, já tiveram seu potencial antimicrobiano verificado (Silva Trentin *et al.*, 2011; Araújo *et al.*, 2017; Pereira Rocha *et al.*, 2018; Bezerra *et al.*, 2020; Siqueira *et al.*, 2021). Entretanto, estes estudos não se restringiram à atividade antimicrobiana de extratos obtidos exclusivamente da cutícula. Para a flora brasileira, há um único estudo realizado por Alcerito *et al.* (2002), em que a cera epicuticular foliar de *Arrabidaea brachypoda* Bureau (Bignoniaceae), ocorrente no Cerrado, apresentou atividade antifúngica. Na cera desta espécie, quatro flavonoides (3', 4'-di-hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona, cirsioliol, cirsimaritina e hispidulina) foram identificados.

Allamanda blanchetii A.DC. é uma das cinco espécies de Apocynaceae endêmicas do Brasil. É utilizada na medicina popular e já demonstrou atividades biológicas (Albuquerque *et al.*, 2007; Sharmin *et al.*, 2013). *Aspidosperma pyrifolium* Mart. & Zucc. (Apocynaceae) já apresentou diversas atividades biológicas, como o efeito antiplasmodial (Chierrito *et al.*, 2014; Aguiar *et al.*, 2015), anti-leishmania (Cunha *et al.*, 2012), anti-inflamatório (Aquino *et al.*, 2013), e antioxidante (Araújo *et al.*, 2018).

Croton heliotropiifolius Kunth, (Euphorbiaceae), um arbusto aromático, é descrito seu uso em estudos etnofarmacológicos (Albuquerque *et al.*, 2007; Macêdo *et al.*, 2015). Além disso, diversas atividades biológicas foram identificadas em espécies de *Croton* (Rios *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2020; Siqueira *et al.*, 2021). Popularmente, *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl (Capparaceae) é indicada como antídoto para picadas de cobras, utilizada no tratamento de febres, como depurativo e restauração do fluxo menstrual (Albuquerque e Andrade 2002; Ribeiro *et al.*, 2014; Yazbek *et al.*, 2016). No entanto, poucos estudos foram realizados com a espécies.

Jatropha mutabilis (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) é uma espécie endêmica do Brasil, ocorrendo no Domínio Fitogeográfico da Caatinga (Bigio *et al.*, 2022). O seu extrato reduziu os sintomas da tosse e aumentou o muco aquoso em camundongos (Costa *et al.*, 2021). Sabandar *et al.* (2013) descreveram o grande potencial do gênero para fonte de novas drogas, devido às suas várias atividades promissoras.

Neste contexto, os estudos anteriores com tais espécies não consideraram o potencial bioativo da cera epicuticular. Os principais objetivos deste trabalho foram (i) identificar a composição química da cera epicuticular de *A. blanchetii*, *A. pyrifolium*, *C. heliotropiifolius*, *C. flexuosa* e *J. mutabilis*; (ii) avaliar o efeito das ceras epicuticulares no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos *in vitro*; (iii) avaliar o potencial antibacteriano dos extratos cuticulares contra patógenos humanos *in vitro*.

2. Metodologia

2.1 Material vegetal

As folhas de *A. blanchetii*, *A. pyrifolium*, *C. heliotropiifolius*, *C. flexuosa* e *J. mutabilis*, foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau, uma reserva de Caatinga de 640 km² no nordeste do Brasil (Silva *et al.* 2017). O clima é semiárido, com temperatura anual média de 23°C, e precipitação anual média de 480 a 1100 mm, concentrada entre março e julho (Rito *et al.* 2017). A coleta foi realizada durante a estação chuvosa em abril de 2019. Voucher de cada espécie está depositado no herbário UFP.

2.2 Preparação do extrato

As folhas foram secas em estufa com circulação de ar a 50 °C por 72 h. A cera epicuticular foi extraída a partir de 100 g de folhas através da imersão e agitação leve em diclorometano (CH₂Cl₂) em dois tempos de 30 s, totalizando 1 min de extração. Os extratos brutos foram filtrados em papel filtro e o solvente eliminado em evaporador rotatório a 45 °C sob pressão reduzida. Os extratos brutos foram armazenados em dessecador até as análises químicas e testes de bioatividade.

2.3 Análise das ceras epicuticulares

Os constituintes das ceras epicuticulares foram quantificados e identificados segundo Araújo Silva *et al.* (2017). Uma quantidade definida de *n*-tetracosano foi adicionada aos

extratos e estes derivatizados com de BSTFA [N, O-Bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida] e piridina (70 °C por 30 min). A quantificação da cera foi realizada em um cromatógrafo de gás com detector de ionização em chama (GC/FID Shimadzu 2010plus, Kyoto, Japão) equipado com um capilar coluna DB-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, EUA). A porcentagem relativa à quantidade de componentes individuais foi expressa como porcentagem da área do pico em relação à área total do pico. A composição química dos extratos foi determinada por impacto eletrônico (70 eV) em um GC/MS Agilent 6859/5975B. Os picos foram identificados por comparação com o espectro de massas obtidos das bibliotecas Wiley 229 (Wiley, EUA) e NIST 08 (NIST, EUA).

2.4 Isolados de fungos fitopatogênicos

Para os testes antifúngicos, três isolados fitopatogênicos foram utilizados: *Alternaria alternata* (URM - 5642), *Fusarium oxysporum* (URM - 0082) e *Colletotrichum gloeosporioides* (CMM - 1317). Os isolados foram obtidos a partir da Micoteca URM do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e da Coleção de Fungos Fitopatogênicos Maria Menezes (CMM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os fungos foram mantidos em meio Sabouraud Dextrose Ágar e incubados a 35 °C por sete dias até a realização dos testes.

2.5 Avaliação do crescimento micelial

Os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) e incubados durante oito dias em BOD (26 ± 1 °C). O bioensaio foi

adaptado do método de Russin *et al.* (1997), onde 200 µL dos extratos nas concentrações de 1000, 500 e 250 µg/mL, obtidos a partir da dissolução em clorofórmio, foram adicionados a placas de Petri contendo BDA. As placas foram mantidas entreabertas durante 2 h, para permitir a evaporação do solvente. Discos de 0,12 cm de diâmetro das colônias fúngicas, com oito dias de crescimento, foram transferidos para o centro das placas de Petri (tratamento + controle) e incubadas em BOD (26 ± 1 °C) durante sete dias. A avaliação foi realizada no terceiro e sétimo dia de incubação, medindo as colônias em diâmetros opostos. O mesmo procedimento foi realizado utilizando apenas o clorofórmio (grupo controle).

2.6 Teste de sensibilidade fúngica - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Para determinação da CIM, foram utilizadas as instruções descritas no documento M38-A2 (CLSI 2008) para fungos filamentosos. Os extratos foram diluídos em 200 µL de álcool etílico até uma concentração de 4.096 µg/mL. As suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina acrescidas de *tween* 20 com densidade ajustada entre 65 e 70% de transmitância utilizando um espectrofotômetro a 530 nm. O volume do inóculo foi ajustado para 5,0 mL de solução salina esterilizada e, posteriormente diluído em meio RPMI-1640 (*Roswell Park Memorial Institute*, Sigma-Aldrich, EUA), para uma concentração de $1-3 \times 10^3$ céls/mL. O meio foi esterilizado por filtração em membranas de 0,22 µm (Millipore, Darmstadt, Alemanha), suplementado com L-glutamina sem bicarbonato de sódio e tamponado a pH $7,0 \pm 0,1$ com ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico (MOPS 0,165 mol/L, Sigma-Aldrich). Os inóculos foram adicionados em placas de microdiluição planas de 96 poços com o extrato em diluição seriada de 1024 a 4 µg/mL. As placas foram incubadas a 35 °C durante 48 h. A CIM foi determinada com inibição de 100% em relação ao poço controle.

2.7 Cepas bacterianas, meios de cultura e drogas

As linhagens foram cedidas pela coleção de microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA). Para os testes antibacterianos, cepas padrão de *Bacillus subtilis* (UFPEDA-16), *Staphylococcus aureus* (UFPEDA-02), *Klebsiella pneumoniae* (UFPEDA-396), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA-39), *Escherichia coli* (UFPEDA-224) e *Serratia* sp. (UFPEDA-398) foram utilizadas para determinar a CIM.

Foram utilizados os meios Mueller Hinton (Mueller Hinton Infusion, MHI) para diluições seriadas e, Brain Heart Infusion (BHI) para manutenção e crescimento das bactérias patogênicas, bem como gentamicina e oxacilina como antibióticos de referências.

2.8 Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Os ensaios de microdiluição em caldo foram realizados conforme as normas do documento “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI) (NCCLS document M7-A7, 2006). Os extratos foram solubilizados em álcool etílico com 20% Tween 80 para obtenção de uma solução estoque de 61,8 mg/mL. Devido à baixa solubilidade, a solução estoque do extrato de *C. heliotropiifolius* foi calculada em 30,9 mg/mL. Frente *P. aeruginosa*, os extratos se mantiveram na solução de 10,3 mg/mL. A concentração microbiana foi ajustada para $1,5 \times 10^8$ UFC/mL na escala 0,5 de McFarland. O meio de cultura utilizado foi o Mueller Hinton Infusion (MHI). Foram utilizadas placas de microdiluição planas de 96 poços e as três últimas colunas (10, 11, 12), foram reservadas para o controle do meio (apenas meio MHI), controle do

solvente (meio + solvente + inóculo) e controle negativo (meio + onóculo), respectivamente. Foram adicionados 10 µL dos inóculos aos poços com os extratos em diluição seriada de 6180 a 24,14 µg/mL. Nos ensaios frente *P. aeruginosa* os extratos foram diluídos de 1030 a 4,02 µg/mL, enquanto para o extrato de *C. heliotropiifolius* a diluição foi de 3090 a 12,07 µg/mL devido a sua baixa solubilidade. As drogas antibacterianas do controle positivo obtiveram concentrações de 36 a 0,14 µg/mL. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h. A CIM foi determinada adicionando 10 µL de uma solução de resazurina em cada poço. Após 2 h, a mudança da cor azul para rosa, correspondeu ao crescimento bacteriano; a solução na cor azul, indicou ausência de crescimento bacteriano.

A CBM foi determinada pelo semeio dos poços da CIM nos quais não houve crescimento microbiano aparente. Em placas de Petri contendo MHIA, realizou-se o semeio e incubação em estufa bacteriológica a 37 °C durante 24 h. Transcorrido o tempo, procedeu-se a avaliação da CBM determinada pelo não crescimento bacteriano nas placas.

2.9 Análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Todos os experimentos (composição química e bioensaios) foram realizados em triplicata. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Sisvar 5.6 (UFLA, Lavras, MG, Brasil).

3. Resultados

3.1 Composição química das ceras epicuticulares

Triterpenos foram os constituintes majoritários identificados na cera epicuticular de quatro espécies: *A. blanchetii* (97,91%), *A. pyrifolium* (63,44%), *J. mutabilis* (45,12%) e *C. heliotropiifolius* (35,70%) (Tabela 1). *n*-Alcanos predominaram primariamente na cera epicuticular de *C. flexuosa* (49,71%) (Tabela 1). Embora a cera epicuticular de *J. mutabilis* tenha triterpenos como majoritários, *n*-alcanos também se destacaram como uma classe representativa na cera desta espécie (24,86%) (Tabela 1). Álcoois primários ocorrem moderadamente na cera epicuticular de *C. heliotropiifolius* (19,35%) sendo a espécie com maior quantidade proporcional, seguido por *C. flexuosa* (1,56%) e *J. mutabilis* (1,42%). Classes de menor ocorrência foram as dos ácidos graxos, tocoferóis e fitoesteroides. Alcaloides foram detectados apenas na cera epicuticular de *A. pyrifolium* (Tabela 1).

Dentre os triterpenos identificados neste estudo, lupeol predominou na cera epicuticular de três espécies, majoritariamente em *A. pyrifolium* (62,15%). Outros triterpenos epicuticulares muito representativos foram os ácidos ursólico (54,10%) e oleanólico (43,13%) identificados na cera epicuticular de *A. blanchetii*. No perfil *n*-alcanos predominaram constituintes com longas cadeias de carbonos como o tritriacontano (*n*-C33) e hentriacontano (*n*-C31), na cera epicuticular de *C. flexuosa*.

Duas espécies de Euphorbiaceae possuem composição da cera epicuticular distinta. Enquanto na cera epicuticular de *C. heliotropiifolius* predominaram lupeol (35,70%) e álcoois primários como o hexacosanol (10,02%), a cera de *J. mutabilis* foi marcadamente constituída pelos triterpenos como lupeol (29,93%) e lupenona (15,19%). Em *C. heliotropiifolius* também foram identificados alguns tocoferóis e fitoesteroides.

3.2 Avaliação do crescimento micelial

As ceras epicuticulares foliares foram avaliadas quanto ao seu papel no crescimento micelial de *A. alternata* (Figura 1), *C. gloeosporioides* (Figura 2) e *F. oxysporum* (Figura 3). O bioensaios *in vitro* indicou que nenhuma inibição significativa foi observada para os cinco extratos testados, demonstrando que a cera epicuticular foliar de *A. blanchetii*, *A. pyrifolium*, *C. heliotropiifolius*, *C. flexuosa* e *J. mutabilis*, nas concentrações utilizadas, não interferiram no crescimento micelial das cepas testadas em relação ao controle.

3.3 Teste de sensibilidade fúngica - Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Observou-se que os valores da CIM para *F. oxysporum* foram superiores à concentração máxima analisada de 1024 µg/mL (Tabela 2), demonstrando inatividade dos extratos testados. Para *C. gloeosporioides*, quatro extratos demonstraram atividade inibitória (Tabela 2). Para esta cepa, a menor concentração do extrato necessária para inibição de 100% em relação ao controle, foi verificada para o extrato de *A. pyrifolium* (128 µg/mL), seguido por *J. mutabilis* (256 µg/mL). Extratos de *A. blanchetii* e *C. heliotropiifolius* apresentaram valores de CIM semelhantes (512 µg/mL) para atingir o máximo de inibição. Vale ressaltar que 32 µg/mL do extrato de *A. blanchetii*, a menor concentração verificada entre os extratos testados, já inibe 50% do crescimento de *C. gloeosporioides*. Para *A. alternata*, apesar de vários esforços e tentativas, a cepa não conseguiu produzir esporos.

3.4 Teste de sensibilidade bacteriana - Concentração Inibitória mínima (CIM) e Concentração bactericida mínima (CBM)

Os extratos epicuticulares também foram avaliados em relação ao seu potencial antibacteriano contra *B. subtilis*, *S. aureus* (bactérias Gram-positivas), *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *Serratia* sp. (bactérias Gram-negativas). Para obter a concentração desejada, o extrato de *C. heliotropiifolius* foi mantido na concentração máxima de 3090 µg/mL, devido à sua baixa solubilidade em álcool etílico com 20% Tween 80. Para os demais extratos a concentração máxima de 6180 µg/mL foi utilizada. A partir dos resultados obtidos, observou-se que ceras epicuticulares de *A. pyrifolium*, *C. heliotropiifolius* e *C. flexuosa* não apresentaram efeito inibitório contra nenhuma cepa bacteriana nas concentrações utilizadas. O melhor resultado para CIM foi obtido com o extrato de *J. mutabilis* contra *B. subtilis* (1030 µg/mL), seguido por *A. blanchetii* contra *E. coli* (CIM e CBM = 6180 µg/mL).

Com relação a CBM, ainda que o extrato epicuticular de *J. mutabilis* tenha apresentado CIM de 1030 µg/mL através da leitura com resazurina, sua CBM foi superior 1030 µg/mL, ou seja, esta concentração não foi capaz de inibir 100% do crescimento bacteriano. É notório que o extrato epicuticular de *A. blanchetii* demonstrou um potencial de inibição reduzido, necessitando da concentração máxima para inibir o crescimento bacteriano. No entanto, é importante observar que os valores de CIM e CBM são iguais (6180 µg/mL), o que pode indicar uma atividade bactericida nesta concentração do extrato (Tabela 3).

4. Discussão

4.1 Caracterização química dos componentes de ceras epicuticulares.

Para o nosso conhecimento, esse é o primeiro relato da caracterização dos componentes epicuticulares de *A. blanchetii* e *J. mutabilis*, espécies com ampla distribuição na Caatinga (Santos *et al.*, 2005). As ceras epicuticulares de *A. pyrifolium*, *C. heliotropiifolius* e *C. flexuosa*,

também oriundas da Caatinga, já foram preliminarmente analisadas para alguns de seus constituintes (Oliveira e Salatino, 2000; Medeiros *et al.*, 2017; Costa-Filho *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2019).

O presente estudo mostrou um padrão majoritário de triterpenos na maioria das espécies estudadas. Em relação as espécies de Apocynaceae investigadas, nossas análises corroboram os estudos prévios sobre a ocorrência de triterpenos na cera epicuticular de *A. pyrifolium* (Oliveira e Salatino, 2000; Medeiros *et al.*, 2017). Triterpenos também predominaram na cera de outras espécies de Apocynaceae como *Mandevilla guanabara* Casar. ex M. F. Salles, Kin.-Gouv. & A. O. Simões e *Mandevilla moricandiana* (A. DC.) Woodson (Cordeiro *et al.*, 2011). Triterpenos também são encontrados na cera epicuticular de outras espécies de Euphorbiaceae como *Ricinus communis* L. (Araújo Silva *et al.*, 2017) e *Macaranga* spp. (Markstädter *et al.*, 2000). Assim, o alto teor destes compostos pode estar relacionado com um mecanismo de defesa contra estresses bióticos, visto que uma das funções destes triterpenos nas plantas, parecem estar associadas à proteção contra herbívoros e patógenos (Varanda *et al.*, 1992. Oliveira e Salatino, 2000; Racovita e Jetter, 2016; Pereira *et al.*, 2019).

A literatura apenas disponibiliza dados para a composição de *n*-alcanos de *C. heliotropiifolius* e *J. mutabilis*. Segundo Costa-Filho *et al.* (2012), hentriacontano e nonacosano predominam na cera de *C. heliotropiifolius*. Estes mesmos *n*-alcanos também aparecem como dominantes na cera de *J. mutabilis* (Figueiredo *et al.*, 2012). Em nossas análises o hentriacontano aparece como principal constituinte da classe na maioria das espécies estudadas, corroborando os achados anteriores (Costa-Filho *et al.*, 2012; Figueiredo *et al.*, 2012).

O hexacosanol foi o principal álcool primário identificado na cera de *C. heliotropiifolius*. Este álcool também aparece como majoritário em outras espécies de *Croton* (Pimentel *et al.*, 2020). Para as outras espécies aqui estudadas, álcoois primários são

constituintes minoritários, assim como os ácidos graxos. Fitoesteroides e tocoferóis também foram identificados em algumas espécies, mas em menores proporções. A presença destas classes nas ceras epicuticulares tem sido descrita (Jetter e Riederer, 2016; Dashbaldan *et al.*, 2020).

Pesquisa anterior demonstrou que os triterpenos predominam sobre *n*-alcanos na cera epicuticular de *C. flexuosa* (Pereira *et al.*, 2019). Estes dados são contraditórios aos nossos achados em que *n*-alcanos constituem aproximadamente 50% da cera total e triterpenos foi a segunda classe predominante. Esta discrepância pode ser ocasionada pelas diferentes condições entre os locais de coleta, ainda que ambas foram realizadas no semiárido, ou pelo método de extração utilizado (extração química x extração mecânica). *C. flexuosa* é uma espécie sempre-verde e a ocorrência majoritária de *n*-alcanos na cera epicuticular nesta, bem como em outras espécies do semiárido pode ser uma forma de contornar o estresse hídrico (Oliveira *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2019).

4.2 Potencial antimicrobiano dos componentes

O presente estudo investigou o potencial antimicrobiano dos constituintes epicuticulares de espécies nativas da Caatinga. Ainda que a cera seja pouco investigada com esse objetivo nesta região, a atividade antimicrobiana da cera epicuticular e seus constituintes tem sido relatada por diversos autores (Kolattukudy *et al.*, 1995; Russin *et al.*, 1997; Alcerito *et al.*, 2002; Shanker *et al.*, 2007; Yin *et al.*, 2011; Xiao *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2022).

Em nosso estudo, a ineficácia dos extratos em inibir o crescimento micelial, pode ser atribuída a baixa solubilização dos componentes hidrofóbicos da cutícula no meio ágar ou real ausência de bioatividade (Bouddine *et al.*, 2012). De forma semelhante, Belding *et al.* (2000) e Xiao *et al.* (2020) constataram pouca ou nenhuma influência da cera epicuticular de maçã e sorgo no crescimento micelial de fitopatógenos, como o *A. alternata*, em meio de ágar. Nestes

estudos, triterpenos e constituintes alifáticos também foram identificados como predominantes na cera.

F. oxysporum é um complexo de espécies que pertencem ao grupo dos fungos filamentosos não dermatófitos (FFND) amplamente distribuído no solo, plantas, ar e água. O gênero inclui muitos patógenos oportunistas em humanos imunodeprimidos (Guilhermetti *et al.*, 2007; Azor *et al.*, 2007). No presente estudo, a cepa demonstrou ser resistente a todos os extratos avaliados *in vitro* e, a resistência a antifúngicos é um padrão típico do gênero (Guilhermetti *et al.*, 2007; Azor *et al.*, 2007; Masuduzzaman *et al.*, 2008, Almeida *et al.*, 2009).

Por outro lado, observamos que a cepa de *C. gloeosporioides* apresentou suscetibilidade significativa aos extratos epicuticulares. Este patógeno é causador da antracnose, responsável por um dos problemas mais sérios que atinge uma grande diversidade de plantas lenhosas e herbáceas (Cannon *et al.*, 2012). O potencial antifúngico observado pode estar relacionado com a presença de alguns compostos químicos como os triterpenos.

O lupeol, por exemplo, o triterpeno majoritário em *A. pyrifolium*, *C. heliotropiifolius* e *J. mutabilis*, é frequentemente encontrado nas superfícies de várias plantas, conhecido por inibir o crescimento fúngico (Aristimuño Fico seco *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2018), também é útil como agente preventivo e terapêutico contra várias doenças (Manzano *et al.*, 2013; Wal *et al.*, 2015). O lupeol se mostrou eficaz em inibir uma gama de patógenos como *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia phaseoli*, *Penicillium notatum* e *Penicillium chrysogenum*, e sua atividade antifúngica foi comparável ao miconazol (Singh e Singh, 2003; Javed *et al.*, 2021). Lupenona foi outro triterpeno identificado na cera epicuticular de *J. mutabilis*. Este triterpeno também foi identificado no látex de outra do gênero, *J. multifida* L. e, demonstrou atividade antifúngica frente *Candida tropicalis*, com possível mecanismo de ação a parede celular e biossíntese de ergosterol do patógeno (Oliveira-Tavares *et al.*, 2019). Portanto, a abundância desses

compostos na cera epicuticular das espécies ativas contra *C. gloeosporioides*, pode ser um indício do potencial antifúngico destes constituintes.

Dois outros triterpenos foram identificados em altas proporções na cera epicuticular de *A. blanchetii*, os ácidos ursólico e oleanólico. Estes compostos são responsáveis por um largo espectro de atividade biológicas (Liu, 2005; Sultana e Ata, 2008). Estudos anteriores relataram a atividade antifúngica do ácido úrsólico contra várias espécies de fungos fitopatogênicos (Jabeen *et al.*, 2011; Mahlo e Javaid, 2011; Shaik *et al.*, 2016). Este triterpeno teve ação na integridade da parede celular, resultando em lise de membrana e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) em *Alternaria alternata* e *Cryptococcus neoformans* (Shu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2022). No presente estudo, a inibição de 50% do crescimento de *C. gloeosporioides* na concentração de 32 µg/mL pelo extrato de *A. blanchetii*, pode ser devido aos constituintes citados em ação sinérgica, visto que são antimicrobianos bem conhecidos (Favel *et al.*, 1994; Jesus *et al.*, 2015). Sugere-se que estudos mais aprofundados possam ser conduzidos utilizando compostos isolados das espécies citadas para maior elucidação da atividade antifúngica. Além disso, sugerimos mais pesquisas para identificar o mecanismo de ação desses componentes frente *C. gloeosporioides*.

Embora *A. blanchetii* tenha apresentado teores elevados dos ácidos ursólicos e oleanólico, a atividade antibacteriana (CIM 6180 µg/mL) vista no experimento foi muito baixa quando comparada com as drogas antibacterianas padrão. Ren *et al.* (2005) verificaram que o ácido ursólico inibe a formação de biofilme e afeta a expressão de genes em *E. coli*, particularmente aquelas envolvidas no metabolismo do enxofre e respostas ao estresse. Ambos os ácidos oleanólico e ursólico afetaram a morfologia bacteriana, tendo como alvo celular o metabolismo do peptidoglicano (Szakiel *et al.*, 2008; Kurek *et al.*, 2010). Martins *et al.* (2011) demonstraram que ácido oleanólico apresentou um alto potencial antibacteriano. Vários outros estudos demonstraram um bom espectro antibacteriano desses compostos isolados contra cepas,

principalmente as Gram-positivas (Horiuchi *et al.*, 2007; Fontanay *et al.*, 2008; Szakiel *et al.*, 2008). Esses resultados vão contra nossos achados, portanto, o extrato bruto da cera de *A. blanchetii* não apresenta relevância clínica.

Outra espécie estudada que demonstrou ação antibacteriana foi *J. mutabilis*. Diversos estudos demonstraram a atividade antibacteriana de extratos para outras espécies do gênero como em *Jatropha gaumeri* Greenman contra *B. subtilis* (Sánchez-Medina *et al.*, 2001), *Jatropha multifida* L. (200 µg/mL) contra *B. subtilis* e *S. aureus* (Aiyelaagbe, 2001), *Jatropha uncostata* Balf. frente *S. aureus* (Mothana e Lindequist, 2005), *Jatropha gossypifolia* L. (500 µg/mL) contra *B. subtilis* (Kumar *et al.*, 2006) e *Jatropha curcas* Linn. contra diversas cepas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas (Igbinosa *et al.*, 2009). Quimicamente, essa inibição muito provavelmente pode ser devido a presença do lupeol e lupenona, visto que possuem ação antimicrobiana comprovada (Signh e Signh, 2003; Javed *et al.*, 2021; Oliveira-Tavares *et al.*, 2019).

5. Conclusão

Pode-se concluir que os triterpenos e *n*-alcanos foram as principais classes de constituintes identificadas. Dentro destas classes os triterpenos lupeol e os ácidos ursólico e olenólico foram os mais representativos. Tritriacontano e hentriacontano predominaram dentro dos *n*-alcanos. A germinação dos esporos de *C. gloeosporioides* foi inibida por quatro extratos testados notadamente os extratos de *A. pyrifolium* e *J. mutabilis*. Os extratos não apresentaram relevância clínica frente aos isolados bacterianos. Os triterpenos lupeol (*A. pyrifolium*), os ácidos ursólico e oleanólico (*A. blanchetii*) e a lupeol e lupenona (*J. mutabilis*) podem estar por

trás das atividades observadas. *C. flexuosa*, em cuja cera predominou *n*-alcanos, foi a espécie com nenhuma atividade dentre as testadas.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. O primeiro e último autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - Brasil), pela bolsa de mestrado e de pesquisa (310811/2019-8), respectivamente.

Referências

- Aguiar, A. C., Cunha, A. C., Ceravolo, I. P., Gonçalves, R. A. C., Oliveira, A. J., & Krettli, A. U. (2015). *Aspidosperma* (Apocynaceae) plant cytotoxicity and activity towards malaria parasites. Part II: experimental studies with *Aspidosperma ramiflorum* in vivo and in vitro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110, 906-913.
- Aiyelaagbe, O. O. (2001). Antibacterial activity of *Jatropha multifida* roots. *Fitoterapia*, 72(5), 544-546.
- Albuquerque, U. P., Andrade, L. H. C., (2002). Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Interciencia*, 27(7), 336-346.
- Albuquerque, U. P., De Medeiros, P. M., De Almeida, A. L. S., Monteiro, J. M., Neto, E. M. D. F. L., de Melo, J. G., & Dos Santos, J. P. (2007). Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of ethnopharmacology*, 114(3), 325-354.
- Alcerito, T., Barbo, F. E., Negri, G., Santos, D. Y., Meda, C. I., Young, M. C. M., ... & Blatt, C. T. (2002). Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(7), 677-683.

- Almeida, L. M. M. D., Souza, E. A. D. F., Bianchin, D. B., & Svidzinski, T. I. E. (2009). Resposta in vitro de fungos agentes de micoses cutâneas frente aos antifúngicos sistêmicos mais utilizados na dermatologia. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 84, 249-255.
- Aquino, A. B., Cavalcante-Silva, L. H. A., da Matta, C. B. B., Epifânio, W. A. D. N., Aquino, P. G. V., Santana, A. E. G., ... & de Araújo-Júnior, J. X. (2013). The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae). *The Scientific World Journal*, 2013.
- Araújo Silva, M. M. et al. (2017). Chemical composition and ultrastructure of the foliar cuticular wax of two Brazilian cultivars of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products*, 95, 558-563.
- Araújo, D. P., Nogueira, P. C., Santos, A. D. C., Costa, R. D. O., de Lucena, J. D., Jatai Gadelha-Filho, C. V., ... & Viana, G. S. (2018). *Aspidosperma pyrifolium* Mart: neuroprotective, antioxidant and anti-inflammatory effects in a Parkinson's disease model in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70(6), 787-796.
- Araújo, F. M., Dantas, M. C., e Silva, L. S., Aona, L. Y., Tavares, I. F., & de Souza-Neta, L. C. (2017). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. *Industrial crops and products*, 105, 203-206.
- Araújo, L. G., Veras, G., de Oliveira Alves, J. V., Oliveira de Veras, B., da Silva, M. V., Bacalhau Rodrigues, J. F., ... & da Conceicao de Menezes Torres, M. (2020). Chemodiversity and Antibacterial Activity of the Essential Oil of Leaves of *Croton argyrophyllus*. *Chemistry & Biodiversity*, 17(10), e2000575.
- Aristimuño Fico seco, M. E., Vattuone, M. A., Audenaert, K., Catalan, C. A. N., & Sampietro, D. A. (2014). Antifungal and antimycotoxigenic metabolites in Anacardiaceae species from northwest Argentina: isolation, identification and potential for control of *Fusarium* species. *Journal of applied Microbiology*, 116(5), 1262-1273.

- Azor, M., Gené, J., Cano, J., & Guarro, J. (2007). Universal in vitro antifungal resistance of genetic clades of the *Fusarium solani* species complex. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(4), 1500-1503.
- Belding, R. D., Sutton, T. B., Blankenship, S. M., & Young, E. (2000). Relationship between apple fruit epicuticular wax and growth of *Peltaster fructicola* and *Leptodontidium elatius*, two fungi that cause sooty blotch disease. *Plant Disease*, 84(7), 767-772.
- Bezerra, J. W. A., Rodrigues, F. C., Costa, A. R., Pereira, K. S., Vieira, N. R., de Oliveira Lôbo, G., ... & Braga, M. F. B. M. (2020). *Mesosphaerum suaveolens* (Lamiaceae): Source of antimicrobial and antioxidant compounds. *Research, Society and Development*, 9(8), e575986161-e575986161.
- Bigio, N. C. et al. *Jatropha in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17583>>. Acesso em: 01 ago. 2022.
- Blakeman, J. P.; Sztejnberg, A. (1973) Effect of surface wax on inhibition of germination of *Botrytis cinerea* spores on beetroot leaves. *Physiological Plant Pathology*, 3(2), 269-278.
- Bouddine, L., Louaste, B., Achahbar, S., Chami, N., Chami, F., & Remmal, A. (2012). Comparative study of the antifungal activity of some essential oils and their major phenolic components against *Aspergillus niger* using three different methods. *African Journal of Biotechnology*, 11(76), 14083-14087.
- Buschhaus, C., & Jetter, R. (2011). Composition differences between epicuticular and intracuticular wax substructures: how do plants seal their epidermal surfaces?. *Journal of experimental botany*, 62(3), 841-853.
- Cannon, P. F., Damm, U., Johnston, P. R., & Weir, B. S. (2007). Colletotrichum—current status and future directions. *Studies in mycology*, 59(1), 129-145.
- Cantrell, C. L., Dayan, F. E., & Duke, S. O. (2012). Natural products as sources for new pesticides. *Journal of natural products*, 75(6), 1231-1242.
- Carvalho, M. R., Sena, K. F., Lopes, U. V., Pirovani, C. P., dos Santos Filho, L. P., Araújo, S. A., ... & Gramacho, K. P. (2022). Bioassay methods for extraction and detection of

- antifungal potential of the epicuticular layer of *Theobroma cacao* pods against the witches' broom pathogen. *Journal of Plant Pathology*, 104(1), 343-348.
- Chierrito, T. P., Aguiar, A. C., de Andrade, I. M., Ceravolo, I. P., Gonçalves, R. A., de Oliveira, A. J., & Krettli, A. U. (2014). Anti-malarial activity of indole alkaloids isolated from *Aspidosperma olivaceum*. *Malaria journal*, 13(1), 1-10.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard*. CLSI document M38-A2 [ISBN 1-56238-668-9]. CLSI, Pennsylvania, USA 2008.
- Cordeiro, S. Z., Simas, N. K., de Oliveira Arruda, R. D. C., & Sato, A. (2011). Composition of epicuticular wax layer of two species of *Mandevilla* (Apocynoideae, Apocynaceae) from Rio de Janeiro, Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(3), 198-202.
- Costa Filho, L. O., de Moura Silva, M. H., de Almeida-Cortez, J. S., da Silva, S. I., & de Oliveira, A. F. M. (2012). Foliar cuticular n-alkane of some *Croton* species from Brazilian semiarid vegetation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 41, 13-15.
- Costa, E. C., Menezes, P. M. N., Silva, F. S., Ribeiro, L. A. D. A., Rolim, L. A., Araujo, E. C. D. C., & Nunes, X. P. (2021). *Jatropha mutabilis*, a new source of vitexin: HPLC quantification and pharmacological evaluation. *Natural Product Research*, 35(24), 6200-6203.
- Cunha, A. C., Chierrito, T. P. C., de Carvalho Machado, G. M., Leon, L. L. P., da Silva, C. C., Tanaka, J. C., ... & de Oliveira, A. J. B. (2012). Anti-leishmanial activity of alkaloidal extracts obtained from different organs of *Aspidosperma ramiflorum*. *Phytomedicine*, 19(5), 413-417.
- Dashbaldan, S., Pączkowski, C., & Szakiel, A. (2020). Variations in triterpenoid deposition in cuticular Waxes during development and maturation of selected fruits of Rosaceae family. *International journal of molecular sciences*, 21(24), 9762.
- Favel, A., Steinmetz, M. D., Regli, P., Vidal-Ollivier, E., Elias, R., & Balansard, G. (1994). In vitro antifungal activity of triterpenoid saponins. *Planta medica*, 60(01), 50-53.
- Figueiredo, K. V., Oliveira, M. T., Oliveira, A. F. M., Silva, G. C., & Santos, M. G. (2012). Epicuticular-wax removal influences gas exchange and water relations in the leaves of

- an exotic and native species from a Brazilian semiarid region under induced drought stress. *Australian Journal of Botany*, 60(8), 685-692.
- Fontanay, S., Grare, M., Mayer, J., Finance, C., & Duval, R. E. (2008). Ursolic, oleanolic and betulinic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of ethnopharmacology*, 120(2), 272-276.
- Gembeh, S. V., Brown, R. L., Grimm, C., & Cleveland, T. E. (2001). Identification of chemical components of corn kernel pericarp wax associated with resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4635-4641.
- Guilhermetti, E., Takahachi, G., Shinobu, C. S., & Svidzinski, T. I. E. (2007). *Fusarium* spp. as agents of onychomycosis in immunocompetent hosts. *International journal of dermatology*, 46(8), 822-826.
- Horiuchi, K., Shiota, S., Hatano, T., Yoshida, T., Kuroda, T., & Tsuchiya, T. (2007). Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(6), 1147-1149.
- Iantas, J., Savi, D. C., Schibelbein, R. D. S., Noriler, S. A., Assad, B. M., Dilarri, G., ... & Glienke, C. (2021). Endophytes of Brazilian Medicinal Plants With Activity Against Phytopathogens. *Frontiers in microbiology*, 2454.
- Igbinsola, O. O., Igbinsola, E. O., & Aiyegoro, O. A. (2009). Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African journal of pharmacy and pharmacology*, 3(2), 058-062.
- Inyang, E. N., Butt, T. M., Beckett, A., & Archer, S. (1999). The effect of crucifer epicuticular waxes and leaf extracts on the germination and virulence of *Metarhizium anisopliae* conidia. *Mycological Research*, 103(4), 419-426.
- Jabeen, K., Javaid, A., Ahmad, E., e Athar, M. (2011). Antifungal compounds from *Melia azedarach* leaves for management of *Ascochyta rabiei*, the cause of chickpea blight. *Natural product research*, 25(3), 264-276.

- Javed, S., Mahmood, Z., Khan, K. M., Sarker, S. D., Javaid, A., Khan, I. H., & Shoaib, A. (2021). Lupeol acetate as a potent antifungal compound against opportunistic human and phytopathogenic mold *Macrophomina phaseolina*. *Scientific Reports*, 11(1), 1-11.
- Jenks, M. A., Ashworth, E. N., & Janick, J. (1999). Plant epicuticular waxes: function, production, and genetics. *Horticultural reviews*, 23.
- Jesus, J. A., Lago, J. H. G., Laurenti, M. D., Yamamoto, E. S., & Passero, L. F. D. (2015). Antimicrobial activity of oleanolic and ursolic acids: an update. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Jetter, R., & Riederer, M. (2016). Localization of the transpiration barrier in the epi-and intracuticular waxes of eight plant species: water transport resistances are associated with fatty acyl rather than alicyclic components. *Plant physiology*, 170(2), 921-934.
- Jetter, R., Kunst, L., & Samuels, A. L. (2008). Composition of plant cuticular waxes. *Biol. Plant Cuticle*, 23, 145-181.
- Kim, H., Choi, D., & Suh, M. C. (2017). Cuticle ultrastructure, cuticular lipid composition, and gene expression in hypoxia-stressed *Arabidopsis* stems and leaves. *Plant cell reports*, 36(6), 815-827.
- Kolattukudy, P. E., Rogers, L. M., Li, D., Hwang, C. S., And Flaishman, M. A. (1995). Surface signaling in pathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92(10), 4080-4087.
- Kumar, V. P., Chauhan, N. S., Padh, H., & Rajani, M. (2006). Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 107(2), 182-188.
- Kunst, L., e Samuels, L. (2009). Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export. *Current opinion in plant biology*, 12(6), 721-727.
- Kurek, A., Grudniak, A. M., Szwed, M., Klicka, A., Samluk, L., Wolska, K. I., ... & Popowska, M. (2010). Oleanolic acid and ursolic acid affect peptidoglycan metabolism in *Listeria monocytogenes*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 97(1), 61-68.

- Liu, J. (2005). Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 92-94.
- Macêdo, D. G., Ribeiro, D. A., Coutinho, H. D., Menezes, I. R., & SOUZA, M. M. (2015). Práticas terapêuticas tradicionais: uso e conhecimento de plantas do cerrado no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(6), 491-508.
- Mahlo, S. M., & Eloff, J. N. (2014). Acetone leaf extracts of *Breonadia salicina* (Rubiaceae) and ursolic acid protect oranges against infection by *Penicillium species*. *South African Journal of Botany*, 93, 48-53.
- Manzano, P. I., Miranda, M., Abreu-Payrol, J., Silva, M., Sterner, O., & Peralta, E. L. (2013). Pentacyclic triterpenoids with antimicrobial activity from the leaves of *Vernonanthura patens* (Asteraceae). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(7), 539-543.
- Markstädter, C., Federle, W., Jetter, R., Riederer, M., & Hölldobler, B. (2000). Chemical composition of the slippery epicuticular wax blooms on *Macaranga* (Euphorbiaceae) ant-plants. *Chemoecology*, 10(1), 33-40.
- Martin, J. T., Batt, R. F., & Burchill, R. T. (1957). Defence mechanism of plants against fungi: Fungistatic properties of apple leaf wax. *Nature*, 180(4590), 796-797.
- Martins, A., Vasas, A., Viveiros, M., Molnár, J., Hohmann, J., & Amaral, L. (2011). Antibacterial properties of compounds isolated from *Carpobrotus edulis*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37(5), 438-444.
- Masuduzzaman, S., Meah, M. B., & Rashid, M. M. (2008). Determination of inhibitory action of *Allamanda* leaf extracts against some important plant pathogens. *Journal of Agriculture & Rural Development*, 6(1), 107-112.
- Medeiros, C. D., Falcão, H. M., Almeida-Cortez, J., Santos, D. Y. A. C., Oliveira, A. F. M., & Santos, M. G. (2017). Leaf epicuticular wax content changes under different rainfall regimes, and its removal affects the leaf chlorophyll content and gas exchanges of

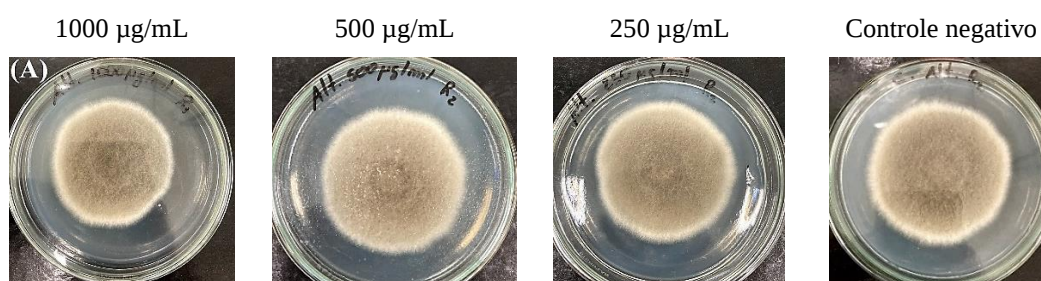
- Aspidosperma pyrifolium* in a seasonally dry tropical forest. *South African Journal of Botany*, 111, 267-274.
- Mothana, R. A., & Lindequist, U. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqatra. *Journal of ethnopharmacology*, 96(1-2), 177-181.
- Mottaghipisheh, J., & Iriti, M. (2020). Sephadex® LH-20, Isolation, and purification of flavonoids from plant species: A comprehensive review. *Molecules*, 25(18), 4146.
- NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. NCCLS document M7-A7. Approved Standard— Seventh Edition, which describes standard broth dilution (macrodilution and microdilution) and agar dilution techniques for measuring the in vitro susceptibility of bacteria to antimicrobial agents, 2006.
- Oliveira, A. F., & Salatino, A. (2000). Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(9-10), 688-692.
- Oliveira-Tavares, N. N., Lemos, A. S., Pereira, A. P. O., Fabri, R. L., & Chedier, L. M. (2019). Atividade Antifúngica do Látex de *Jatropha multifida* L.(Euphorbiaceae) e de Lupenona isolada de suas Folhas. *Revista Virtual de Química*, 11(5), 1579-1590.
- Pereira Rocha, M., Rodrigues Valadares Campana, P., de Oliveira Scoaris, D., de Almeida, V. L., Dias Lopes, J. C., Fonseca Silva, A., ... & Gontijo Silva, C. (2018). Biological activities of extracts from *Aspidosperma subincanum* Mart. and in silico prediction for inhibition of acetylcholinesterase. *Phytotherapy Research*, 32(10), 2021-2033.
- Pereira, S., Figueiredo-Lima, K., Oliveira, A. F. M., & Santos, M. G. (2019). Changes in foliar epicuticular wax and photosynthesis metabolism in evergreen woody species under different soil water availability. *Photosynthetica*, 57(1), 192-201.
- Pimentel, B. S. et al. (2020). Taxonomic significance of the distribution of constituents of leaf cuticular waxes of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 92, 104106.

- Racovita, R. C., & Jetter, R. (2016). Composition of the epicuticular waxes coating the adaxial side of *Phyllostachys aurea* leaves: Identification of very-long-chain primary amides. *Phytochemistry*, 130, 252-261.
- Ren, D. Zuo, R. Gonzalez Barrios, A. F. Bedzyk, L. A. et al (2005). Differential gene expression for investigation of *Escherichia coli* biofilm inhibition by plant extract ursolic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4022-34.
- Ribeiro, D. A., Macêdo, D. G., Oliveira, L. G. S., Saraiva, M. E., Oliveira, S. F., Souza, M. M. A., & Menezes, I. R. A. (2014). Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16, 912-930.
- Rios, M. Y., León-Rivera, I., Ríos-Gomez, R., Córdova-Albores, L. C., & Aguilar-Guadarrama, A. B. (2019). Phytotoxic and nematocide evaluation of *Croton ehrenbergii* (Euphorbiaceae). *Pest management science*, 75(8), 2158-2165.
- Rito, K. F., Arroyo-Rodríguez, V., Queiroz, R. T., Leal, I. R., & Tabarelli, M. (2017). Precipitation mediates the effect of human disturbance on the Brazilian Caatinga vegetation. *Journal of Ecology*, 105(3), 828-838.
- Rodrigues, F. C., Bezerra, J. W. A., Leite, N. F., Duarte, A. E., Costa, A. R., Fidelis, K. R., ... & Morais-Braga, M. F. B. (2018). Chemical composition and modifying activity of essential oil of *Lantana camara* L.(wild sage) against *Candida* strains. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(4).
- Russin, J. S., Guo, B. Z., Tubajika, K. M., Brown, R. L., Cleveland, T. E., & Widstrom, N. W. (1997). Comparison of kernel wax from corn genotypes resistant or susceptible to *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 87(5), 529-533.
- Sabandar, C. W., Ahmat, N., Jaafar, F. M., & Sahidin, I. (2013). Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. *Phytochemistry*, 85, 7-29.
- Sánchez-Medina, A., García-Sosa, K., May-Pat, F., & Peña-Rodríguez, L. M. (2001). Evaluation of biological activity of crude extracts from plants used in Yucatecan Traditional Medicine Part I. Antioxidant, antimicrobial and β -glucosidase inhibition activities. *Phytomedicine*, 8(2), 144-151.

- Santos, M. J., Machado, I. C., & Lopes, A. V. (2005). Biologia reprodutiva de duas espécies de *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) em Caatinga, Nordeste do Brasil. *Brazilian Journal of Botany*, 28(2), 361-373.
- Seo, P. J., Lee, S. B., Suh, M. C., Park, M. J., Go, Y. S., & Park, C. M. (2011). The MYB96 transcription factor regulates cuticular wax biosynthesis under drought conditions in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 23(3), 1138-1152.
- Shaik, A. B., Ahil, S. B., Govardhanam, R., Senthil, M., Khan, R., Sojitra, R., ... e Srinivas, A. (2016). Antifungal effect and protective role of ursolic acid and three phenolic derivatives in the management of sorghum grain mold under field conditions. *Chemistry & Biodiversity*, 13(9), 1158-1164.
- Shanker, K. S., Kanjilal, S., Rao, B. V. S. K., Kishore, K. H., Misra, S., & Prasad, R. B. N. (2007). Isolation and antimicrobial evaluation of isomeric hydroxy ketones in leaf cuticular waxes of *Annona squamosa*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 18(1), 7-12.
- Sharmin, T., Sarker, P. K., Islam, F., Chowdhury, S. R., Quadery, T. M., Mian, M. Y., ... & Ullah, M. S. (2013). Investigation of biological activities of *Allamanda blanchetii*, the violet *Allamanda*. *journal of pharmacy research*, 6(7), 761-764.
- Shirazi, M., Abid, M., Hussain, F., Abbas, A., & Sitara, U. (2020). Antifungal activity of some medicinal plant extracts against soil-borne phytopathogens. *Pakistan Journal Botany*, 52(2), 679-85.
- Shu, C., Zhao, H., Jiao, W., Liu, B., Cao, J., & Jiang, W. (2019). Antifungal efficacy of ursolic acid in control of *Alternaria alternata* causing black spot rot on apple fruit and possible mechanisms involved. *Scientia Horticulturae*, 256, 108636.
- Silva Trentin, D., Giordani, R. B., Zimmer, K. R., Da Silva, A. G., Da Silva, M. V., dos Santos Correia, M. T., ... & Macedo, A. J. (2011). Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 327-335.
- Silva, J. M. C. D. et al. (2017). The Caatinga: understanding the challenges. In *Caatinga* (pp. 3-19). Springer, Cham.

- Singh, B., & Singh, S. (2003). Antimicrobial activity of terpenoids from *Trichodesma amplexicaule* Roth. *Phytotherapy research*, 17(7), 814-816.
- Siqueira, I. B., Teixeira Barbosa, A. A., Jain, S., Miranda Fernandes, R. P., Tavares Silva, A. R. S., Ferreira Barbosa, F. H., ... & Dolabella, S. S. (2021). In vitro Antibacterial Activity of Essential Oils of *Croton tetradenius* Baill. From the Brazilian Caatinga Biome and Its Synergistic Effect With Ciprofloxacin and Meropenem. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(1), 12-21.
- Sultana, N., & Ata, A. (2008). Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 23(6), 739-756.
- Szakiel, A., Ruszkowski, D., Grudniak, A., Kurek, A., Wolska, K. I., Doligalska, M., & Janiszowska, W. (2008). Antibacterial and antiparasitic activity of oleanolic acid and its glycosides isolated from marigold (*Calendula officinalis*). *Planta medica*, 74 (14), 1709-1715.
- Varanda, E. M., Zúñiga, G. E., Salatino, A., Roque, N. F., & Corcuera, L. J. (1992). Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. *Journal of Natural Products*, 55(6), 800-803.
- Wang, W. J., Liu, C. C., Li, Y. T., Li, M. Q., Fu, Y. T., Li, X. C., & Qian, W. D. (2022). Antifungal and Antibiofilm In Vitro Activities of Ursolic Acid on *Cryptococcus neoformans*. *Current Microbiology*, 79(10), 1-9.
- Wal, A., Srivastava, R. S., Wal, P., Rai, A., & Sharma, S. (2015). Lupeol as a magical drug. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, 2(5), 142-151.
- Wu, X., Yin, H., Shi, Z., Chen, Y., Qi, K., Qiao, X., ... & Zhang, S. (2018). Chemical composition and crystal morphology of epicuticular wax in mature fruits of 35 pear (*Pyrus* spp.) cultivars. *Frontiers in plant science*, 9, 679.

- Xiao, Y., Li, X., Yao, L., Xu, D., Li, Y., Zhang, X., ... & Guo, Y. (2020). Chemical profiles of cuticular waxes on various organs of *Sorghum bicolor* and their antifungal activities. *Plant Physiology and Biochemistry*, 155, 596-604.
- Yeats, T. H., & Rose, J. K. (2013). The formation and function of plant cuticles. *Plant physiology*, 163(1), 5-20.
- Yin, Y., Bi, Y., Chen, S., Li, Y., Wang, Y., Ge, Y., ... & Zhang, Z. (2011). Chemical composition and antifungal activity of cuticular wax isolated from Asian pear fruit (cv. Pingguoli). *Scientia Horticulturae*, 129(4), 577-582.
- Yazbek, P. B., Tezoto, J., Cassas, F., & Rodrigues, E. (2016). Plants used during maternity, menstrual cycle and other women's health conditions among Brazilian cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, 179, 310-331.
- Zeisler-Diehl, V. V., Barthlott, W., & Schreiber, L. (2020). Plant cuticular waxes: composition, function, and interactions with microorganisms. *Hydrocarbons, oils and lipids: diversity, origin, chemistry and fate*, 123-138.
- Ziv, C., Zhao, Z., Gao, Y. G., & Xia, Y. (2018). Multifunctional roles of plant cuticle during plant-pathogen interactions. *Frontiers in plant science*, 1088.



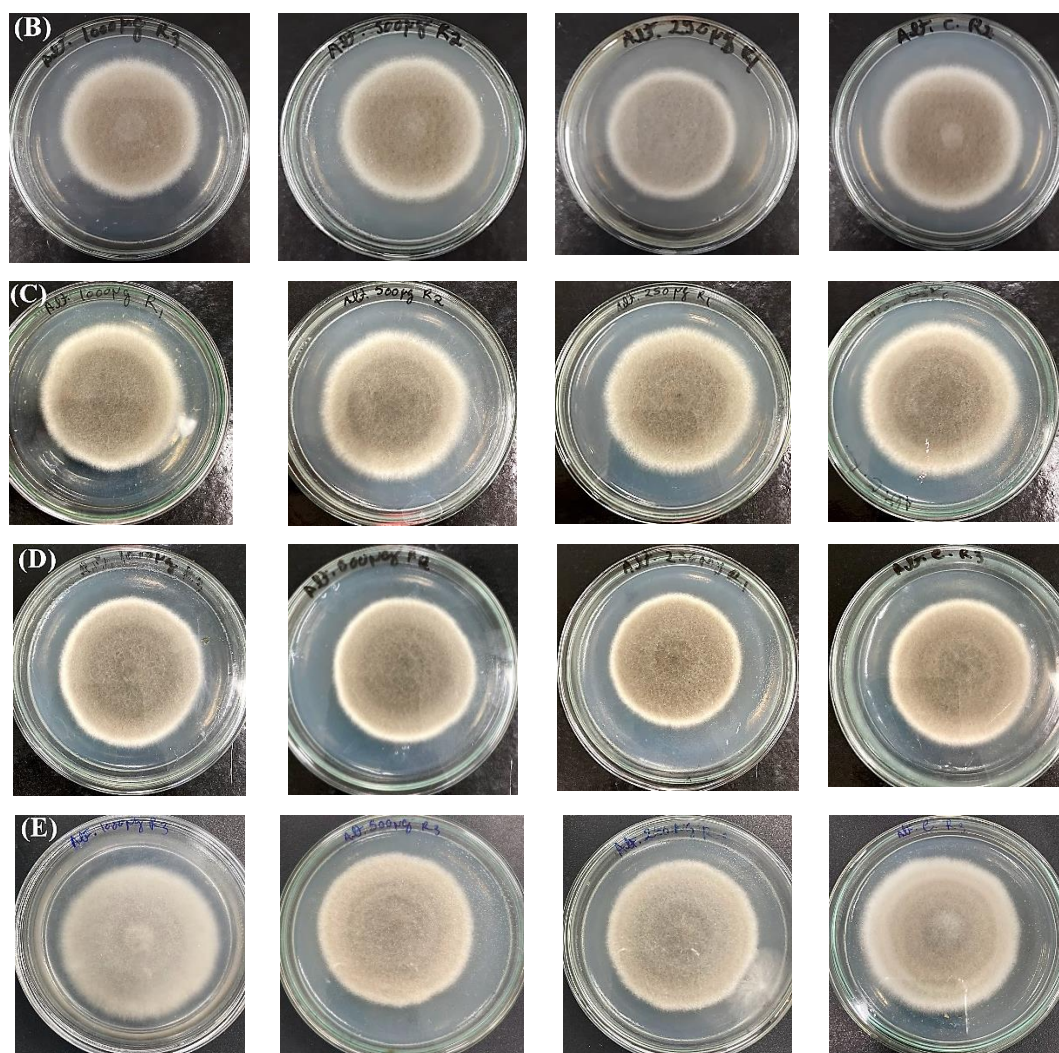


Figura 1. Placas com extratos de ceras epicuticulares em três concentrações inoculadas com *Alternaria alternata* após sete dias de incubação; (A) *Jatropha mutabilis*, (B) *Aspidosperma pyrifolium*, (C) *Cynophalla flexuosa*, (D) *Croton heliotropiifolius* e (E) *Allamanda blanchetii*. Controle negativo: apenas o solvente (clorofórmio).

1000 µg/mL

500 µg/mL

250 µg/mL

Controle negativo

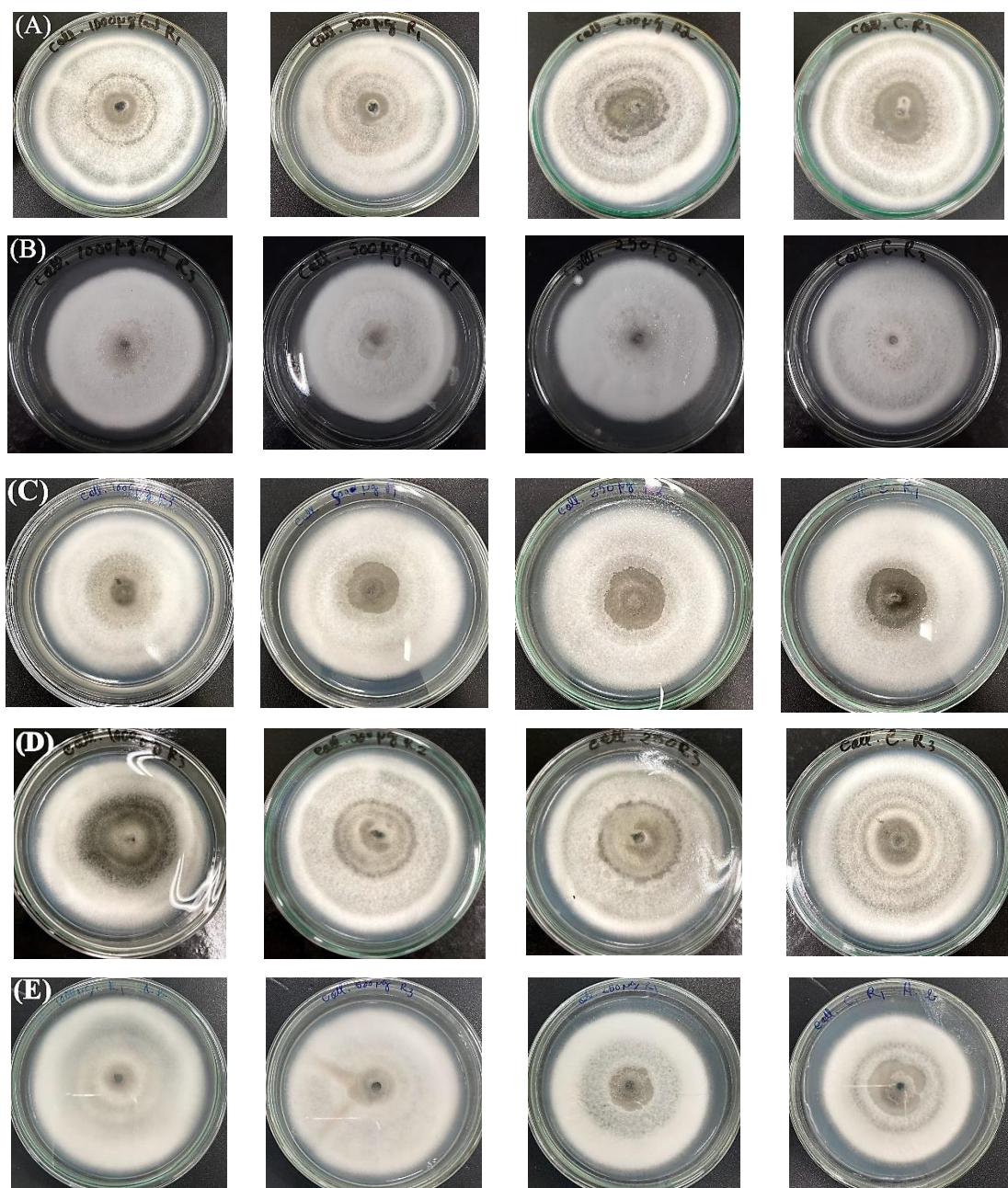


Figura 2. Placas com extratos de ceras epicuticulares em três concentrações inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* após sete dias de incubação; (A) *Jatropha mutabilis*, (B) *Aspidosperma pyrifolium*, (C) *Cynophalla flexuosa*, (D) *Croton heliotropiifolius* e (E) *Allamanda blanchetii*. Controle negativo: apenas o solvente (clorofórmio).

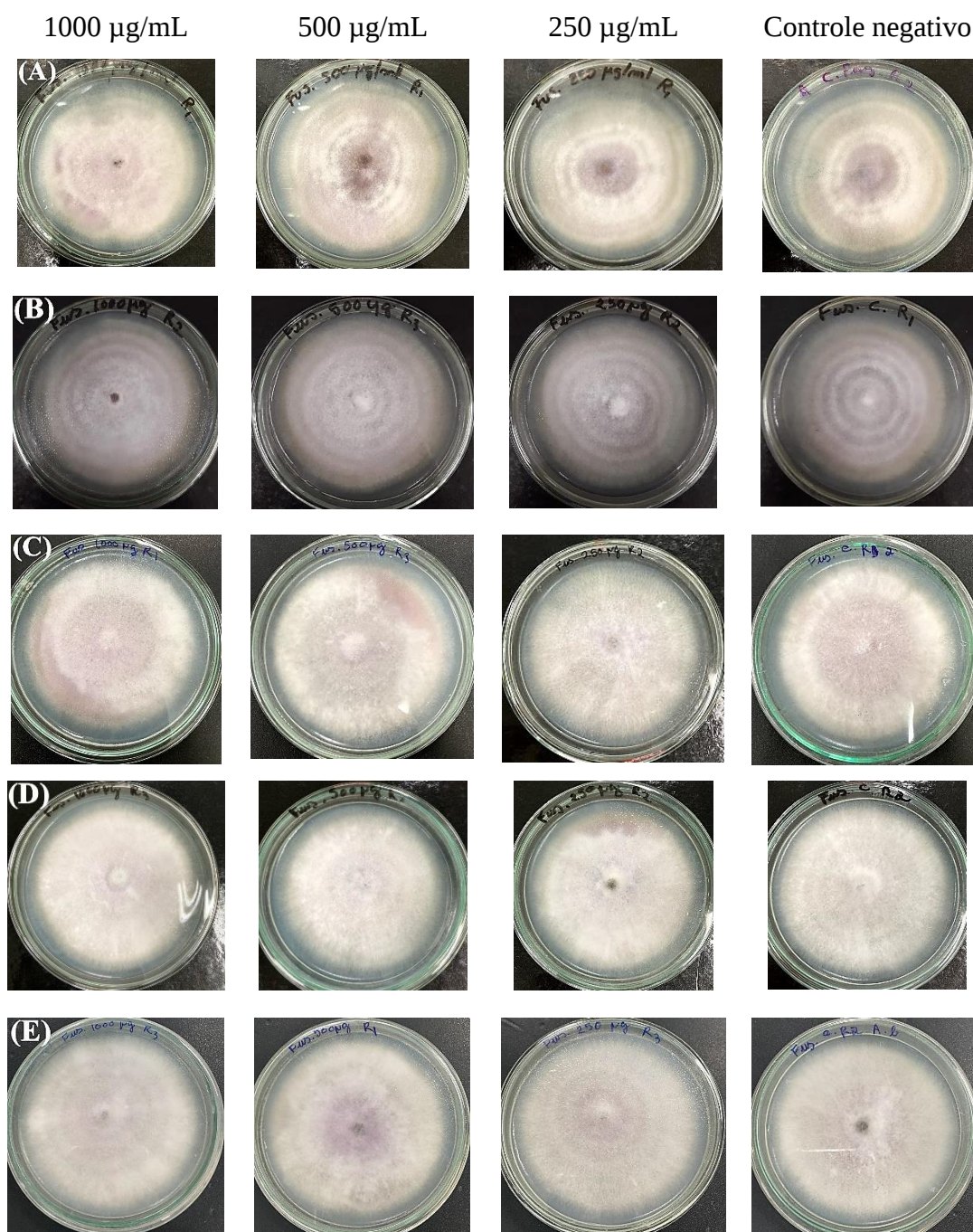


Figura 3. Placas com extratos de ceras epicuticulares em três concentrações inoculadas com *Fusarium oxyspoum* após sete dias de incubação; (A) *Jatropha mutabilis*, (B) *Aspidosperma pyrifolium*, (C) *Cynophalla flexuosa*, (D) *Croton heliotropiifolius* e (E) *Allamanda blanchetii*. Controle negativo: apenas o solvente (clorofórmio).

Tabela 1. Composição relativa da cera epicuticular foliar das espécies da Caatinga utilizadas nos bioensaios.

Constituintes (%)	Espécies				
	<i>Allamanda blanchetii</i>	<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	<i>Croton heliotropiifolius</i>	<i>Cynophalla flexuosa</i>	<i>Jatropha mutabilis</i>
<i>n</i>-Alcanos					
Pentacosano	-	-	-	-	0,47 ± 0,30
Heptacosano	-	-	0,23 ± 0,10	-	3,54 ± 1,22
Nonacosano	-	0,40 ± 0,22	3,37 ± 1,25	0,68 ± 0,54	3,76 ± 0,80
Triacotano	-	-	-	0,63 ± 0,51	-
Hentriacontano	0,22 ± 0,08	1,03 ± 0,51	7,32 ± 1,50	17,66 ± 3,00	11,71 ± 1,32
Dotriacontano	-	-	-	5,20 ± 1,50	-
Tritriacontano	0,08 ± 0,01	0,75 ± 0,63	1,46 ± 0,62	24,96 ± 3,10	4,68 ± 1,42
Pentatriacontano	-	0,48 ± 0,14	-	0,58 ± 0,33	0,70 ± 0,44
Total	0,30	2,66	12,38	49,71	24,86
Álcoois primários					
Hexacosanol	-	-	10,02 ± 0,40	-	-
Heptacosanol	-	-	0,43 ± 0,19	-	0,71 ± 0,10
Octacosanol	0,42 ± 0,16	-	8,90 ± 0,30	-	0,71 ± 0,12
Triacotanol	0,20 ± 0,06	0,29 ± 0,01	-	0,70 ± 0,20	-
Dotriacontanol	0,14 ± 0,01	-	-	0,86 ± 0,14	-
Total	0,76	0,29	19,35	1,56	1,42
Ácidos graxos					
Ác. hexadecanoico	0,23 ± 0,12	0,07 ± 0,02	0,95 ± 0,26	0,55 ± 0,18	1,25 ± 0,33
Ác. octadecanoico	-	-	0,35 ± 0,13	0,10 ± 0,02	0,41 ± 0,08
Total	0,23	0,07	1,30	0,64	1,66

Triterpenos					
β -Amirina	0,24 $\pm$ 0,13	-	3,83 $\pm$ 0,60	-	5,83 $\pm$ 0,36
Esqualeno	-	-	2,20 $\pm$ 1,41	-	-
Lupenona	-	1,29 $\pm$ 0,01	-	0,84 $\pm$ 0,46	15,19 $\pm$ 1,60
Lupeol	-	62,15 $\pm$ 6,20	29,67 $\pm$ 2,30	4,90 $\pm$ 0,84	29,93 $\pm$ 2,52
Eritrodiol	0,44 $\pm$ 0,26	-	-	-	-
Ácido oleanólico	43,13 $\pm$ 4,45	-	-	-	-
Ácido ursólico	54,10 $\pm$ 5,62	-	-	-	-
Betulinol	-	-	-	2,90 $\pm$ 0,83	-
Total	97,91	63,44	35,70	8,64	45,12
Outros					
Alcaloide*	-	0,34 $\pm$ 0,01	-	-	-
α -Tocoferol	-	-	1,03 $\pm$ 0,21	0,12 $\pm$ 0,01	-
γ -Tocoferol	-	-	0,60 $\pm$ 0,15	-	-
Campesterol	-	-	0,90 $\pm$ 0,32	-	-
Colesterol	-	-	2,51 $\pm$ 0,16	-	-
β -Sitosterol	-	-	-	0,24 $\pm$ 0,05	-
Total	-	0,34	5,04	0,34	-

Os dados são fornecidos como médias $\pm$ DP (n = 3). – não detectado (teor < 0,1%). Os valores em negrito correspondem aos compostos majoritários dentro de cada classe. * Possivelmente derivados de aspidospermidina.

Tabela 2. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL dos extratos de cera epicuticular contra fungos fitopatogênicos.

Cepas	Espécie/Concentração do extrato (%)*									
	<i>A. blanchetii</i>		<i>A. pyrifolium</i>		<i>J. mutabilis</i>		<i>C. heliotropiifolius</i>		<i>C. flexuosa</i>	
	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100
<i>F. oxyspoum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	32	512	64	128	64	256	64	512	-	-

- sem inibição ou ausência de atividade até 1024 µg/mL. * concentração necessária para inibir/matar 50% e 100% da cepa testada.

Tabela 3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de cera epicuticular contra cepas bacterianas.

Cepas	Espécie/Concentração do extrato (µg/mL)										Antibióticos	
	<i>A. blanchetii</i>		<i>A. pyrifolium</i>		<i>J. mutabilis</i>		<i>C. heliotropiifolius</i>		<i>C. flexuosa</i>		Gentamicina	Oxacilina
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CIM
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	1030	>1030	-	-	-	-	0,14	
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,56	
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,56	
<i>E. coli</i>	6180	6180	-	-	-	-	-	-	-	-	0,14	
<i>Serratia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,28	
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		0,14

- sem inibição ou ausência de atividade até a concentração testada.

ANEXOS

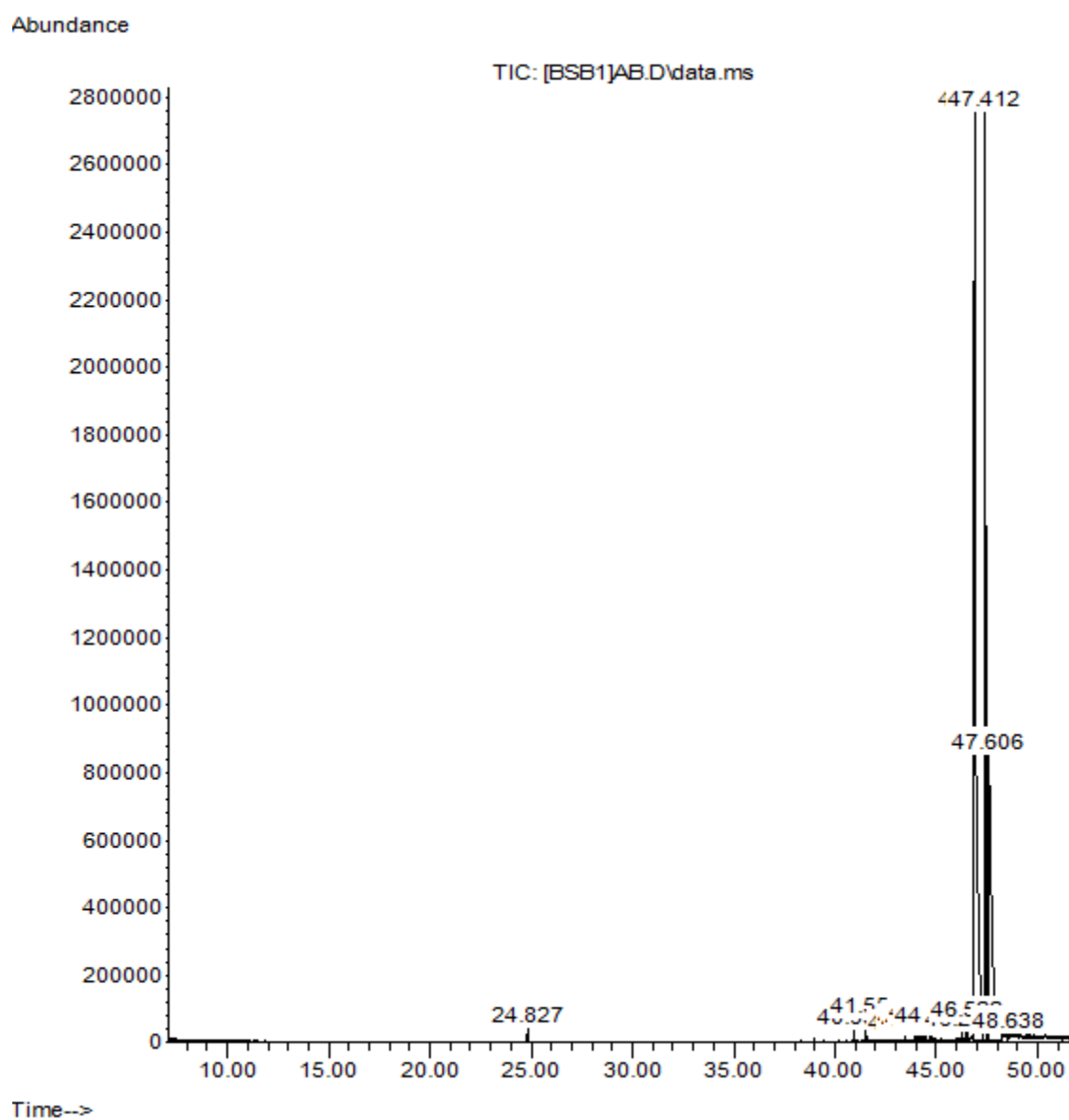


Figura 1. Cromatograma (GC/MS) da cera epicuticular foliar de *Allamanda blanchetii*.

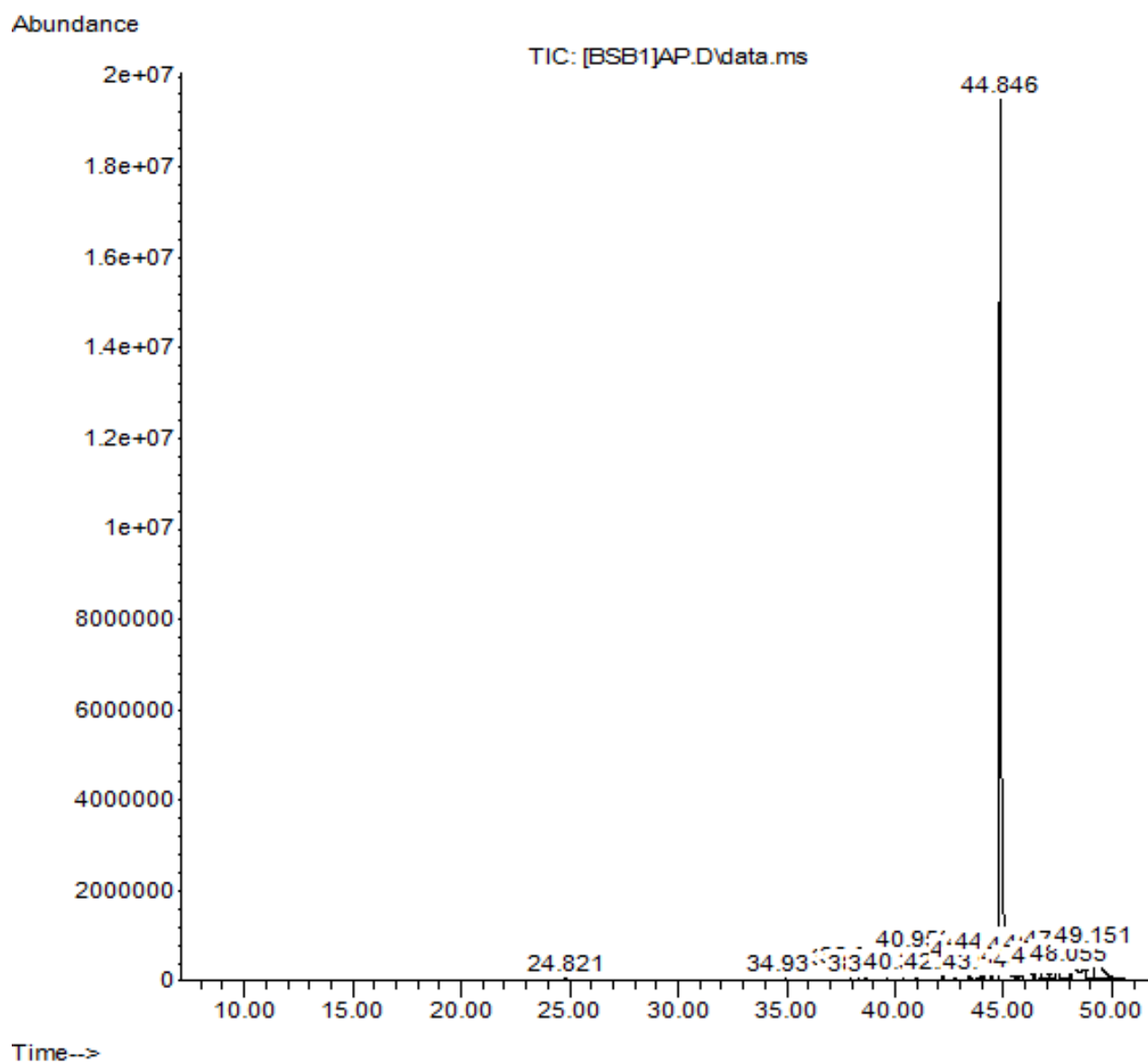


Figura 2. Cromatograma (GC/MS) da cera epicuticular foliar de *Aspidosperma pyrifolium*.

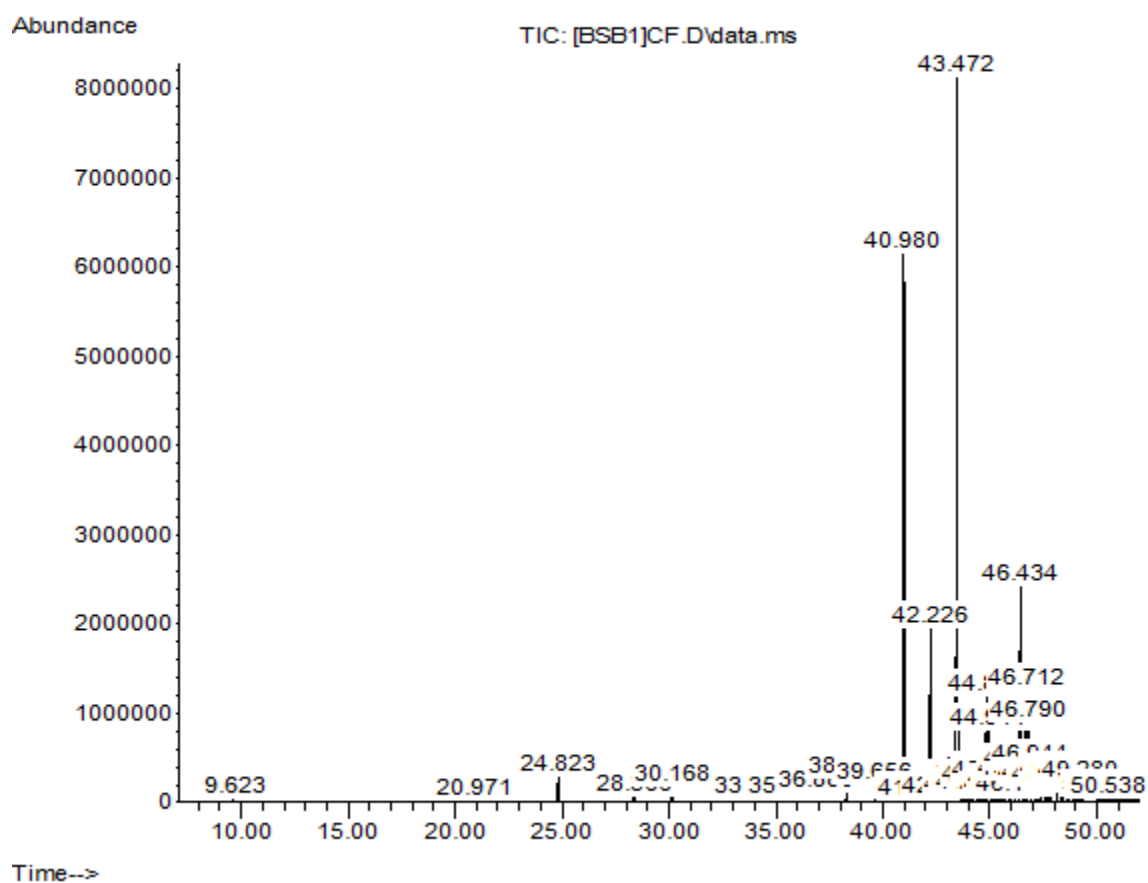


Figura 3. Cromatograma (GC/MS) da cera epicuticular foliar de *Cynophalla flexuosa*.

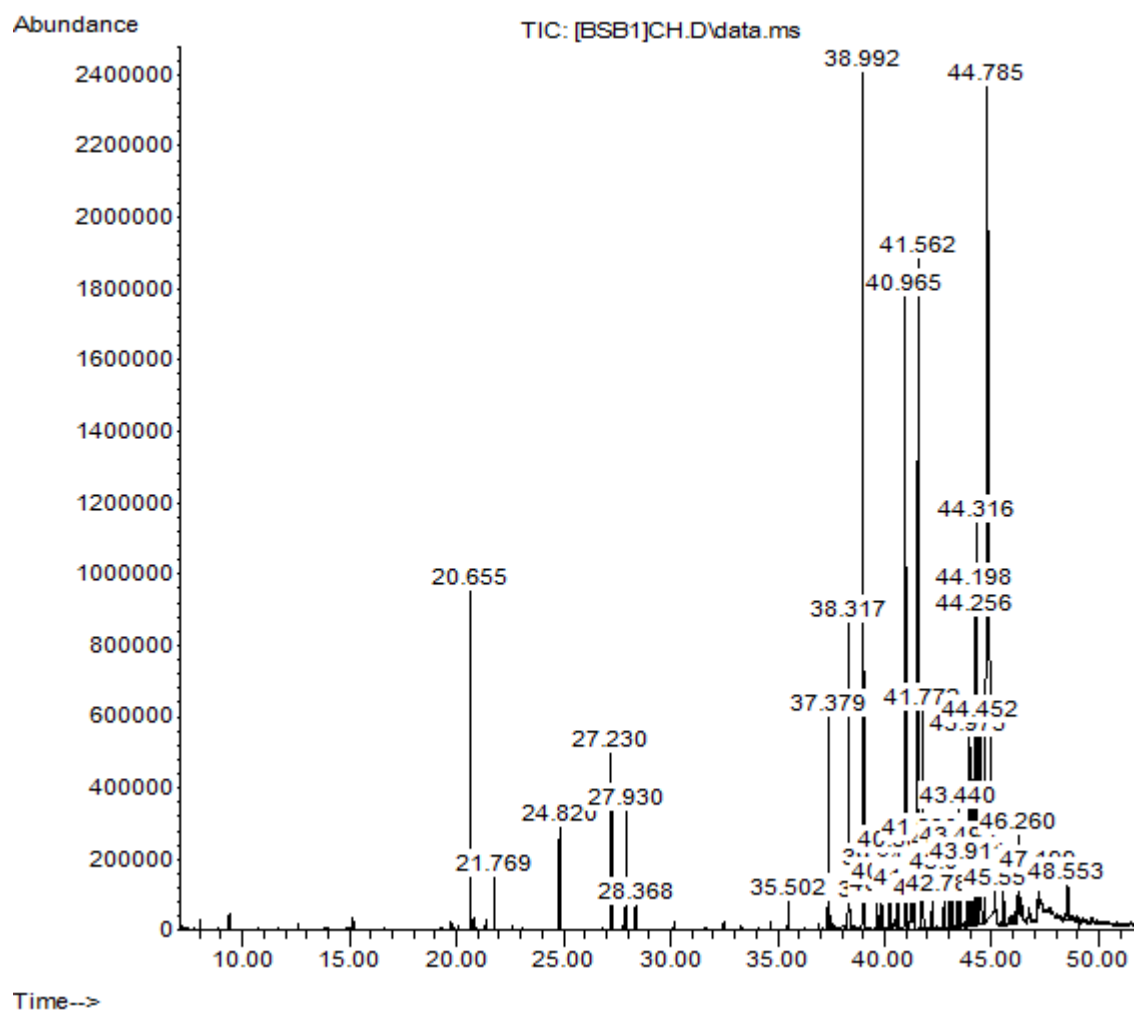


Figura 4. Cromatograma (GC/MS) da cera epicuticular foliar de *Croton heliotropiifolius*.

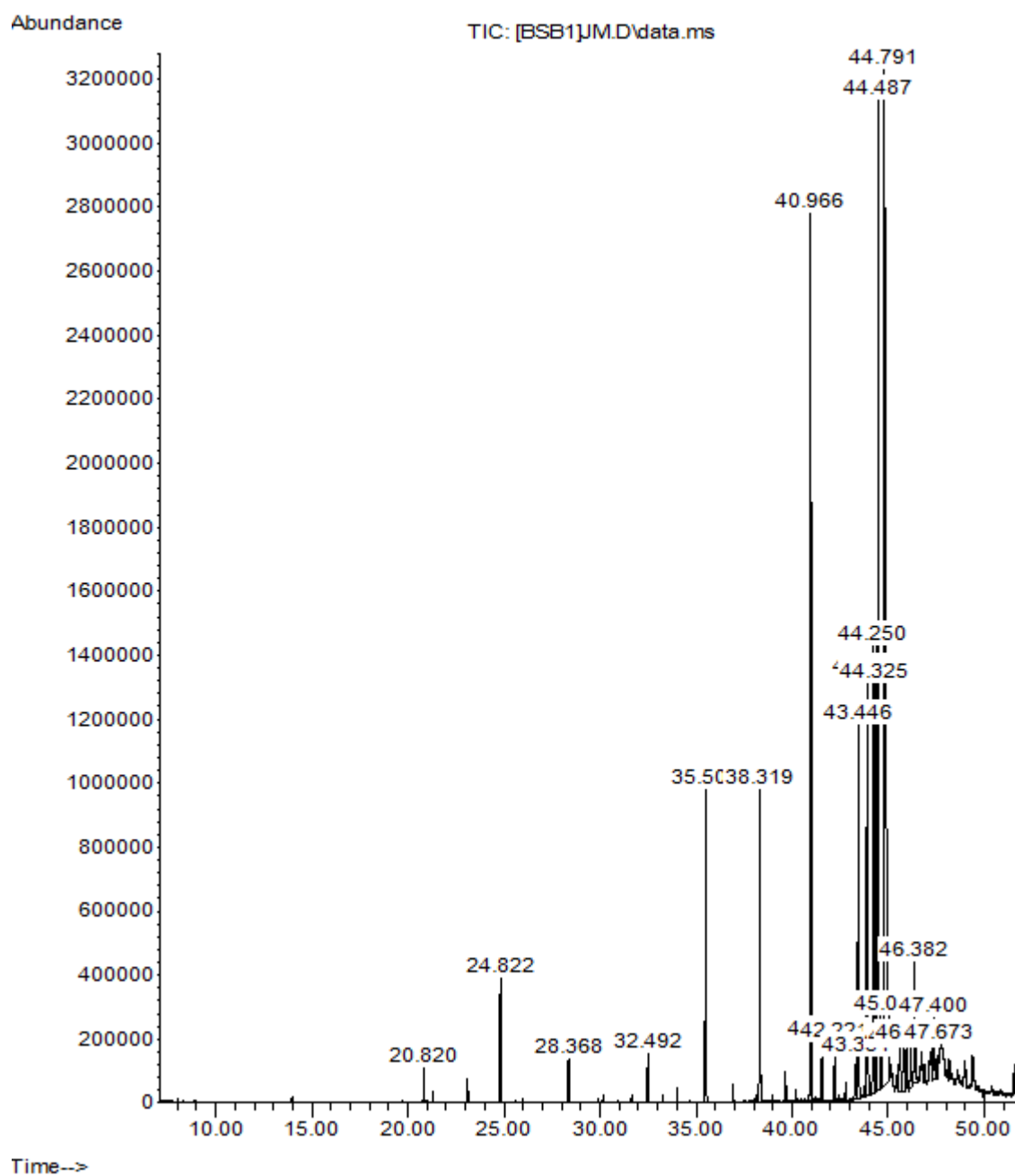


Figura 5. Cromatograma (GC/MS) da cera epicuticular foliar de *Jatropha mutabilis*.

NORMAS DO ANNALS OF APPLIED BIOLOGY

(<https://onlinelibrary.wiley.com/journal/17447348>)



Edited By: Ricardo Antunes Azevedo

Impact factor: 2.750

2020 Journal Citation Reports (Clarivate Analytics): 15/58 (Agriculture, Multidisciplinary)

Online ISSN:1744-7348

Aims and Scope

Annals of Applied Biology is an international journal sponsored by the Association of Applied Biologists. The journal publishes original research papers on all aspects of applied research on crop production, crop protection and the cropping ecosystem. The journal is published both online and in six printed issues per year.

Average time from submission to first decision is just 27 days!

Submission of manuscripts to Annals is exclusively via a web-based electronic submission and tracking system at:

<http://mc.manuscriptcentral.com/aab> enabling rapid submission to first decision times.

Before submitting a paper for publication in Annals of Applied Biology, potential authors should first read the Author Guidelines. Instructions as to how to upload your manuscript can be found on ScholarOne Manuscripts.

Annals papers must contribute substantially to the advancement of knowledge and may, among others, encompass the scientific disciplines of: Agronomy, Agrometeorology, Agrienviromental sciences Applied genomics, Applied metabolomics, Applied proteomics, Biodiversity, Biological control, Climate change Crop ecology, Entomology, Genetic

manipulation, Molecular biology, Mycology, Nematology, Pests, Plant pathology, Plant breeding & genetics, Plant physiology, Post harvest biology, Soil Science, Statistics Virology, Weed biology

Annals also welcomes reviews of interest in these subject areas. Reviews should be critical surveys of the field and offer new insights. All papers are subject to peer review. Papers must usually contribute substantially to the advancement of knowledge in applied biology but short papers discussing techniques or substantiated results, and reviews of current knowledge of interest to applied biologists will be considered for publication. Papers or reviews must not be offered to any other journal for prior or simultaneous publication and normally average seven printed pages.

Author benefits include:

Online manuscript submission and tracking

Fast, efficient refereeing of manuscripts

No page charges

Rapid publication

Abstracts of papers published on the AAB website prior to publication as a finished issue