

## RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,  
o texto completo desta dissertação  
será disponibilizado somente a partir  
de 01/01/2027.

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA  
CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

---

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E EFEITO SINÉRGICO DAS  
EMULSÕES FORMADAS POR RAMNOLIPÍDIOS E ÓLEOS ESSENCIAIS  
CONTRA *Xanthomonas citri* subsp. *citri***

**MARIA OLIMPIA PEREIRA SEREIA**

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA  
CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

---

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E EFEITO SINÉRGICO DAS  
EMULSÕES FORMADAS POR RAMNOLIPÍDIOS E ÓLEOS ESSENCIAIS  
CONTRA *Xanthomonas citri* subsp. *citri***

**MARIA OLIMPIA PEREIRA SEREIA**

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro,  
Universidade Estadual Paulista, como  
parte dos requisitos para obtenção do  
título de Mestre em Ciências Biológicas  
(Biologia Celular, Molecular e  
Microbiologia).

Orientador: Dra. Daiane Cristina Sass

**Rio Claro – SP  
2025**

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| S483a | <p>Sereia, Maria Olimpia Pereira</p> <p>Avaliação da atividade antibacteriana e do efeito sinérgico das emulsões formadas por ramnolipídios e óleos essenciais contra <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i> / Maria Olimpia Pereira Sereia. -- Rio Claro, 2025</p> <p>70 p. : tabs., fotos, mapas</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro</p> <p>Orientadora: Daiane Cristina Sass</p> <p>1. Cancro citríco. 2. <i>Xanthomonas citri</i>. 3. Compostos bioativos. 4. Óleos essenciais. 5. Biossurfactante. I. Título.</p> |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E EFEITO SINÉRGICO DAS EMULSÕES FORMADAS POR RAMNOLIPÍDIOS E ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

**AUTORA: MARIA OLIMPIA PEREIRA SEREIA**

**ORIENTADORA: DAIANE CRISTINA SASS**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 **DAIANE CRISTINA SASS**  
Data: 05/08/2025 14:51:37-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. DAIANE CRISTINA SASS (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP Instituto de Biociências de Rio Claro SP

Documento assinado digitalmente  
 **HELOIZA FERREIRA ALVES DO PRADO**  
Data: 05/08/2025 12:42:11-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. HELOIZA FERREIRA ALVES DO PRADO (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Documento assinado digitalmente  
 **GUILHERME DILARRI**  
Data: 05/08/2025 11:50:02-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. GUILHERME DILARRI (Participação Virtual)  
Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas / Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Rio Claro, 05 de agosto de 2025

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi viabilizada por múltiplas contribuições institucionais, científicas e pessoais, às quais registro meu reconhecimento.

Agradeço à minha família, alicerce essencial na minha formação. À minha mãe, Tatiane, por sua força e inspiração; à minha avó Terezinha, por seu amor incondicional, que fortalece minhas raízes; ao meu pai, Jefferson, à minha madrastra, Mônica, e à minha irmã, Alice, pela presença ao longo desta trajetória. Ao meu avô Manoel (*in memoriam*), rendo homenagem por sua memória inspiradora.

Ao meu companheiro, Anderson, e aos amigos Felipe e Laís, agradeço a parceria, incentivo e apoio contínuo durante este percurso.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Daiane, minha orientadora, agradeço pela orientação, pelo apoio técnico-científico e pela confiança depositada ao longo de todas as etapas desta pesquisa.

Ao Laboratório de Química e Biotecnologia Microbiana (LaQBiM), agradeço aos companheiros Eduarda, Sara, Angelo, Ana e Juliano pela colaboração durante a condução dos experimentos. Em especial, ao Vitor, pela valiosa contribuição na troca de conhecimentos teórico e técnico.

Ao Laboratório de Genética de Microrganismos, coordenado pelo Prof. Dr. Henrique, agradeço pela cessão da cepa *X. citri*, bem como pelo suporte técnico e pelas contribuições oferecidas.

Ao grupo de pesquisa liderado pelo Prof. Dr. Jonas, agradeço o fornecimento do ramnolipídio e pelas orientações técnico-científicas que auxiliaram no delineamento metodológico deste estudo.

Aos técnicos do Departamento de Biologia Geral e Aplicada, registro agradecimentos pela assistência laboratorial e suporte técnico.

À Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo nº 404366/2023-6), agradeço o apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2023/13083-3. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

*“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é hora de compreender mais, para temer menos.” – Marie Curie.*

## RESUMO

A *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*), agente etiológico do cancro cítrico, configura-se como praga quarentenária de elevada importância econômica para a citricultura mundial. O manejo convencional, baseado no uso de compostos cúpricos, tem gerado preocupações quanto aos impactos ambientais e à saúde humana. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver emulsões bioativas sustentáveis a partir da associação de óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus*), palmarosa (*Cymbopogon martinii*), manjerição (*Ocimum basilicum*), gerânio (*Pelargonium graveolens*) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) com ramnolipídios. As substâncias testadas apresentaram atividade antibacteriana frente a *X. citri*, com destaque para os efeitos sinérgicos nas associações de citronela e manjerição com ramnolipídios. As emulsões sinérgicas demonstraram capacidade de promover a desestabilização da membrana celular, inibir a formação de biofilme e reduzir rapidamente a população bacteriana, além de apresentar efeito sanitizante em frutos. Além disso, demonstraram características físico-químicas favoráveis, como elevada estabilidade coloidal, homogeneidade e tamanho de partícula na faixa nanométrica, atributos que potencializam a eficácia na aplicação agrícola. Esses resultados indicam que as emulsões desenvolvidas representam uma estratégia promissora, sustentável e eficaz para o controle do cancro cítrico, contribuindo para a redução da dependência de defensivos químicos convencionais.

**Palavras-chave:** sinergismo; biocontrole; fitopatologia.

## ABSTRACT

*Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*), the etiological agent of citrus canker, is classified as a quarantine pest of significant economic importance to global citrus production. Conventional management, based on the use of copper-based compounds, has raised concerns regarding environmental impacts and human health. In this context, the present study aimed to develop sustainable bioactive formulations by combining essential oils of citronella (*Cymbopogon nardus*), palmarosa (*Cymbopogon martinii*), basil (*Ocimum basilicum*), geranium (*Pelargonium graveolens*), and clove (*Syzygium aromaticum*) with rhamnolipids. The tested substances exhibited antibacterial activity against *X. citri*, with notable synergistic effects observed in the combinations of citronella and basil with rhamnolipids. These synergistic formulations demonstrated the ability to destabilize the bacterial cell membrane, inhibit biofilm formation, and rapidly reduce the bacterial population, in addition to showing sanitizing potential on fruits. Furthermore, they exhibited favorable physicochemical characteristics, such as high colloidal stability, particle homogeneity, and nanometric particle size, attributes that enhance their effectiveness for agricultural applications. These results indicate that the developed formulations represent a promising, sustainable, and effective strategy for the control of citrus canker, contributing to the reduction of dependence on conventional chemical pesticides.

**Keywords:** synergism; biocontrol; phytopathology.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Sintomas do cancro cítrico                                                                                                                                                                                                                                            | 15 |
| Figura 2 – Distribuição geográfica da ocorrência de <i>X. citri</i> no Brasil                                                                                                                                                                                                    | 16 |
| Figura 3 – O minador dos citros                                                                                                                                                                                                                                                  | 18 |
| Figura 4 – Estrutura do mono-ramnolípido e di-ramnolípido                                                                                                                                                                                                                        | 21 |
| Figura 5 – Placa de 96 poços, metodologia do ensaio de <i>Checkerboard</i>                                                                                                                                                                                                       | 27 |
| Figura 6 – Limas ácidas ‘Tahiti’ ( <i>Citrus × latifolia</i> ) utilizadas no ensaio de sanitização                                                                                                                                                                               | 33 |
| Figura 7 – Aplicação dos tratamentos nas limas ácidas ‘Tahiti’                                                                                                                                                                                                                   | 34 |
| Figura 8 – Diâmetro hidrodinâmico médio das emulsões de óleo essencial de citronela e manjerição com ramnolípidios, determinado por DLS                                                                                                                                          | 44 |
| Figura 9 – Índice de polidispersidade (PDI) das emulsões formuladas com óleo essencial de citronela e manjerição em combinação com ramnolípidios                                                                                                                                 | 45 |
| Figura 10 – Valores de potencial zeta das emulsões com óleo essencial de citronela e manjerição associadas a ramnolípidios                                                                                                                                                       | 46 |
| Figura 11 – Porcentagem de células de <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i> permeabilizadas após 15 e 30 minutos de contato com o óleo essencial de citronela e ramnolípido                                                                                               | 47 |
| Figura 12 – Micrografias de fluorescência obtidas durante ensaio de Live & Dead com células de <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i> após 15 e 30 minutos de contato com a combinação sinérgica 0,075% (v/v) de óleo essencial de citronela e 0,002% (v/v) de ramnolípido | 48 |
| Figura 13 – Porcentagem de células de <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i> permeabilizadas após 15 e 30 minutos de contato com o óleo essencial de manjerição e ramnolípido                                                                                              | 49 |
| Figura 14 – Micrografias de fluorescência obtidas durante ensaio de Live & Dead com células de <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i> após 15 e 30 minutos de contato com a combinação sinérgica 0,25% (v/v) de óleo essencial de manjerição e 0,002% (v/v) de ramnolípido | 50 |
| Figura 15 – Índice de formação de biofilme pela bactéria <i>X. citri</i> na presença da combinação sinérgica do óleo essencial de citronela e ramnolípido                                                                                                                        | 52 |

|                                                                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 16 – Índice de formação de biofilme pela bactéria <i>X. citri</i> na presença da combinação sinérgica do óleo essencial de manjerição e ramnolipídio                                                                  | 53 |
| Figura 17 – Cinética de tempo de morte da bactéria <i>X. citri</i> na presença da combinação sinérgica de óleo essencial de citronela e ramnolipídio                                                                         | 55 |
| Figura 18 – Folhas de <i>Citrus sinensis</i> apresentando sintomas de cancro cítrico causados pela bactéria <i>X. citri</i> subsp. <i>citri</i> após 40 dias da aplicação dos tratamentos do OEs de citronela e ramnolipídio | 56 |
| Figura 19 – Avaliação da capacidade sanitizante da combinação sinérgica em limas ácidas                                                                                                                                      | 57 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Valores de ICIF correspondentes às diferentes interações                                                                                                            | 25 |
| Tabela 2 – Óleos essenciais utilizados no projeto                                                                                                                              | 28 |
| Tabela 3 – Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o óleo de citronela                                                                                    | 36 |
| Tabela 4 – Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o óleo de palmarosa                                                                                    | 36 |
| Tabela 5 – Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o óleo de gerânio                                                                                      | 37 |
| Tabela 6 – Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o óleo de cravo                                                                                        | 38 |
| Tabela 7 – Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o óleo de manjerição                                                                                   | 38 |
| Tabela 8 – Concentrações inibitórias do crescimento de 90% (IC 90) e bactericidas mínimas (CBM) para as substâncias bioativas isoladamente frente a <i>X. citri</i> em % (v/v) | 40 |
| Tabela 9 – Índice de Concentração Inibitória Fracionada (FICI) da combinação entre óleos essenciais e ramnolipídio contra <i>X. citri</i> subsp. <i>citri</i> , em % (v/v).    | 42 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|             |                                                                |
|-------------|----------------------------------------------------------------|
| OEs         | Óleos Essenciais                                               |
| FDA         | <i>Food and Drug Administration</i>                            |
| NYG         | <i>Nutrient Yeast Glycerol</i>                                 |
| DO          | Densidade Óptica                                               |
| REMA        | <i>Resazurin Microtiter Assay Plate</i>                        |
| IC 90       | Concentração Inibitória para 90% do crescimento                |
| CN          | Crescimento bacteriano                                         |
| ICIF        | Índice de Concentração Inibitória Fracionada                   |
| CIF         | Concentrações Inibitória Fracionada                            |
| DAPI        | Dicloridrato de 4',6-diamidino-2-fenilindol                    |
| CV          | Cristal Violeta                                                |
| CP          | Controle Positivo                                              |
| MRSA        | <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina           |
| RHL         | Ramnolipídio                                                   |
| EPS         | Substâncias Poliméricas Extracurriculares                      |
| ANVISA      | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                       |
| CABI        | <i>Centre for Agriculture and Bioscience International</i>     |
| CBM         | Concentração Bactericida Mínima                                |
| CG-MS       | Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas       |
| DLS         | <i>Dynamic Light Scattering</i> (Espalhamento Dinâmico de Luz) |
| Fundecitrus | Fundo de Defesa da Citricultura                                |
| IBGE        | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística                |
| MAPA        | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento            |
| SAA         | Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SP)                 |
| GRAS        | <i>Generally Recognized as Safe</i> (Reconhecido como Seguro)  |
| NIST        | <i>National Institute of Standards and Technology</i>          |
| CDA/SP      | Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo    |

|                                      |                                                            |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| CABI                                 | <i>Centre for Agriculture and Bioscience International</i> |
| PDI                                  | Índice de Polidispersidade                                 |
| PBS                                  | <i>Phosphate-Buffered Saline</i>                           |
| SMR                                  | Sistema de Mitigação de Risco                              |
| UFC                                  | Unidade Formadora de Colônia                               |
| ClO <sub>2</sub>                     | Dióxido de Cloro                                           |
| Cu <sub>2</sub> (OH) <sub>3</sub> Cl | Oxicloreto de Cobre                                        |
| IP                                   | Iodeto de Propídio                                         |
| DP                                   | Desvio Padrão                                              |
| ANOVA                                | Análise de Variância                                       |
| v/v                                  | Volume por Volume                                          |
| µg/mL                                | Microgramas por Mililitro                                  |
| µm                                   | Micrômetro                                                 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                                                                    | 13 |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>                                                                         | 14 |
| 2.1 A CITRICULTURA BRASILEIRA E SUA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA                                               | 14 |
| 2.2 O AGENTE CAUSAL: <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>                                       | 14 |
| 2.3 ETIOLOGIA, SINTOMAS E EPIDEMIOLOGIA                                                                 | 15 |
| 2.4 ESTRATÉGIAS DE CONTROLE                                                                             | 17 |
| 2.5 LIMITAÇÕES E RISCOS DO CONTROLE CONVENCIONAL COM COMPOSTOS CÚPRICOS                                 | 18 |
| 2.6 ÓLEOS ESSENCIAIS                                                                                    | 19 |
| 2.7 RAMNOLIPÍDIOS                                                                                       | 21 |
| <b>3. OBJETIVO</b>                                                                                      | 24 |
| 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS                                                                               | 24 |
| <b>4. METODOLOGIA</b>                                                                                   | 25 |
| 4.1 CEPAS BACTERIANAS E CONDIÇÕES DE CULTURA                                                            | 25 |
| 4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS E RAMNOLIPÍDIO                                                                     | 25 |
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR GC-MS                                                       | 25 |
| 4.4 INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO BACTERIANO                                                                  | 26 |
| 4.5 SINERGISMO                                                                                          | 27 |
| 4.6 PREPARO DAS EMULSÕES                                                                                | 28 |
| 4.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ZETA, DLS E PDI DAS EMULSÕES SINÉRGICAS                                      | 29 |
| 4.8 PERMEABILIZAÇÃO DA MEMBRANA CELULAR                                                                 | 29 |
| 4.9 EFEITO DAS COMBINAÇÕES BIOATIVAS NA PRODUÇÃO DE BIOFILME POR <i>Xanthomonas citri</i>               | 30 |
| 4.10 ENSAIO DE TIME KILL                                                                                | 31 |
| 4.11 AVALIAÇÃO DA COMBINAÇÃO SINÉRGICA EM REDUZIR A FORMAÇÃO DE LESÕES DO CANCRO CÍTRICO <i>in vivo</i> | 32 |
| 4.12 SANITIZAÇÃO EM FRUTOS                                                                              | 33 |
| <b>5. RESULTADO E DISCUSSÃO</b>                                                                         | 36 |
| 5.1 GC-MS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS                                                                          | 36 |
| 5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CONTRA <i>Xanthomonas</i> ( <i>in vitro</i> )                                | 40 |
| 5.3 SINERGISMO                                                                                          | 42 |
| 5.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ZETA, DLS E PDI DAS EMULSÕES SINÉRGICAS                                      | 44 |
| 5.5 AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO ANTIBACTERIANA                                                       | 47 |
| 5.5.1 Permeabilização da membrana celular                                                               | 47 |
| 5.5.2 Efeito das combinações bioativas na produção de biofilme por <i>Xanthomonas</i>                   | 52 |
| 5.6 ENSAIO DE TIME KILL                                                                                 | 55 |
| 5.7 AVALIAÇÃO DA COMBINAÇÃO SINÉRGICA EM REDUZIR A FORMAÇÃO DE LESÕES DO CANCRO CÍTRICO <i>in vivo</i>  | 56 |
| 5.8 SANITIZAÇÃO EM FRUTOS                                                                               | 57 |
| <b>6. CONCLUSÃO</b>                                                                                     | 60 |
| <b>7. REREFÊNCIAS</b>                                                                                   | 61 |

## 1. INTRODUÇÃO

A citricultura representa uma das atividades agrícolas de maior relevância econômica mundial, sendo o Brasil um dos líderes globais na produção e exportação de frutas cítricas e seus derivados (Fundecitrus, 2024). No entanto, a sustentabilidade e a produtividade desse setor são frequentemente ameaçadas por fitopatógenos, entre os quais se destaca *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*X. citri*), agente etiológico do cancro cítrico. Esta doença causa lesões características em folhas, frutos e ramos, resultando em queda prematura dos frutos, redução da qualidade e restrições comerciais, especialmente em mercados internacionais (FERENCE et al., 2018; NAQVI et al., 2022).

O controle convencional do cancro cítrico baseia-se majoritariamente no uso de compostos cúpricos, que embora sejam eficientes em determinados contextos, apresentam limitações como fitotoxicidade, desenvolvimento de resistência bacteriana e acúmulo de metais pesados no ambiente (BEHLAU et al., 2011; LAI et al., 2021). Frente às crescentes exigências por práticas agrícolas sustentáveis, torna-se urgente a busca por alternativas mais seguras e ambientalmente compatíveis.

Nesse cenário, os óleos essenciais (OEs) emergem como potenciais agentes antimicrobianos, sendo reconhecidos por sua ampla atividade biológica e baixa toxicidade ambiental (ISMAN et al., 2011; FALLEH et al., 2020). Entretanto, sua aplicação é desafiada pela baixa solubilidade em água e pela volatilidade. A utilização de biossurfactantes como os ramnolipídios surge como uma estratégia promissora, permitindo a formação de emulsões estáveis que potencializam a atividade dos OEs (HABA et al., 2014; SALAZAR-BRYAM et al., 2021).

Diante disso, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e o efeito sinérgico das emulsões formadas por ramnolipídios e óleos essenciais frente à *X. citri*, buscando alternativas sustentáveis e eficientes para o controle do cancro cítrico.

## 6. CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou o potencial dos óleos essenciais e dos ramnolipídios como alternativas sustentáveis para o controle de *X. citri*. Os óleos de citronela, palmarosa, gerânio, manjerição e cravo demonstraram atividade antibacteriana, enquanto os ramnolipídios também se mostraram eficazes. Observou-se efeito sinérgico nas combinações dos óleos de citronela e manjerição com ramnolipídios, resultando em maior eficácia no controle da bactéria, principalmente pela inibição da formação de biofilme e pela desestabilização da membrana celular.

No teste de cinética de morte bacteriana, a combinação de citronela com ramnolipídios foi altamente eficiente, promovendo a eliminação total da população de *X. citri* em curto período. Além disso, essa formulação demonstrou potencial prático como agente sanitizante em frutos, reforçando sua aplicabilidade no manejo fitossanitário.

As emulsões desenvolvidas apresentaram características físico-químicas adequadas, com tamanhos de partículas na faixa nanométrica, elevada estabilidade coloidal e boa homogeneidade, especialmente na combinação com citronela. Essas propriedades favorecem uma melhor aderência às superfícies foliares, maior penetração e eficiência na liberação dos compostos ativos. A formulação contendo citronela destacou-se por sua maior uniformidade e estabilidade, enquanto a de manjerição, embora com distribuição de partículas mais heterogênea, também demonstrou estabilidade satisfatória para aplicações agrícolas.

Dessa forma, os resultados obtidos reforçam a viabilidade da utilização de emulsões baseadas em óleos essenciais e ramnolipídios como uma estratégia inovadora e sustentável para o controle de doenças bacterianas na citricultura, contribuindo para a redução do uso de defensivos convencionais e seus impactos ambientais.

## 7. REFERÊNCIAS

- Abdel-Mawgoud, A. M.; Lepine, F.; Deziel, E. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 86, p. 1323-1336, 2011.
- Abdullah Alyousif, N.; Al-Tamimi, W. H.; Al-Luaibi, Y. Y. Y. Antimicrobial and antioxidant activity of rhamnolipids biosurfactant is produced by *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Bionatura**, v. 8, n. 4, p. 25, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.04.25>. Acesso em: 20 jan. 2025.
- Araújo Silva, V. et al. *Ocimum basilicum*: antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. **Pharmaceutical biology**, v. 54, n. 5, p. 863–867, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1088551>. Acesso em: 20 jan. 2025.
- Areas, M. S. et al. Resistance of *Xanthomonas euvesicatoria* strains from Brazilian pepper to copper and zinc sulfates. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 2375-2380, 2018.
- Attar, A. Antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Artemisia dracunculus* essential oil: estragole as the major bioactive compound. **Phyton**, v. 0, n. 0, p. 1–10, 2025.
- Bakkali, F. et al. Biological effects of essential oils – a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- Battagin, T. S. et al. *Syzygium aromaticum* (clove) essential oil: An alternative for the sanitization of citrus fruit in packinghouses. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 9, 16 jul. 2021.
- Behlau, F. Cancro cítrico: medidas essenciais de controle, 4th ed. Fundecitrus, Araraquara. 2019. Available at: [https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/manual\\_detalhes/manual-de-cancro-citrico/79](https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/manual_detalhes/manual-de-cancro-citrico/79). Accessed on August 21, 2025.
- Behlau, F. et al. Effect of frequency of copper applications on control of citrus canker and the yield of young bearing sweet orange trees. **Crop protection**, v. 29, p. 300-305, 2010.
- Behlau, F. et al. Molecular characterization of copper resistance genes from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas alfalfae* subsp. *citrumelonis*. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, p. 4089-4096, 2011.
- Behlau, F.; Fonseca, E. A.; Belasque Jr, J. A comprehensive analysis of the Asiatic citrus canker eradication programme in São Paulo state, Brazil, from 1999 to 2009. **Plant Pathology**, v. 65, p. 1390–1399, 2016.
- Behlau, F. An overview of citrus canker in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, p. 1–12, 2021. Publicado online em 24 de junho de 2020.
- Behlau, F. et al. Chlorine dioxide, peroxyacetic acid, and calcium oxychloride for post-harvest decontamination of citrus fruit against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, causal agent of citrus canker. **Crop protection**, v. 146, p. 105679, 2021.

Belasque Jr, J.; Barbosa, J. C.; Bergamin Filho, A.; Massari, C. A. Prováveis consequências do abrandamento da metodologia de erradicação do cancro cítrico no estado de São Paulo. *Tropical Plant Pathology*, v. 35, p. 314–317, 2010.

Bellio, P. et al. New and simplified method for drug combination studies by checkerboard assay. *Clinical microbiology procedures handbook*, 3. ed. **American Society of Microbiology**, p. 140–162, 2021.

Bharali, P. et al. Rhamnolipid (RL) from *Pseudomonas aeruginosa* OBP1: a novel chemotaxis and antibacterial agent. **Colloids and surfaces B: biointerfaces**, v. 103, p. 502-509, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.10.064>. Acesso em: 20 jan. 2025.

Bilia, A. R. et al. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2014, p. 1-18, 2014.

Brar, S. K.; Verma, M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *TrAC trends in analytical chemistry*, v. 30, n. 1, p. 4–17, 2010.

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

Canteros, B. I. Copper resistance in *Xanthomonas campestris* pv. citri. In: Mahadevan, A. (Ed.). **Plant pathogenic bacteria**. Proceedings of the International Society of Bacteriology, Centre for Advanced Study in Botany. Chennai, India: University of Madras, p. 455-459, 1999.

Carneiro de Barros, J. et al. Interference of *Origanum vulgare* L. essential oil on the growth and some physiological characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *LWT - Food Science and Technology*, v. 42, p. 1139–1143, 2009.

Cerri, A. C.; Esmerino, L. A. Atividade antimicrobiana e efeito antibiofilme de óleos essenciais: um estudo comparativo. **Brazilian journal of development**, v. 8, n. 11, p. 73850–73863, 2022.

Chillappagari, S. et al. Copper stress affects iron homeostasis by destabilizing iron-sulfur cluster formation in *Bacillus subtilis*. **Journal of bacteriology**, v. 192, p. 2512-2524, 2010.

Côté, I. M.; Darling, E. S.; Brown, C. J. Interactions among ecosystem stressors and their importance in conservation. *Proceedings of the royal society B*, v. 283, p. 20152592, 2016.

Cox, S. D. et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of applied microbiology**, v. 88, n. 1, p. 170-175, 2000.

Crouzet, J. et al. Biosurfactants in plant protection against diseases: rhamnolipids and lipopeptides case study. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 8, p. 1014, 2020.

Cruz Silva, L. et al. Essential oils as promising antibacterial agents against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, causative agent of citrus canker. **Microbial pathogenesis**, v. 164, p. 105323, 2022.

Cunha, B. et al. Citotoxicidade e efeitos antimicrobianos do óleo de citronela (*Cymbopogon nardus*) e enxaguatórios bucais comerciais em biofilmes de *S. aureus* e *C. albicans* em materiais protéticos. *Archives of oral biology*, v. 109, p. 104577, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104577>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Donsì, F.; Ferrari, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of biotechnology**, v. 243, p. 1-15, 2016.

Donsì, F. et al. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **LWT - Food science and technology**, v. 44, n. 9, p. 1908-1914, 2011.

Dusane, D. H.; Dam, S.; et al. Disruption of *Yarrowia lipolytica* biofilms by rhamnolipid biosurfactant, v. 8, n. 1, p. 17, 2012. **BioMed Central**. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1186%2F2046-9063-8-17.pdf>>.

Fajdek-bieda, A. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of geraniol and selected geraniol transformation products against gram-positive bacteria. **Molecules**, v. 29, n. 5, p. 950, 2024.

Falleh, H. et al. Essential oils and their potential applications in food industry. **Foods**, v. 9, n. 8, p. 1-24, 2020.

Ferrarezi, J. H. et al. Bisdechlorogeodin from antarctic *Pseudogymnoascus* sp. LAMAI for citrus canker control. **Journal of applied microbiology**, v. 135, n. 4, p. 93, 2024.

Ference, C. M. et al. Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. **Molecular plant pathology**, v. 19, p. 1302-1318, 2018.

Fisher, K.; Phillips, C. The mechanism of action of a citrus oil blend against *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. **Journal of applied microbiology**, v. 106, n. 4, p. 1343-1349, 2009.

Firdose, A., Maeda, T., Sukri, A., Mohd Yasin, N. H., Sabturani, N., & Aqma, W. S. (2024). Antibacterial mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* UKMP14T rhamnolipids against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Microbial Pathogenesis**, 193, 106743. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106743>

Fundo De Defesa Da Citricultura. Disponível em: <[www.fundecitrus.com.br](http://www.fundecitrus.com.br)>. Acesso em: 21 agosto 2025.

Gaysinsky, S. et al. Formulation and characterization of antimicrobial peptide-loaded liposomes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 7, p. 2638-2652, 2008.

Gayathiri, E. et al. Biosurfactants: potential and eco-friendly material for sustainable agriculture and environmental safety. A review. **Agronomy**, v. 12, n. 5, p. 662, 2022.

Gharaei-Fathabad, E. et al. Recent advances on biosurfactants and their applications in nanotechnology and drug delivery. **Biotechnology and applied biochemistry**, v. 67, n. 6, p. 932-945, 2020.

Guillín, Y. et al. Effect of essential oils on the inhibition of biofilm and *quorum sensing* in *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. **Antibiotics**, v. 10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10101191>. Acesso em: 15 jan. 2025.

Haba, E. et al. Rhamnolipids as emulsifying agents for essential oil formulations: antimicrobial effect against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International**

**journal of pharmaceutics**, v. 476, n. 1-2, p. 134-141, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.09.039>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Haba, E. et al. Emulsions based on rhamnolipids and essential oils: synergistic effects against microbial pathogens. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 9, p. 4095-4105, 2014.

Hollander, A.; Yaron, S. Pore-forming treatments induce aggregation of *Salmonella* Senftenberg through protein leakage. **Food microbiology**, v. 96, p. 103721, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103721>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Honary, S.; Zahir, F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - A review. **Tropical journal of pharmaceutical research**, v. 12, n. 2, p. 255-264, 2013.

Huang, Y. et al. Efficient production of rhamnolipids by engineered *Pseudomonas putida* using waste cooking oil and glycerol. **Bioresource technology**, v. 362, p. 127784, 2022.

Hyldgaard, M. et al. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 12, 2012.

Isman, M. B. et al. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual review of entomology**, v. 56, p. 45-66, 2011.

Jacquet, F. et al. Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research. **Agronomy for sustainable development**, v. 42, p. 8, 2022.

Jalal, M. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils: a review. **Journal of medicinal plants research**, v. 9, n. 3, p. 53-67, 2015.

Jalal, Z. et al. Phytochemistry of the essential oil of *Melissa officinalis* L. growing wild in Morocco: Preventive approach against nosocomial infections. **Asian pacific journal of tropical biomedicine**, v. 6, p. 458-461, 2015.

Kah, M.; Hofmann, T. Nanopesticide research: Current trends and future priorities. **Environment international**, v. 63, p. 224-235, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.11.015>

Kazeminezhad, I.; Mosivand, S. Elimination of copper and nickel from wastewater by electrooxidation method. **Journal of magnetism and magnetic materials**, v. 422, p. 84-89, 2017.

Kim, J. Y. et al. Synergistic bactericidal effects of carvone and  $\beta$ -lactams against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Applied biological chemistry**, v. 66, n. 44, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13765-023-00803-4>. Acesso em: 27 maio 2025.

Kollanoor johny, A. K. et al. Effect of subinhibitory concentrations of plant-derived molecules in increasing the sensitivity of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 to antibiotics. **Foodborne pathogens and disease**, v. 7, p. 1165-1170, 2010.

Lai, Y. R. et al. Distribution of copper resistance gene variants of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*. **Plant protection science**, v. 57, p. 206-216, 2021.

Lang, S.; Wagner, F. Structure and properties of biosurfactants. In: Kosaric, N.; Cairns, W. L.; Gray, N. C. C. (Ed.). **Biosurfactants and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1987.

Langeveld, W. T. et al. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical reviews in microbiology**, v. 40, p. 76-94, 2014.

Langeveld, W. T. et al. Synergistic antimicrobial activity of essential oil components against gram-positive and gram-negative bacteria. **Phytomedicine**, v. 21, n. 10, p. 1172-1179, 2014.

Li, C. et al. The interference mechanism of basil essential oil on the cell membrane barrier and respiratory metabolism of *Listeria monocytogenes*. **Frontiers in microbiology**, v. 13, 2022. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.855905>

Lin, S. et al. Rhamnolipid micelles assist azithromycin in efficiently *disrupting Staphylococcus aureus* biofilms and impeding their re-formation. **International journal of nanomedicine**, v. 18, p. 7403–7415, 2023.

Liaqat, I. et al. Type 2 *quorum sensing* monitoring, inhibition and biofilm formation in marine microorganisms. **Current microbiology**, v. 68, p. 342-351, 2014.

Lorenzoni, A. S. G. et al. *Xanthomonas citri* MinC oscillates from pole to pole to ensure proper cell division and shape. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1352, 2017.

Lovaglio, R. B. et al. Rhamnolipid emulsifying activity and emulsion stability: pH rules. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, v. 85, p. 301-305, 2011.

Macomber, L.; Imlay, J. A. The iron-sulfur clusters of dehydratases are primary intracellular targets of copper toxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, p. 8344-8349, 2009.

Maeda, H. et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. **Journal of controlled release**, v. 65, n. 1-2, p. 271–284, 2000.

Malamud, F. et al. The *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* flagellum is required for mature biofilm and canker development. **Microbiology**, v. 157, n. 3, p. 819-829, 2011.

Marchant, R.; Banat, I. M. Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants? **Biotechnology letters**, v. 44, p. 659–672, 2022.

Marchese, A.; Barbieri, R.; Coppo, E.; Orhan, I.E., Daglia, M.; Nabavi, S.F.; Nabavi, S.M. Antimicrobial Activity of Eugenol and Essential Oils Containing Eugenol: A Mechanistic Viewpoint. *Crit. Rev. Microbiol.* 2017, 43, 668–689

Marin, V. R. et al. Antibacterial activity of *Cymbopogon* species essential oils against *Xanthomonas citri* and their use in post-harvest treatment for citrus canker management. **Letters in applied microbiology**, v. 77, n. 5, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/lambio/ovae041>. Acesso em: 3 dez. 2024.

Marin, V. R. et al. Essential oils as alternatives in the control of phytopathogens: A systematic review of the last five years. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 27, n. 4, p. 903–937, 3 jul. 2024.

Martinez, J. G. et al. Copper effects on soil nematodes and their possible impact on leaf litter decomposition: A microcosm approach. **European journal of soil biology**, v. 73, p. 1-7, 2016.

Marwa, C. et al. African peppermint (*Mentha piperita*) from Morocco: Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil. **Journal of advanced pharmaceutical technology and research**, v. 8, p. 86-90, 2017.

Marwa, K. et al. Therapeutic potential of essential oils in food and health applications. **Journal of food science and technology**, v. 56, n. 3, p. 1234-1243, 2019.

Miao, Q. et al. Microbial metabolomics and network analysis reveal fungistatic effect of basil (*Ocimum basilicum*) oil on *Candida albicans*. **Journal of ethnopharmacology**, p. 113002, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113002>

Mirzaei-najafgholi, H. et al. The effect of citrus essential oils and their constituents on growth of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 591, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules22040591>. Acesso em: 05 jan. 2025.

Mousavi, S. M. et al. Recent advances in biomedical applications of microbial biosurfactants: antimicrobial, antibiofilm, and wound healing activities. **Biotechnology advances**, v. 63, p. 108086, 2023.

Mouton, J. W.; Meletiadiis, J.; Meletiadiis, J.; Voss, A.; Turnidge, J. D. Variation of MIC measurements: the contribution of strain and laboratory variability to measurement precision. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 9, p. 2374–2379, 2018. Oxford Academic. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article/73/9/2374/5042819>>.

Naqvi, S. A. H. et al. Citrus canker: Distribution, taxonomy, epidemiology, disease cycle, pathogen biology, detection, and management: A critical review and future research agenda. **Agronomy**, v. 2, p. 1075, 2022.

Nascimento, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108–113, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100020>

Nazzaro, F. et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 2013.

NCCLS. Métodos para determinação da atividade bactericida de agentes antimicrobianos: diretriz aprovada M26-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.

Nogueira, J. et al. Antibiofilm activity of the essential oil of citronella (*Cymbopogon nardus*) and its major component, geraniol, on the bacterial biofilms of *Staphylococcus aureus*. **Food science and biotechnology**, v. 28, p. 633-639, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0502-2>. Acesso em: 5 jan. 2025.

Noorshilawati, A.A.; Nurul Asyiqin, A.H.B.; Nur Suraya, A.; Aiza, H. Evaluation of antibacterial activity of Piper betle leaf extracts against pathogen of soft rot disease. IOP Conf. Ser. **Earth Environ. Sci.** 2023, 1182, 012049.

Oliveira, C., Rodrigues, F., Barbosa, C., Santos, J., Silveira, Z., Coutinho, H., & Cunha, F.

Antibacterial Activity of the Pyrogallol against *Staphylococcus aureus* Evaluated by Optical Image. 2022.

Oliveira-Pinto, C. et al. Efficacy of essential oils against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*: *in vitro* and in planta assays. **Pest management science**, v. 78, n. 6, p. 2380-2389, 2022.

Palomino, J. C. et al. Resazurin microtiter assay plate: Simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, p. 2720-2722, 2002.

Pandey, A. K. et al. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1-14, 2017.

Pandey, A. K. et al. Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 106, n. 9, p. 2302-2317, 2017.

Patra, J. K. et al. Nano-based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, p. 71, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>

Patrignani, F. et al. Innovative strategies based on the use of essential oils and their components to improve safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in food science and technology**, v. 46, p. 311-319, 2015. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.03.009>

Petersen, P. J.; Jones, C. H.; Bradford, P. A. Atividades antibacterianas in vitro da tige ciclina e agentes comparativos por estudos cinéticos de tempo de morte em caldo Mueller-Hinton fresco. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 59, p. 347–349, 2007. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2007.05.003

Piras, A. et al. *Ocimum tenuiflorum* L. and *Ocimum basilicum* L., two spices of Lamiaceae family with bioactive essential oils. **Industrial crops and products**, v. 113, p. 89-97, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2018.01.024>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Rasmussen, T. B. et al. Identity and effects of *quorum-sensing* inhibitors produced by *Penicillium* species. **Microbiology**, v. 151, p. 1325-1340, 2005.

Rao, J. et al. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. **Annual review of food science and technology**, v. 10, p. 365-387, 2019.

Rao, J. R. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from medicinal plants. **Industrial crops and products**, v. 128, p. 35-46, 2019.

Ré, T. A.; Rios, M.; Bueno, A. F. G. M. Cancro Cítrico: consequências causadas na produtividade do limão no estado de São Paulo. **INFA - Informações Fiscais do Agronegócio**, v. 19, n. 2, p. 747-759, 20 dez. 2022. DOI: 10.31510/infa.v19i2.1510.

Reis, R. S. et al. Advances in rhamnolipid biosynthesis regulation and metabolic engineering: paving the way for production in non-pathogenic hosts. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 107, p. 1021–1037, 2023.

Reyes-Jurado, F. et al. Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials. **Critical**

**reviews in food science and nutrition**, v. 60, p. 1641-1650, 2020.

Reyes-Jurado, F. et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of essential oils against bacterial pathogens. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1449, 2020.

Robu, R. G. et al. Regional patterns of pesticide consumption determinants in the European Union. **Sustainability**, v. 15, p. 2070, 2023.

Roger, E. et al. Biopharmaceutical parameters to consider in order to alter the fate of nanocarriers after oral delivery. **Nanomedicine**, v. 5, n. 2, p. 287–306, 2010. <https://doi.org/10.2217/nmm.09.110>

Rooney, A. P. et al. Isolation and characterization of rhamnolipid-producing bacterial strains from a biodiesel facility. **FEMS microbiology letters**, v. 295, p. 82–87, 2009.

Salazar-Bryam, A. M. et al. Rhamnolipids and essential oils in the control of mosquito-borne tropical diseases. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 105, p. 7505–7515, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11541-2>

São Paulo (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA). Resolução nº 147, de 31 de outubro de 2013. Diário Oficial do Estado de São Paulo, São Paulo, 1º nov. 2013, Seção 1, p. 50.

Sanches, A. L. R.; Miranda, S. H. G.; Belasque Junior, J.; Bassanezi, R. B. Análise Econômica da Prevenção e Controle do Câncer Cítrico no Estado de São Paulo. **RESR, Piracicaba-SP**, v. 52, n. 3, p. 549-566, jul./set. 2014.

Santamarta, S. et al. Essential oil of *Cymbopogon martini*, source of geraniol, as a potential antibacterial agent against *Bacillus subtilis*, a pathogen of the bakery industry. **Microbious reviews**, v. 10, p. 1027, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.12688/f1000research.54196.2>. Acesso em: 15 jan. 2025.

Schellenberger, R. et al. Bacterial rhamnolipids and their 3-hydroxyalkanoate precursors activate *Arabidopsis* innate immunity through two independent mechanisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 39, 24 set. 2021.

Schubert, T. S. et al. Meeting the challenge of eradicating citrus canker in Florida-again. **Plant disease**, v. 85, p. 340-356, 2001.

Serero, A.; Bedrat, A.; Baulande, S.; Bastianelli, G.; Colavizza, D.; Desfougères, T.; Pignède, G.; Quipourt-Isnard, A.D.; Nicolas, A. Recombination in a sterile polyploid hybrid yeast upon meiotic Return-To-Growth. **Microb. Res.** 2021, 250, 126789.

Sharma, Y.; Khan, L.A.; Manzoor, N. Anti-Candida activity of geraniol involves disruption of cell membrane integrity and function. **J. Mycol. Méd.** 2016, 26, 244–254.

Shen, C. et al. Rhamnolipids stabilized essential oils microemulsion for antimicrobial and fruit preservation. **Food chemistry**, v. 457, p. 140167, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140167>

Silva, F. et al. Atividade bacteriostática versus bactericida da ciprofloxacina em *Escherichia coli* avaliada por citometria de fluxo utilizando um novo corante vermelho distante. **Journal of**

**antibiotics**, v. 64, p. 321–325, 2011. DOI: 10.1038/ja.2011.5

Tang, C. et al. Explorando o mecanismo antibacteriano de óleos essenciais por permeabilidade de membrana, apoptose e combinação de formação de biofilme com análise proteômica contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Revista internacional de microbiologia médica**, v. 310, n. 5, p. 151435, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151435>. Acesso em: 2 jan. 2025.

Vatsa, P. et al. Rhamnolipid biosurfactants as new players in animal and plant defense against microbes. **International journal of molecular sciences**, v. 11, p. 5095-5108, 2010.

Varjani, S. J. et al. Biosurfactants for remediation of contaminated environments: a review. **Environmental technology & innovation**, v. 21, p. 101206, 2021.

Vieira, G. et al. Isolation and agricultural potential of penicillic acid against citrus canker. **Journal of applied microbiology**, v. 132, n. 4, p. 3081-3088, 2022.

Vieira, G. et al. Terrestrial and marine Antarctic fungi extracts active against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. **Applied microbiology**, v. 67, p. 64-71, 2018.

Vishakha, K. et al. Antibacterial, anti-biofilm, and anti-virulence potential of tea tree oil against leaf blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* instigates disease suppression. **Brazilian journal of microbiology**, v. 53, p. 19-32, 2022.

Waqif, H. et al. Algal macromolecular mediated synthesis of nanoparticles for their application against citrus canker for food security. **International journal of biological macromolecules**, v. 263, p. 130259, 2024.

Yang, S.; Ma, L.; Xu X.; et al. Physiological and Transcriptomic Analyses of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 in Response to Rhamnolipid Treatment. **Microorganisms**, v. 11, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/11/8/2112/pdf?version=1692367278>>.

Yu, H. et al. Physicochemical interactions between rhamnolipids and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm layers. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 6, p. 3718-3726, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es505803c>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Yuliani, S. et al. Spontaneous emulsification of citronella oil: Effect of processing conditions and production scale. IOP conference series: earth and environmental science, v. 1172, 2023. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1172/1/012053>

Zamuner, C. F. C. et al. A cinnamaldehyde-based formulation as an alternative to sodium hypochlorite for post-harvest decontamination of citrus fruit. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, n. 6, p. 701–709, 30 mar. 2020.

Zamuner, C. F. C. et al. Oregano essential oil and its main components thymol and carvacrol as alternatives to control citrus canker. **Frontiers in agronomy**, v. 5, p. 1-11, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1148969>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Zeferino, R.C.F. Synthesis of Geranyl Acetate and Neryl Acetate via Heterogeneous Catalysis with Ion Exchange Resin and Characterization of the Esters for Potential Applications as Antimicrobial Additives. Ph.D. Thesis, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil, 2021. Available online: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/231154> (accessed

on 10 October 2023).