



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



ARATICUM DE TERRA-FRIA E ARATICUM MIRIM: VARIEDADES DE *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer?

CAROLINA OVILE MIMI

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

**BOTUCATU – SP
2019**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE
BOTUCATU

Araticum de terra-fria e araticum mirim:
variedades de *Annona emarginata*
(Schltdl.) H. Rainer?

CAROLINA OVILE MIMI

PROF^a DR^a GISELA FERREIRA

PROF DR IVÁN DE LA CRUZ CHACÓN

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

**BOTUCATU – SP
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Mimi, Carolina Oville.

Araticum de terra-fria e araticum mirim: variedades de
Annona emarginata (Schltdl.) H. Rainer? / Carolina Oville
Mimi. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Gisela Ferreira

Coorientador: Iván De La Cruz Chacón

Capes: 20303009

1. *Annona*. 2. Annonaceae. 3. Alcalóides. 4. Taxonomia
numérica.

Palavras-chave: *Annona emarginata*; Annonaceae Juss;
alcaloides; variedades quimiofenéticas; voláteis foliares.

*“Os lábios da sabedoria estão fechados,
exceto aos ouvidos do entendimento”*

Hermes Trismegistro

*Dedico aos meus pais, à minha família e ao
namorado e companheiro que, com carinho e
apoio, não mediram esforços para que eu
chegasse até esta etapa.*

Agradecimentos

À Coordenação de Aprfeioamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil CAPES pela concessão de bolsa de mestrado - Código de Financiamento 001.

À Prof.^a Dr.^a Gisela Ferreira, pela amizade, orientação, apoio e confiança no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Iván De La Cruz Chacón da Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, pela orientação, correções e apoio desde o começo do trabalho.

Aos docentes, técnicos e funcionários do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UNESP - Botucatu, por toda ajuda dado nos momentos de necessidade. À Prof.^a Dr.^a Carmem Silvia F. Boaro, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) e aos funcionários da Seção de Pós-graduação, pelo auxílio no decorrer do curso.

À Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI) de São Bento do Sapucaí - SP, e a Leda Donnabella de Campos do Jordão - SP, pelo fornecimento do material vegetal utilizado durante a pesquisa, e por todo o apoio dado durante as coletas.

À Prof.^a Dr.^a Marcia Ortiz Mayo Marques do Instituto Agrônômico de Campinas, à Dr.^a Maria Aparecida Ribeiro Vieira e a todos os funcionários do instituto pelo auxílio na utilização dos equipamentos para as análises de voláteis foliares. Ao Prof. Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda e aos alunos de pós-graduação do Laboratório de Sistemática Vegetal da UNESP de Jaboticabal, por todo o aprendizado obtido durante as análises moleculares.

Aos meus pais, Mara Lúcia Ovíle e Alex Mimi, pelos valores de caráter transmitidos, confiança, carinho e apoio em todos os momentos e por entenderem a minha ausência. Ao meu namorado, melhor amigo e companheiro de vida, Mario Ribeiro Galvão Neto, que está ao meu lado em todos os momentos, compartilhando das alegrias e tristezas, e que de forma indireta e direta possibilitou que esse mestrado fosse realizado até o final. A minha irmã, Jéssica e ao meu avô Ovídio, pelo apoio e carinho de sempre, e a toda a minha família. Amo vocês!

Às amigas de Pós-graduação, Mariana De Pieri Oliveira, Marília Sousa e Patrícia Corrêa pela amizade e momentos inesquecíveis, e por embarcarmos juntas nessa experiência incrível, por toda ajuda nos perrengues das coletas, e nas mais diversas análises, por tornarem a realização desse trabalho mais divertida, e por toda a aprendizagem que tivemos juntas. A todos os colegas do Laboratório de Germinação e do Laboratório de Crescimento, que sempre estiveram presentes para auxiliar na realização desse trabalho.

E finalmente, às amigas, Ana Flávia, Priscila, Joice, Giovanna e Laisa, que mesmo distante, estão sempre presentes em minha vida.

Sumário

RESUMO	8
ABSTRACT	10
1. Introdução Geral	12
2. CAPÍTULO I: Revisão de Literatura	14
2.1. Família Annonaceae Juss.....	14
2.2. Gênero <i>Annona</i> Linn	15
2.3. <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H. Rainer	16
2.4. Quimiofenética.....	18
2.4.1. Metabolismo especializado	19
2.4.2. Alcaloides.....	20
2.4.3. Terpenos.....	21
3. CAPÍTULO II: Artigo	23
Resumo	24
Abstract	25
3.1. Introdução	26
3.2. Resultados	28
3.4. Conclusão	34
3.5. Experimental	34
3.6. Agradecimento	37
3.7. Referências	37
3.8. Tabelas e Figuras	41
4. Considerações Finais	56
5. Referências	56

MIMI, C. O. Araticum de terra-fria e araticum mirim: variedades de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer? 2019. 62 p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - Além das formas clássicas de identificação de espécies e variedades realizadas por meio da diferenciação morfológica de órgãos das plantas, como as folhas, flores e frutos, contamos com diferentes técnicas de estudo que analisam aspectos moleculares e químicos. A junção de mais de uma técnica de análise taxonômica é utilizada quando apenas a diferenciação morfológica não é capaz de identificar e classificar uma espécie. A quimiosistemática, recentemente nomeada quimiofenética utiliza dados químicos, provenientes do metabolismo especializado das plantas, para auxiliar na classificação de diferentes famílias, gêneros, espécies e variedades. A espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, conhecida por seu valor econômico e ecológico, é popularmente chamada como araticum de terra-fria e como araticum mirim, observações de campo e diversos estudos demonstram diferenças fisiológicas e morfológicas entre os araticuns. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi utilizar caracteres morfológicos e químicos provenientes do metabolismo especializado para esclarecer se os araticuns (araticum de terra-fria e araticum mirim) podem ser tratados como variedades de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. Para tanto, foram realizadas análises morfométricas do limbo foliar e da coloração das flores e, análises do metabolismo especializado dos araticuns, considerando a) o perfil químico de alcaloides da raiz, expressado como abundância e perfil químico de alcaloides totais, e abundância de um alcaloide considerado marcador quimiotaxonômico (liriodenina) da família Annonaceae; b) perfil de voláteis foliares pelo método de microextração em fase sólida em modo headspace (HS-SPME). As coletas ocorreram em três estádios fenológicos (vegetativo, floração e frutificação) e em dois locais (Campos do Jordão e São Bento do Sapucaí). Foram observadas diferenças marcantes entre os araticuns em todos os aspectos estudados. Em relação à concentração de alcaloides totais e da Liriodenina foi encontrada maior concentração em araticum mirim nos três estádios fenológicos e nas duas localidades, a análise do perfil demonstrou maior porcentagem de presença do alcaloide Lanulinosina em araticum de terra-fria, e dos alcaloides Laurotetanina e N-metil-Laurotetanina em araticum mirim. O perfil de voláteis foliares demonstrou que araticum de terra-fria apresenta composição majoritária de sesquiterpenos (52 - 65% do perfil), diferente do araticum mirim que apresenta composição majoritária de monoterpenos (52 - 68% do perfil), além disso foi relatada a presença de voláteis exclusivos para os dois araticuns. A análise morfométrica demonstrou que araticum

de terra-fria apresenta maior comprimento e largura do limbo foliar, quando comparado com araticum mirim que apresenta menor comprimento e largura do limbo foliar. Os resultados das análises de componentes principais e agrupamentos hierárquicos com os caracteres químicos e dos morfológicos sugerem que o araticum de terra-fria e o araticum mirim devam ser classificados como variedades de *A. emarginata*.

Palavras chave: *Annona emarginata*, Annonaceae Juss, variedades quimiofenéticas, alcaloides, voláteis foliares.

MIMI, C. O. Araticum de terra-fria and araticum mirim: varieties of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer? 2019. 62 p. DISSERTATION (MASTER) - INSTITUTE OF BIOSCIENCES, UNESP - SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

ABSTRACT - In addition to the classical forms of identification of species made through the morphological differentiation of plant organs, such as leaves, flowers and fruits, we have different study techniques that analyze molecular and chemical aspects. The addition of more than one taxonomic analysis technique is used when only morphological differentiation is not able to identify and classify a species. The chemosystematics, recently named chemophenetic, uses chemical data from specialized plant metabolism to aid in the classification of different families, genera, species and varieties. The species *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, known for its economic and ecological value, is popularly called araticum de terra-fria and araticum mirim. Field observations and several studies demonstrate physiological and morphological differences between them. Therefore, the purpose of this work is to use morphological and specialized chemical characters to clarify whether both araticuns (araticum de terra-fria and araticum mirim) are varieties of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. For this purpose, morphometric analysis of leaf blade and flower color analysis were performed, analysis of the specialized metabolism of araticuns were performed, considering a) chemical alkaloid profile of the root, expressed as abundance and chemical profile of total alkaloids, and abundance of an alkaloid considered a chemotaxonomic marker (liriodenine) of the Annonaceae family, b) profile of leaf volatiles by solid-phase microextraction method in headspace mode (HS-SPME). The collections were carried out in three phenological stages (vegetative, flowering and fruiting) and in two places (Campos do Jordão and São Bento do Sapucaí). Significant differences were observed between the araticuns in all aspects studied. In relation to the concentration of total alkaloids and Liriodenine, a higher concentration was found in araticum mirim, the profile analysis showed a higher percentage of the presence of Lanulinosine alkaloid in araticum de terra-fria, and of the alkaloids Laurotetanina and N-methyl-Laurotetanine in araticum mirim. The profile of leaf volatiles shows that araticum de terra-fria has a majority composition of sesquiterpenes (52-65% of the profile), different from araticum mirim, which has a majority composition of monoterpenes (52-68% of the profile), besides that it was observed the presence of unique volatiles to each araticum. The morphometric analysis showed that araticum de terra-fria presents a greater height and width of leaf blade, when compared to araticum mirim that presents smaller width and height of leaf blade. The results of the analysis of the main components and hierarchical groupings with the

chemical characters, besides the morphological ones suggest that araticum de terra-fria and araticum mirim should be classified as varieties of *A. emarginata*.

Keywords: *Annona emarginata*; chemophenetic varieties, alkaloids, leaf volatiles, Annonaceae Juss.

1. Introdução Geral

A família Annonaceae Juss. é de grande importância tanto em aspectos evolutivos e ecológicos quanto econômicos, apresenta distribuição pantropical e pode ser encontrada em diferentes vegetações por todo território brasileiro (CHATROU et al., 2012a; MAAS; LOBÃO; RAINER, 2015).

Dos gêneros mais numerosos pertencentes à família se encontra o gênero *Annona* Linn, com grande destaque econômico por sua produção de frutos de reconhecida qualidade organoléptica. As espécies mais produzidas no Brasil são a pinha ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), a graviola (*A. muricata* L.) e o híbrido atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) (SÃO JOSÉ et al., 2014; SCALOPPI JUNIOR; MARTINS, 2014).

De modo geral a propagação das espécies é realizada por sementes e quando se trata de produção de mudas em larga escala se utiliza propagação vegetativa, principalmente por enxertia. Para a produção de mudas de atemoia se utiliza a espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer como porta-enxerto. Esta espécie é nativa da América do Sul com ocorrência em diversos países como Bolívia, Peru, Argentina Paraguai, Uruguai e Brasil (MAAS et al., 2001). A espécie foi submetida a uma reclassificação taxonômica, sendo anteriormente denominada *Rollinia emarginata* Schltdl. e posteriormente passou a ser denominada *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer (RAINER, 2007). Os produtores de mudas diferenciam duas variações da espécie, em determinadas regiões utilizam o nome de araticum mirim e em outras regiões o araticum de terra-fria, no entanto, ao serem encaminhadas aos especialistas em taxonomia, ambas são identificadas como *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. Diversos trabalhos têm sido realizados comparando-se os dois araticuns como variedades diferentes demonstrando respostas fisiologicamente distintas.

Diferenças na ocorrência são relatadas por Bettiol Neto et al. (2006) demonstrando que araticum mirim apresenta ocorrência próxima a cursos de rio e está mais adaptada a temperaturas e umidades elevadas. Em contrapartida o araticum de terra-fria apresenta ocorrência natural em lugares com altitude elevada, estando mais adaptado a temperaturas baixas. Diferenças fisiológicas têm sido demonstradas em vários estudos, tanto nas respostas das trocas gasosas, na expressão enzimática, e também na compatibilidade entre copa e porta-enxerto (BARON et al., 2014; BETTIOL NETO et al., 2006). Por outro lado, tanto as plantas de araticum mirim quanto de araticum de terra-fria apresentam resistência a podridão de raiz causada por *Phytophthora nicotianae* var. parasítica, *Pythium* sp. e *Rhizoctonia solani*, e são

menos atrativas às brocas que atacam o colo das plantas (*Cratosomus bombina*) (BETTIOL NETO et al., 2006).

Produtores que utilizam a espécie como porta-enxerto relatam diferenças ente elas na coloração e aroma exalado pelas flores, no tamanho das folhas e nas respostas fisiológicas entre copa e porta-enxerto. As informações dos produtores juntamente com as diferenças fisiológicas relatadas nos artigos levam à sugestão de que araticum mirim e araticum de terra-fria podem ser variedades distintas. Neste contexto, há necessidade de estudar de modo mais aprofundado as diferenças morfológicas e químicas a fim de que seja confirmada ou não a existência das duas variedades. Dentre as possibilidades de métodos de estudo, se relata utilizar análises quimiotaconômicas.

A área da quimiosistemática, nomeada recentemente de quimiofenética, vem sendo utilizada para auxiliar na solução de problemas de identificação e classificação de espécies que não conseguem ser resolvidos somente com o uso de análises morfológicas (GOTTLIEB, 1982; WINK et al., 2018; ZIDORN, 2019). Para que isso ocorra são utilizadas as diferenças e semelhanças detectáveis nas composições bioquímicas dos organismos estudados (REYNOLDS, 2007; WINK et al., 2018). Para o estudo de organismos vegetais são utilizados como marcadores químicos os produtos do metabolismo especializado.

Os metabólitos especializados são compostos químicos obtidos através de produtos da fotossíntese, que visam fornecer proteção e atração às plantas. São utilizados como marcadores químicos devido a sua organização na planta, que permite a expressão da individualidade de famílias, gêneros e de espécies, auxiliando em estudos quimiosistemáticos (DEWICK, 2002).

As espécies da família Annonaceae apresentam produção de diversos metabólitos especializados de interesse (SURESH; SHIVAKUMAR; SHIVAKUMAR, 2012), que pode ser afetada nos diferentes estádios fenológicos e por variações ambientais como radiação solar, temperatura e umidade (CARVALHO et al., 2007; YANG et al., 2018).

Juntamente com as análises de marcadores químicos é importante confecção de exsiccatas e realização de análises morfológicas, que auxiliarão na compreensão das possíveis diferenças encontradas, possibilitando a comparação de estruturas como folha e flor levando em consideração aspectos como coloração, tamanho e forma.

Sendo assim o objetivo deste trabalho é analisar se ocorrem diferenças químicas no metabolismo especializado e morfológicas que auxiliem para classificar araticum de terra-fria e araticum mirim como diferentes variedades de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

2. CAPÍTULO I: Revisão de Literatura

2.1. Família Annonaceae Juss

A família Annonaceae Juss apresenta distribuição pantropical, contribuindo significativamente para a diversidade de espécies de árvores, arbustos e lianas nas florestas neotropicais e tropicais (CHATROU et al., 2012a; COUVREUR et al., 2018). É uma família pertencente ao grupo das angiospermas com idade aproximada de 90 milhões de anos, pertencente a ordem das Magnoliales e clado das Magnoliídaes. A família está representada, até o momento, por 108 gêneros e aproximadamente 2106 espécies identificadas (CHATROU et al., 2012a; THE PLANT LIST, 2013; XUE et al., 2018).

No Brasil, a família é representada por 29 gêneros, e cerca de 386 espécies (145 endêmicas), com papel significativo na composição da vegetação brasileira. A região amazônica e o sudeste são os principais centros de distribuição da família no Brasil (MASS et al., 2015).

Um estudo filogenético realizado por Chatrou et al. (2012a) classificou a família Annonaceae em quatro subfamílias: Anaxagoreoideae, Ambavioideae, Annonoideae e Malmeoideae. Para o estudo foram utilizados oito marcadores plastidiais com representantes de 94 gêneros. As quatro subfamílias estão subdivididas em 14 tribos (GUO et al., 2017; XUE et al., 2018).

São muitas as utilizações de espécies da família Annonaceae, como por exemplo, para consumo de frutas *in natura*, doces, sucos, porta-enxertos, e por suas propriedades medicinais e aromáticas (CHATROU et al., 2012b). Diversos compostos químicos com efeitos medicinais já foram isolados de espécies da família, dentre eles alcaloides aporfínicos e as acetogeninas, capazes de induzir a apoptose (morte programada da célula) em células de linhagem cancerígena (SURESH; SHIVAKUMAR; SHIVAKUMAR, 2012).

Estudos realizados com *Annona muricata* L. revelam seus efeitos medicinais, além de seus frutos serem amplamente consumidos *in natura*, na produção de sucos e doces (ALARA et al., 2017). Foram relatados efeitos antivirais causados pelo extrato etanólico extraído de *Annona muricata*, com inibição de crescimento de *Herpes simplex* vírus (HSV) (PADMA et al., 1998), e atividade contra *Leishmania (viannia) braziliensis* e *L. (v) panamensis* (JARAMILLO et al., 2000).

Os efeitos moluscicidas dos compostos químicos, presentes em espécies da família, foram comprovados com o estudo realizado com as espécies *Annona crassiflora* M., *A. glabra* L., *A. muricata* L., *A. pisonis* M., *A. salzmanii* D. C. e *A. squamosa* Vell. Foi comprovado o efeito do extrato etanólico, de diferentes órgãos das plantas, contra a forma adulta e contra ovos de *Biomphalaria glabrata* (DOS SANTOS; SANT'ANA, 2001).

Além dos efeitos citados, também é relatado que compostos extraídos da casca de *Guatteria blepharophylla* (Mart.) Mart. apresentam atividade biológica antifúngica contra *Candida albicans*, e antiproliferativa contra linhagens de células tumorais humanas de mama (MCF7) (COSTA et al., 2011).

Em relação às características morfológicas a família geralmente apresenta folhas alternas, dísticas, simples, sem estípulas e com margem inteira. Pode apresentar inflorescência cimosa, ou uma única flor. Suas flores são na maioria das vezes grandes e vistosas, hermafroditas, diclamídeas. Apresentam cálice trímero-tetrâmero, dialissépalo, tendo a corola composta por dois verticilos de três a quatro pétalas. A maioria das espécies da família Annonaceae possui grande número de estames compactados, protegidos por um alongamento do ápice do conectivo, apresentando de um a numerosos carpelos, podendo ser livres ou soldados na base. Os frutos podem ser apocárpicos ou sincárpicos, bacáceo ou folicular. As sementes apresentam endosperma ruminado, e seu embrião é geralmente diminuto, medindo cerca de 1-2mm (LOBÃO; ARAUJO; KURTZ, 2005; SILBERBAUER-GOTTSBERGER; GOTTSBERGER; WEBBER, 2003).

2.2. Gênero *Annona* Linn

O gênero *Annona* apresenta grande destaque comercial devido as espécies que produzem frutos de elevada qualidade para consumo *in natura* e também processados em polpas, geleias, licores, etc. (MOSCA; CAVALCANTE; DANTAS, 2006; SÃO JOSÉ et al., 2014). Com origem na América tropical e na África tropical, é composto por aproximadamente 166 espécies (THE PLANT LIST, 2013), dentre elas 24 são endêmicas do Brasil, representando 15% das Anonas (MAAS et al., 2015).

As espécies do gênero apresentam características morfológicas como flores terminais ou axilares, solitárias ou com poucas inflorescências, geralmente apresentam 2 brácteas por flor, sépalas conectadas ou livres, frequentemente espessas, carnudas e encontradas nas cores brancas, amarelas, alaranjadas ou vermelhas, ausência de pétalas. Apresentam fruto sincárpico

com presença de muitos carpelos (MAAS et al., 2001; VINAY; SAKTHIVEL; PRIYANKA, 2017).

No Brasil apenas as espécies do gênero *Annona* são cultivadas para a comercialização dos frutos, tendo maior importância no mercado as espécies *Annona muricata*, *A. squamosa*, *A. cherimola* e o híbrido atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) (MOSCA; CAVALCANTE; DANTAS, 2006; SÃO JOSÉ et al., 2014). Além de sua importância econômica, as espécies do gênero *Annona* são conhecidas e amplamente utilizadas devido à produção de compostos químicos com propriedades medicinais. São utilizadas por populações nativas de diferentes regiões da Argentina para o tratamento de doenças como diarreia e úlceras, as partes das plantas mais utilizadas são as folhas e as sementes (QUÍLEZ et al., 2018). Essas propriedades medicinais são atribuídas a substâncias provenientes do metabolismo especializado das *Annonas*, como as acetogeninas, os alcaloides, os flavonoides e os terpenoides. Os principais efeitos medicinais registrados são suas ações antiparasitárias, antiespasmódica, sedativas, analgésicas, hipotensores, sendo utilizados no tratamento de diarreias e úlceras, e como vermífugos (BARBALHO et al., 2012; QUÍLEZ et al., 2018).

2.3. *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Annona emarginata (Schltdl.) H. Rainer é uma espécie arbórea da família Annonaceae Juss nativa do continente sul-americano, com ocorrência em diversos países como Bolívia, Peru, Argentina Paraguai, Uruguai e Brasil. Apresenta ocorrência nas regiões brasileiras: Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, presente nos domínios fitogeográficos Cerrado e Mata Atlântica, em vegetações do tipo Cerrado (*lato sensu*), Floresta Ombrófila e Restinga (MAAS et al., 2015). A espécie possui folhas lanceoladas e lisas. As flores são em forma de hélice, perfumadas, de coloração amarela, com florescimento nos meses de outubro a novembro. Os frutos são cordiformes e lisos, com grande variação no tamanho, apresentando em média 4 cm de diâmetro, 3 cm de altura e 50 gramas, contendo aproximadamente 40 sementes (TOKUNAGA, 2000).

Popularmente conhecida por araticum de terra-fria e araticum mirim a espécie passou por reclassificação. Rainer (2007) propôs alteração taxonômica, passando as espécies do gênero *Rollinia* para o gênero *Annona* Linn, fazendo com que o araticum de terra-fria e o araticum mirim anteriormente classificados como *Rollinia emarginata* Schltdl. passassem a ser classificados como *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

É relatado que araticum de terra-fria apresenta ocorrência natural em locais com altitude elevada, preferencialmente 950 m acima do nível do mar. Em contrapartida, o araticum mirim tem ocorrência natural próximo a cursos de rio, apresentando-se adaptado a temperatura e umidade elevadas (BETTIOL NETO et al., 2006).

Apesar de serem classificados como mesma espécie, há relatos de produtores e estudos que demonstram diferenças entre araticum de terra-fria e araticum mirim, tratando-os como variedades de *A. emarginata*. No campo se observam diferenças na morfologia, coloração das flores, tamanho das folhas e cheiro exalado pelas plantas. Dentre as diferenças fisiológicas observadas, estão aquelas relacionadas a respostas tanto na expressão enzimática, nas trocas gasosas, adaptação a solos, alagamento e também na compatibilidade entre copa e porta-enxerto (BARON et al., 2014, 2018). Em relação à produção de porta-enxertos ocorrem diferenças na copa e no tempo de produção, sendo que o araticum de terra-fria induz maior vigor à copa (BETTIOL NETO et al., 2006), enquanto o araticum mirim tem a característica de induzir o nanismo à copa (BARON et al., 2017). A indução ao nanismo é considerada benéfica, pois facilita o manejo em campo e apresenta florescimento precoce com aumento da produtividade (PRASSINOS et al., 2009).

Uso crescente da espécie *A. emarginata* como porta-enxerto, para a produção em larga escala de mudas de atemoia vem ocorrendo com vantagens do ponto de vista agrônomo, uma vez que tanto araticum de terra-fria e araticum mirim apresentam resistência à podridão de raiz causada por *Phytophthora nicotianae* var. parasítica, *Pythium* sp. e *Rhizoctonia solani*, e são menos atrativas às brocas que atacam o colo das plantas (BETTIOL NETO et al., 2006). Além disso o araticum de terra fria é também considerado tolerante a solos secos (MANTOAN; FERREIRA; BOARO, 2015). Além de características morfológicas e fisiológicas distintas, há variações na produção de compostos químicos produzidos com ação medicinal.

Estudo do perfil químico dos voláteis foliares de *A. emarginata* revelam compostos majoritários, *E*-cariofileno 29.29% da composição dos voláteis, *Z*-cariofileno 16.86%, α -pineno 13.86%, γ -muuroleno 7.54% e triciclono 10.04% dos voláteis foliares. Os voláteis foliares majoritários na espécie pertencem à classe dos sesquiterpenos, composição que se mantém mesmo quando a espécie é estudada em diferentes condições de solo e ambiente (CAMPOS et al., 2014, 2019). Os voláteis foliares na família apresentam variação entre as espécies, mas alguns compostos majoritários estão presentes em diferentes espécies.

Os compostos extraídos da espécie apresentam diversos efeitos medicinais, como por exemplo, o efeito contra cepas de *Leishmania* sp. e contra a forma sanguínea de *Tripanossoma cruzi*, causado pelo extrato diclorometano obtido da casca do caule de *A. emarginata* (FÉVRIER et al., 1999), assim como efeito antifúngico (COLOM; POPICH; BARDON, 2007) e atividade antibacteriana provenientes dos extratos hexânico e diclorometano das flores de *A. emarginata* contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* (DOLAB et al., 2018).

2.4. Quimiofenética

A identificação vegetal é uma tarefa essencial em campos de pesquisa de biodiversidade, ecologia, farmacologia, fisiologia, entre outros. Estudos taxonômicos utilizam-se de diferentes ferramentas para a identificação, a mais utilizada para classificação de variedades de plantas são as características anatômicas e morfológicas, no entanto essas características fenéticas podem ser avaliadas de forma subjetiva, podendo ocorrer influências ambientais que dificultam a observação confiável de polimorfismo entre espécies ou variedades. É crescente o uso de métodos moleculares e químicos de diferenciação associados às técnicas convencionais (AZOFEIFA-DELGADO, 2006).

A área de estudo aplicada para classificar e identificar divergências entre organismos, como as plantas, utilizando-se de técnicas que demonstram as diferenças e similaridades em suas composições bioquímicas é denominada por alguns autores como quimiosistemática. (GOTTLIEB, 1982; REYNOLDS, 2007; WINK et al., 2018).

Essa denominação se torna controversa à medida que se evidencia que os caracteres quimiosistemáticos nas plantas, assim como outros caracteres fenéticos, são afetados por fatores de estresse ecológico e sujeitos a fenômenos de evolução paralela, fazendo com que essa utilidade desapareça (WINK, 2003; ZIDORN, 2019).

Recentemente um novo termo foi proposto, a quimiofenética de plantas, que realiza a exploração da composição bioquímica do metabolismo especializado de táxons de plantas, ou seja, os estudos quimiofenéticos descrevem os conjuntos de metabólitos especializados específicos em um determinado táxon (ZIDORN, 2019). Da mesma forma que as abordagens anatômicas, morfológicas e cariológicas, os estudos quimiofenéticos contribuem para a descrição fenética dos táxons.

2.4.1. Metabolismo especializado

As plantas são organismos que apresentam seu crescimento e desenvolvimento dependente de suas capacidades biossintéticas especializadas, o que exige elevado grau de compartimentalização funcional e estrutural. Os processos de fotossíntese, formação de paredes celulares, e a formação de metabólitos especializados são alguns exemplos claros dessa capacidade, pois permitem que as plantas sobrevivam e se adaptem ao ambiente respondendo a estresses bióticos e abióticos (LAURSEN; MØLLER; BASSARD, 2015).

Os metabólitos especializados são sintetizados como parte de uma rede bioquímica muito complexa, que é regulada pela expressão de genes, aliado a modulação de enzimas (HAGEL; FACCHINI, 2008). Compreendem uma infinidade de compostos que apresentam propriedades funcionais diversificadas, oferecendo um meio de comunicação entre as plantas, alelopátia, defesa a ataques de patógenos e herbívoros, atração de polinizadores, assim como auxílio na adaptação às mudanças climáticas (LAURSEN; MØLLER; BASSARD, 2015).

Por algum tempo essas substâncias foram erroneamente chamadas de “metabólitos secundários”, pois os pesquisadores desconheciam suas funções biológicas e as associavam com resíduos do metabolismo primário. Atualmente adota-se o termo metabólitos especializados, por se conhecer cada vez mais suas funções ecológicas específicas, ficando claro que a capacidade de sintetizar esses compostos evoluiu de diferentes formas em diversas linhagens de plantas (PICHERSKY; LEWINSOHN, 2011).

Os produtos do metabolismo especializado são expressos de forma individual, encontrados então em grupos específicos de organismos, o que difere do metabolismo primário. Os metabólitos apresentam inúmeras atividades biológicas envolvidas nas relações entre as plantas e o ambiente, além disso, são utilizados como marcadores químicos, devido a forma como estão agrupados nos organismos, o que permite que expressem a individualidade de famílias, gêneros e espécies, atuando como uma característica quimiofenética (DEWICK, 2002).

De acordo com Matsuura et al. (2018) os metabólitos especializados podem ser classificados em três grandes grupos, sendo eles os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Estima-se que o número de metabólitos especializados ultrapasse 200.000. Os terpenos apresentam o maior número de substâncias identificadas superando 30.000, seguidos dos alcaloides que superam 20.000 substâncias identificadas. Diversos

fatores podem afetar a produção de metabólitos especializados, entre eles fatores bióticos, como presença de patógenos, e abióticos, como variações ambientais, influenciados principalmente por radiação solar, mudanças de temperatura, disponibilidade de água no solo e salinidade do solo (YANG et al., 2018).

2.4.2. Alcaloides

Os alcaloides fazem parte da classe de metabólitos especializados classificada como compostos nitrogenados e são encontradas em diversas espermatófitas. Até hoje foram encontrados cerca de 20.000 substâncias que apresentam na composição de sua molécula um ou mais átomos de nitrogênio. Pode-se observar a formação de aminas primárias, secundárias ou terciárias, os alcaloides apresentam baixo peso molecular, ampla variedade de estruturas químicas e atividades biológicas (CHACÓN et al., 2012; DEWICK, 2002).

Os alcaloides são classificados de acordo com sua rota de biossíntese dependentes dos aminoácidos precursores. São esses aminoácidos que fornecem a porção do esqueleto principal que contém o nitrogênio. As classes de alcaloides mais conhecidas derivam dos aminoácidos triptofano, tirosina e ornitina. Entre os alcaloides derivados do triptofano pode-se citar os indólicos e quinolínicos, os derivados da tirosina mais conhecidos são protoalcaloides, alcaloides isoquinolínicos e benzilisoquinolínicos, e os derivados da ornitina, que são os pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quinolizidínicos (KUTCHAN, 1995).

A família Annonaceae apresenta registro de mais de 900 alcaloides, de modo que os mais abundantes são os benzilisoquinolínicos (LÚCIO et al., 2015). Muitos dos alcaloides possuem propriedades analgésicas, dopaminérgicas, antimicrobianas e narcóticas (GONZÁLEZ-ESQUINCA et al., 2014).

Os alcaloides aporfínicos, derivados dos benzilisoquinolínicos, são produzidos principalmente por angiospermas basais. Foram registrados 801 alcaloides aporfínicos, dentre eles 232 são produzidos por espécies da família Annonaceae, o que demonstra a grande diversidade metabólica da família (GONZÁLEZ-ESQUINCA et al., 2014). Os alcaloides conhecidos como marcadores químicos para gênero *Annona* são liriiodenina, anonaina e reticulina pois eles estão presentes em grande parte das espécies do gênero de forma abundante (LEBOEUF et al., 1982).

Alguns trabalhos vêm demonstrando a eficiência no uso de alcaloides como marcadores químicos, para a classificação em diferentes níveis taxonômicos. Estudos realizados com o gênero *Aspidosperma*, como o de Pereira et al. (2007), Mitaine et al. (1996) e Nunes et al. (1992) utilizam alcaloides indólicos para classificar e identificar espécies do gênero. Outro exemplo é o realizado por Máximo et al. (2006) com o uso de alcaloides quinolizidínicos como marcadores quimiotaxonômicos para o gênero *Ulex* L.

2.4.3. Terpenos

Os terpenos são a maior classe de substâncias do metabolismo especializado (mais de 30.000 compostos identificados), sendo derivados da junção de moléculas precursoras denominadas de isopreno, formados por cinco átomos de carbono, cujos precursores são o isopentenil difosfato (IPP, C5) e seu isômero, o dimetilalil difosfato (DMAPP, C5) (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014).

Essas moléculas são sintetizadas a partir de duas rotas biossintéticas independentes, porem compartimentadas, a rota do *mevalonic acid* (MVA) que ocorre no citosol e do *methylerythritol phosphate* (MEP) que ocorre nos plastídios (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014). O número de unidades de Isopreno presentes na molécula de terpeno é o que define sua classificação, podendo ser classificado como monoterpenos (2 isoprenos), sesquiterpenos (3 isoprenos), diterpenos (4 isoprenos), triterpenos (5 isoprenos), tetraterpenos (6 isoprenos) e polisoprenos (mais de 6 isoprenos) (BAKKALI et al., 2008).

Os terpenos são sintetizados em todos os grupos orgânicos conhecidos, exercendo uma gama de funções que vão desde o metabolismo primário, até ações antioxidantes e funções estruturais. São amplamente explorados devido as suas aplicações como produtos químicos agrícolas e industriais e na produção de perfumes e medicamento (PONTIN et al., 2015).

Os terpenoides, isoprenos, monoterpenos e sesquiterpenos, constituem a maior classe de compostos voláteis das plantas (DUDAREVA et al., 2013). Os mono e sesquiterpenos exercem funções importantes tanto para as plantas quanto para os humanos. Desempenham papel ecológico fundamental, sendo utilizado pelas plantas na proteção contra bactérias, fungos, vírus e contra ataques de insetos e herbívoros. Além disso, também são utilizados na atração de polinizadores e dispersores de sementes (ABBAS et al., 2017; BAKKALI et al., 2008).

Existem diferenças nas rotas para a formação das classes dos mono e sesquiterpenos. Os monoterpenos juntamente com os diterpenos são sintetizados pela via da MEP, em contrapartida os sesquiterpenos são sintetizados pela MAV (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014).

As espécies da família Annonaceae apresentam aromas marcantes devido à presença dos terpenoides voláteis. Sua composição foi demonstrada em diversos trabalhos como o realizado por Leboeuf et al., (1982) que registrou a presença dos compostos bicilogermacreno, (E)-cariofileno, γ -muuroleno, α -humuleno, espatulenol e β -elemeno em espécies da família. O principal componente encontrado em óleos essenciais extraídos das folhas de *Annona leptopetala* foi bicilogermacreno, que representou cerca de 22,47% da composição do óleo (COSTA et al., 2008).

Alguns trabalhos comprovam a eficiência do uso de terpenoides voláteis como marcadores químicos, auxiliando na classificação e identificação de diferentes gêneros. O trabalho realizado por Lukas et al. (2015) utilizou a composição dos voláteis foliares de diferentes populações de *Origanum vulgare* L. para classifica-las em diferentes subespécies. O estudo de Piva et al. (2019) demonstrou a eficiência no uso de monoterpenos como marcadores químicos para espécies do gênero *Protium*.

3. CAPÍTULO II

Conforme estabelecido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), os resultados obtidos neste trabalho foram redigidos na forma de artigo nas normas da Revista *Phytochemistry*.

Quimiofenética como ferramenta para distinção de variedades de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Carolina Oville Mimi ^{a*}, Iván De-La-Cruz-Chacón ^b, Gisela Ferreira ^a

^a Departamento de Botânica, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu, Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, 250, CEP 18618-689, Botucatu, São Paulo, Brasil.

*E-mail: c.ovilemimi@gmail.com

^b Laboratorio de Química y Fisiología Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte-Poniente 1150, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Resumo - O araticum mirim e o araticum de terra-fria após herborização e envio a taxonomistas são classificados como mesma espécie [*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer]. Por outro lado, observações de campo e diversos estudos vêm mostrando que existem diferenças fisiológicas e morfológicas entre eles, o que leva à consideração de que podem ser variedades distintas. A espécie pertencente à família Annonaceae Juss. é nativa do continente sul-americano, apresenta valor ecológico e econômico. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi estudar diferenças químicas entre araticum de terra-fria e araticum mirim, que suportem caracterizar como diferentes variedades de *A. emarginata*. A análise dos compostos químicos foi feita a partir da quantificação e perfil de alcaloides de raiz (método ácido/base) e, perfil de voláteis foliares (HSPME), juntamente com análises morfométricas do limbo foliar. As coletas foram realizadas em três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo) e duas localidades (Campos do Jordão, SP e São Bento do Sapucaí, SP). Araticum mirim apresenta maior quantidade de alcaloides totais e maior concentração de liriodenina que o araticum de terra-fria, em ambas as localidades e nos três estádios fenológicos. Diferenças na composição do perfil de alcaloides e de voláteis foliares foram observadas, assim como diferença na relação comprimento e largura do limbo foliar. As folhas do araticum de terra-fria apresentam-se maiores nas duas variáveis. Os resultados demonstram que além das variações morfológicas, o metabolismo especializado, de alcaloides das raízes e voláteis foliares podem ser quimio-características que indicam a existência de duas variedades, ou no mínimo, de dois quimiotipos de *A. emarginata*, sendo portanto o primeiro relato das diferenças entre araticum de terra-fria e mirim empregando-se quimiofenética.

Palavras-chaves: *Annona emarginata*; Annonaceae; variedades quimiofenéticas; alcaloides; terpenos voláteis; marcadores químicos.

Chemophenetic as a tool for variety distinction of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Carolina Ovíle Mimi ^{a*}, Iván De-La-Cruz-Chacón ^b, Gisela Ferreira ^a

^a Botany Department, São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Institute of Biosciences, Botucatu, Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin Street, 250, CEP 18618-689, Botucatu, São Paulo, Brazil.
*Email: c.ovilemimi@gmail.com

^b Chemistry and Plant Physiology Laboratory of the Institute of Biological Sciences, University of Sciences and Arts of Chiapas, Libramiento Norte-Poniente 1150, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico.

Abstract - Araticum mirim and araticum de terra-fria after collections for herborization and dispatch to taxonomists are classified as being the same species [*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer]. On the other hand, field observations and several studies have shown that there are physiological and morphological differences between them, which lead to consider that they may be different varieties. The species belonging to the family Annonaceae Juss is native to the South American continent and presents great ecological and economic value. Thus, the objective of this work was to detect chemical differences between araticum de terra-fria and araticum mirim, which give support to distinguishing the different varieties of *A. emarginata*. The analysis of the differences of the chemical compounds was made from the quantification and profile of root alkaloids (acid/base method), and foliar volatile profile (HSPME), along with morphometric analysis of the leaf blade. The collections were carried out in three phenological stages (flowering, fructification and vegetative) and two places (Campos do Jordão - SP e São Bento do Sapucaí - SP). Araticum mirim presents a higher amount of total alkaloids and a higher concentration of liriodenine than araticum de terra-fria in both localities and in the three phenological stages. In the same way, differences in the composition of the alkaloids and leaf volatile profile were observed, as well as differences in the length x width ratio of the leaf blade, with the leaves of araticum de terra-fria” being larger in both variables. The results show that in addition to morphological variations, the specialized metabolism of root alkaloids and leaf volatiles may be chemocharacteristics that indicate the existence of two varieties, or at least two chemotypes of *A. emarginata*, being therefore the first report of the differences between araticum de terra-fria and mirim using chemophenetics.

Keywords: *Annona emarginata*; Annonaceae; chemophenetic varieties; alkaloids; volatile terpenes; chemical markers.

3.1.Introdução

Annona emarginata (Schltdl.) H. Rainer da família Annonaceae Juss., anteriormente classificada como *Rollinia emarginata* Schltdl. (Rainer, 2007), apresenta ocorrência em diversos países da América do sul, de onde é nativa (Maas et al., 2001). Apesar de ser classificada como única espécie, *A. emarginata* é popularmente conhecida como duas variedades, araticum de terra-fria e araticum mirim, com diferentes características morfológicas observadas no campo, como tamanho das folhas e a coloração e aroma das flores. Outras diferenças estão relacionadas à ocorrência dos araticuns conforme relatos de Bettioli Neto et al., (2006) nos quais o araticum de terra-fria tem ocorrência natural em locais de altitude elevada, estando mais adaptados a temperaturas baixas, já o araticum mirim apresenta ocorrência próxima a cursos de rio, estando adaptado a temperaturas mais elevadas.

A espécie apresenta importância em diferentes aspectos. No âmbito econômico é utilizada como porta-enxerto para a produção em larga escala de mudas de atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.), pois tanto o araticum de terra-fria quanto araticum mirim apresentam resistência a diversos patógenos que atacam a raiz e o colo da planta (Bettioli Neto et al., 2006), possuindo tolerância a solos secos (Mantoan et al., 2015) e diferentes adaptações ambientais (Bettioli Neto et al., 2006).

Para tentar comprovar as variações entre os araticuns diversos trabalhos têm sido realizados e se tem observado respostas fisiológicas distintas. Essas diferenças fisiológicas são detectadas entre as plantas não enxertadas de araticuns e também naquelas enxertadas, demonstrando que cada araticum pode provocar alterações distintas na copa do enxerto (por exemplo, da atemoia), entre elas diferenças nas trocas gasosas da fotossíntese, na absorção e acúmulo nutricional, na expressão enzimática durante o processo de restabelecimento após enxertia, no balanço hormonal e na aceitabilidade de enxerto (Baron et al., 2014; Bettioli Neto et al., 2006).

Além da sua importância aplicada a agricultura, a espécie produz metabólitos especializados de elevado interesse farmacológico como alcaloides, acetogeninas e terpenos voláteis, alguns deles com efeito comprovado contra cepas de *Leishmania* sp. e contra a forma sanguínea de *Tripanossoma cruzi* (Février et al., 1999), efeito antifúngico (Colom et al., 2007), e forte atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* (Dolab et al., 2018).

Neste contexto, embora haja indícios de que sejam espécies ou variedades distintas, há necessidade de maior aprofundamento nos estudos das diferenças entre os araticuns, a fim de que se esclareça a possibilidade de serem duas variedades de *A. emarginata*. Dentre os métodos de estudo para investigar essas diferenças, encontra-se o quimiosistemático.

A quimiosistemática tem sido a tentativa de classificar e identificar plantas e outros organismos, de acordo com as diferenças e semelhanças demonstráveis em suas composições bioquímicas (Reynolds, 2007; Wink et al., 2018). Essa utilidade desapareceu à medida que foi evidente que os caracteres quimiosistemáticos nas plantas são, como todos os outros caracteres fenéticos, afetados por fatores de estresse ecológico, sujeitos a fenômenos de evolução paralela (Wink, 2003; Zidorn, 2019). Ainda assim, na ausência de informações moleculares, os dados bioquímicos são valiosos, para complementar aos caracteres morfológicos que permitem distinguir táxons, como foi demonstrado por Vajda et al. (2017) que com dados quimiotaxonômicos das proporções de compostos alifáticos (alqueno/alcano) e cíclicos (aromáticos, fenólicos) contidos em amostras de cutículas de *Ginkgo* fóssil e moderno e de fósseis e coníferas modernas, puderam agrupar e elucidar as relações de plantas extintas, consistentes com as hipóteses de análises moleculares.

A quimiofenética de plantas é um termo que tem sido proposto recentemente para a exploração de arranjos característicos de metabólitos especializados de táxons de plantas. Os estudos quimiofenéticos são destinados a descrever o conjunto de metabólitos especializados num determinado táxon (Zidorn, 2019). Assim, os estudos quimiofenéticos contribuem para a descrição fenética dos táxons, semelhantes às abordagens anatômicas, morfológicas e cariológicas, e representam oportunidade para descrição de organismos classificados com a ajuda de métodos moleculares. Para tanto, os produtos do metabolismo especializado das plantas são utilizados como marcadores químicos, que amostram a expressão da individualidade de famílias, gêneros, espécies e variedades (Dewick, 2002).

A família Annonaceae apresenta diversidade desses compostos, principalmente flavonoides esteroides, óleos essenciais, acetogeninas e alcaloides (Fournier et al., 1999; Leboeuf et al., 1982; Lúcio et al., 2015). Os alcaloides que prevalecem no gênero *Annona* são os de estrutura benzilisoquinolínica provenientes dos aminoácidos tirosina e fenilalanina, entre eles os mais frequentes são liriodenina, anonaina e reticulina por isso são considerados como marcadores quimiotaxonômicos do gênero (Leboeuf et al., 1982). As raízes são geralmente as que acumulam maior quantidade alcaloides (De la Cruz et al., 2019). Por outro lado, as moléculas voláteis dependem do tecido estudado, as frutas e sementes contêm

principalmente hidrocarbonetos monoterpênicos; os óleos de folhas, hidrocarbonetos sesquiterpênicos; e óleos de casca e raízes, sesquiterpenos oxigenados (Fournier et al., 1999).

Os metabólitos especializados são moléculas envolvidas nos sinais responsáveis pela interação entre a planta e o ambiente (Laursen et al., 2015). Um ponto importante a ser destacado é que os metabólitos especializados podem ter sua produção influenciada por alguns fatores, como variações ambientais e os estádios fenológicos da planta (Carvalho et al., 2007; Yang et al., 2018). Tendo conhecimento desse fato, é essencial que os estudos quimiofenéticos, nesse caso as composições químicas dos araticuns de *A. emarginata*, sejam estudadas em diferentes condições ambientais e estádios fenológicos, para se confirmar que as diferenças encontradas não sejam atribuídas ao ambiente ou a fenologia (Hennebelle et al., 2006; Lukas et al., 2015; Wink et al., 2018).

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi analisar se ocorrem diferenças químicas e morfológicas que contribuam para a compreensão de argumentos para diferenciar araticum de terra-fria e araticum mirim como variedades quimiofenéticas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

Para isso foram analisados os alcaloides provenientes das raízes e os voláteis foliares, devido aos antecedentes da espécie, além de serem os tecidos onde maior número e quantidade de tais metabólitos têm sido isolados, o que também permite analisar a diversidade de rotas metabólicas. Os resultados químicos foram completados com os caracteres morfológicos que popularmente diferenciam as possíveis variedades, estruturas como folha e flor, levando em consideração aspectos como coloração, tamanho e forma.

3.2. Resultados

Os resultados encontrados a partir das variáveis estudadas contribuem para evidenciar que *Annona emarginata* (Schtdl.) H. Rainer tem duas variedades distinguidas por aspectos fitoquímicos e morfológicos.

3.2.1. Quantificação de alcaloides totais e liriodenina, e perfil dos extratos de alcaloides

Em relação à proporção de alcaloides totais nas raízes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, araticum mirim produz maior quantidade de compostos nitrogenados que araticum de terra-fria (Tabela 1), nas duas localidades estudadas (Campos do Jordão, SP e São

Bento do Sapucaí, SP). Esse comportamento pode ser observado nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Além do araticum mirim apresentar maior concentração de alcaloides totais que do terra-fria, observa-se que essas concentrações são maiores nos estádios fenológicos floração e vegetativo no município de Campos do Jordão.

Na floração do araticum mirim se observa maior concentração do alcaloide Liriodenina sem variações entre as localidades, em comparação com o terra-fria (Tabela 2). Ao se analisar a frutificação, a maior concentração de Liriodenina é encontrada também em araticum mirim, no entanto a maior produção é verificada nas plantas do município de Campos do Jordão.

No perfil de alcaloides foram analisados onze compostos nitrogenados. A análise de componentes principais (PCA) foi feita levando em consideração a porcentagem de presença e ausência dos compostos identificados (Figura 1). O alcaloide Lanulinosina é responsável por separar as amostras de araticum de terra-fria das duas localidades e dos três estádios fenológicos em um grupo. Os alcaloides N-Metil-Laurotetanina e Laurotetanina separam as amostras de araticum mirim das duas localidades e dos três estádios fenológicos no segundo grupo.

3.2.2. Perfil de Voláteis Foliare

Foram identificadas 41 substâncias voláteis nas folhas de plantas de *A. emarginata* em araticum de terra-fria e em araticum mirim, que correspondem aproximadamente a 94% das substâncias que compõem o perfil. O araticum de terra-fria é majoritariamente composto por substâncias da classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos, responsáveis por 52 - 65% da composição do perfil. O araticum mirim apresenta composição majoritária de substâncias pertencentes a classe dos monoterpenos, sendo os hidrocarbonetos responsáveis por 34 - 55% do perfil, e os oxigenados por 12 - 20% da composição do perfil. (Tabelas 3, 4 e 5).

A diferença da composição majoritária entre as variedades se mantém nas duas localidades e nos diferentes estádios fenológicos. Em relação às proporções relativas médias dos monoterpenos hidrocarbonetos, araticum mirim apresenta maior porcentagem relativa das substâncias Mirceno (12-14%), Limoneno (8 - 15 %) e α -Pineno (9 - 12 %). Araticum de terra-fria apresenta uma maior porcentagem relativa das substâncias α -Pineno (5 - 11 %) e Tujeno (3 - 11 %) (Tabela 6 e 10).

Quando observamos as proporções relativas médias de substâncias da classe dos monoterpenos oxigenados (Tabela 7 e 10), constata-se que araticum de terra-fria não apresenta proporção relativa abundante em nenhuma das substâncias identificadas. Araticum mirim apresenta expressiva porcentagem de Linalool, correspondendo a aproximadamente 10 – 16 % do perfil.

Os sesquiterpenos hidrocarbonetos (Tabela 8 e 10) apresentam proporção relativa média expressiva para araticum de terra-fria, principalmente a substância *E*-cariofileno, que representa de 13 - 27% do perfil, outras substâncias como α -selineno (5 – 17%) e β -elemeno (2 – 6%) também demonstram uma proporção relativa expressiva em araticum de terra-fria. Araticum mirim apresenta as substâncias *E*-cariofileno (6 - 10%), α -humuleno (6 -7%) e α -selineno (4 - 9%) como as mais abundantes da classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos.

O dendrograma de similaridade e a análise de componentes principais (PCA) foram feitos levando em consideração a proporção relativa dos voláteis foliares, identificados nos três estádios fenológicos e nas duas localidades estudadas.

De forma geral é possível identificar no dendrograma de similaridade (Figura 2) a formação de dois *clusters* distintos, onde no *cluster I* estão agrupadas as plantas coletadas de araticum mirim, nos três estádios fenológicos e nas duas localidades. No *cluster II* estão agrupadas as plantas coletadas de araticum de terra-fria, nos três estádios fenológicos e das duas localidades.

Na análise de componentes principais (figura 3), os componentes Tujeno, Mirceno, Linalool, β -elemeno, *E*-cariofileno, α -humuleno, Germacreno D e α -selineno são os responsáveis pela separação dos araticuns em grupos. Araticum mirim coletada nos três estádios fenológicos e nas duas localidades foi separada pelos monoterpenos Mirceno, Linalool e α -humuleno. Araticum de terra-fria coletada em São Bento do Sapucaí nos três estádios fenológicos foi separada pelos sesquiterpenos Tujeno, β -elemeno, Germacreno D e α -selineno. A proporção relativa média de *E*-cariofileno foi responsável por discriminar araticum de terra-fria em Campos do Jordão nos três estádios fenológicos.

3.2.3. Morfometria

Foi analisada a correlação entre as variáveis comprimento e largura das medições realizadas do limbo foliar de araticum de terra-fria e araticum mirim (Figura 4). É possível observar que as folhas têm correlação positiva forte pelo seu comportamento linear, de modo

que as folhas tendem a ter maior largura quando se tem maior comprimento. As folhas de araticum de terra-fria apresentam comprimento e largura maiores quando comparadas com folhas de araticum mirim. Pode-se observar também relação entre variedade e local.

Na Figura 5 observam-se algumas diferenças morfológicas entre ramos e folhas de araticum de terra-fria e araticum mirim, onde araticum de terra-fria apresenta folhas maiores, enquanto araticum mirim apresenta folhas menores. Araticum de terra-fria e araticum mirim possuem flores em tons amarelos e com tamanhos semelhantes. No entanto, foram observadas flores em tons de rosa apenas em araticum mirim nas duas localidades, Campos do Jordão e São Bento do Sapucaí (Figura 6 e 7).

3.3. Discussão

Os metabólitos especializados, como os alcaloides e os terpenos voláteis, estão presentes nas plantas de forma específica, o que permite demonstrar a individualidade de famílias, gêneros e até mesmo espécies, sendo então considerados como marcadores químicos (Dewick, 2002). A família Annonaceae apresenta grande diversidade metabólica, principalmente quanto a produção de alcaloides, apresentando alta porcentagem de produção dos alcaloides aporfínicos (González-Esquinca et al., 2014; Lúcio et al., 2015). O alcaloide oxoaporfínico mais presente na Annonaceae é a Liriodenina, registrado em mais de 250 espécies (De-la-Cruz-Chacón and González-Esquinca, 2012; González-Esquinca et al., 2014).

Pela forma e quantidade em que a liriodenina está presente nas anonáceas é considerada um dos principais marcadores químicos (Leboeuf et al., 1982). Deste modo, é essencial apontar que existem diferenças marcantes na sua proporção nas variedades de *Annona emarginata*, juntamente com o perfil de alcaloides, que demonstra que ambas variedades apresentam produção de todos os alcaloides estudados, porém as proporções de Lanulinosina, N-metil-laurotetanina e Laurotetanina são divergentes entre os araticuns.

Assim como os alcaloides, os perfis de voláteis foliares apresentam divergências entre os araticuns. O resultado encontrado para araticum de terra-fria onde os compostos majoritários sempre são os sesquiterpenos nos três estádios fenológicos em ambos os sítios de colheita, é corroborado por Campos et al. (2014), que encontraram em plantas jovens de araticum de terra-fria, coletado em 2012, porcentagem majoritária de sesquiterpenos, tendo como substância majoritária o composto *E*-cariofileno. Da mesma forma, recentemente Campos et al. (2019) observaram que os sesquiterpenos (particularmente cariofileno), mesmo

com variações intraespecíficas, se mantém como os componentes majoritários (até 80%) em plantas cultivadas com níveis diferentes de nitrogênio. O que demonstra, que o perfil é constante independente do momento da colheita, da época do ano e da influência de seu *habitat* (condições do solo e do clima).

Não foram encontrados na literatura relatos de compostos voláteis extraídos de araticum mirim. Neste estudo podemos observar que os compostos majoritários pertencem a classe dos monoterpenos, demonstrando que os dois araticuns tem ativas ambas as rotas de terpenos, porém com diferenças em número e abundância de terpenos produzidos. Em araticum mirim a rota *methylerythritol phosphate* (MEP) que ocorre nos plastídios, e que produz os monoterpenos, está mais altamente diversificada, sendo responsável pela maior parte do perfil, no entanto em araticum de terra-fria a rota do *mevalonic acid* (MVA) que ocorre no citosol é responsável principal pelo perfil, proporcionando sesquiterpenos que constituem cerca de 60% do perfil.

Desta forma as características químicas principais dos araticuns contribuem para diferenciar as duas variedades por sua quimiofenética (Tabela 10) o que também é evidenciado pela análise de agrupamento. Neste contexto este é o primeiro relato do uso de quimiofenética, especificamente alcaloides e voláteis foliares para diferenciar variedades de *Annona emarginata*. O único relato anterior encontrado com o gênero *Annona* foi o de Almeida et al. (2018) no qual foi demonstrada a eficácia do uso de flavonoides como marcadores quimiotaxonômicos do gênero *Annona*.

Os resultados deste trabalho estão de acordo com diversas outras pesquisas nas quais os marcadores químicos foram utilizados como ferramenta para auxiliar na classificação taxonômica em diversas espécies. O trabalho realizado por Lukas et al. (2015) é um exemplo da utilização de compostos químicos para auxílio na identificação taxonômica. No estudo foi utilizada a composição dos voláteis foliares de diferentes populações de *Origanum vulgare* L. para classificar diferentes subespécies, em conjunto com as diferenças morfológicas entre as populações. No trabalho realizado por Piva et al. (2019) foi demonstrada a eficiência no uso de monoterpenos como marcadores químicos para espécies do gênero *Protium*. Outro exemplo é o uso de alcaloides indólicos como marcadores químicos para espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae), no qual Pereira et al. (2007) relatam a funcionalidade do uso de alcaloides indólicos como marcadores quimiotaxonômicos do gênero, fato comprovado em diversos trabalhos que se utilizam dessa ferramenta para estudo de diferenciação de espécies do gênero *Aspidosperma* (Mitaine et al., 1996; Nunes et al., 1992). No trabalho realizado por

Máximo et al. (2006), relata-se o uso de alcaloides quinolizidínicos como marcadores quimiotaxonômicos para espécies do gênero *Ulex* L., o que permitiu a separação de cinco quimiotipos diferentes entre as dezenove populações estudadas.

Aspectos ambientais como radiação, temperatura, precipitação e condições do solo, influenciam a produção de metabólitos especializados, como descrito por Yang et al. (2018), assim como os diferentes estádios fenológicos também podem influenciar a produção destas substâncias químicas. Os metabólitos especializados representam uma ligação da planta com o ambiente, podendo ser alterado pela sazonalidade e fenologia (Carvalho et al., 2007; Lindroth et al., 1987). Pode-se observar que com araticum de terra-fria e araticum mirim as influências das variações ambientais e/ou estádios fenológicos foram minimizadas com as avaliações comparativas nos diferentes estádios fenológicos e em diferentes localidades, resultando em diferenças entre as variedades.

Neste contexto, os resultados encontrados nesse experimento demonstram que as diferenças químicas encontradas entre os araticuns não são ocasionadas pelas variações ambientais e fenológicas, uma vez que a diferença de concentração de alcaloides totais, concentração de liriodenina, perfil de alcaloides e proporção relativa média de substâncias voláteis entre araticum de terra-fria e araticum mirim se mantém, mesmo quando analisadas em diferentes estádios fenológicos e em diferentes condições ambientais.

O mesmo aspecto foi levado em conta para a avaliação das diferenças morfológicas entre araticum de terra-fria e araticum mirim. Segundo Júnior et al. (2017) os fatores ambientais como radiação solar, salinidade do solo e disponibilidade de água podem influenciar na morfologia das folhas, flores, raízes e demais tecidos vegetais. Neste trabalho podemos constatar diferenças entre araticum de terra-fria e araticum mirim analisando a relação morfométrica do comprimento e largura do limbo foliar, que demonstra uma correlação positiva entre as variáveis estudadas, sendo que araticum de terra-fria apresenta comprimento e largura maiores quando comparadas com araticum mirim em ambas as localidades. Esse resultado permite descartar a influência do ambiente na diferença morfométrica do limbo foliar, por apresentarem a mesma relação comprimento e largura dos araticuns nas duas localidades.

Tendo em vista as diferenças fitoquímicas destacadas entre araticum de terra-fria e araticum mirim, em relação a quantificação dos alcaloides totais e da liriodenina, e entre os perfis de alcaloides e de voláteis foliares, amparados pelas diferenças morfométricas do limbo

foliar e da coloração das flores, podemos indicar que araticum de terra-fria e araticum mirim tratam de diferentes variedades quimiofenéticas de *A. emarginata*.

3.4. Conclusão

Existem diferenças significativas entre araticum de terra-fria e araticum mirim, tanto em aspectos fitoquímicos como morfológicos que contribuem para sustentar a hipótese de que são variedades distintas.

3.5. Experimental

3.5.1. Delineamento experimental, material vegetal e coletas

O experimento foi realizado com esquema fatorial 2x2 (variedades x áreas de coleta). As plantas foram amostradas inteiramente ao acaso, com espaçamento mínimo de 2 metros, todas as plantas amostradas estavam na fase adulta, sendo provenientes de plantio por sementes de diferentes plantas mãe.

As áreas determinadas para a realização das coletas foram as seguintes, propriedade particular em Campos do Jordão – SP, e Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI) em São Bento do Sapucaí – SP. As plantas foram marcadas em campo e georreferenciadas com auxílio de GPS (GPSMAP®).

As coletas foram realizadas em três estádios fenológicos ao longo do ano, ocorrendo duas coletas no estágio reprodutivo (floração em dezembro de 2017, e frutificação em fevereiro de 2018), e uma no estágio vegetativo (junho de 2018) (Tabela 11).

O termo “variedades” refere-se às variações de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer comumente chamadas de araticum de terra-fria e araticum mirim. As áreas foram escolhidas por possuírem as duas ‘variedades’ a fim de que as observações fossem em relação às reações das ‘variedades’ quanto ao ambiente e seus estádios fenológicos.

A cada período determinado foram coletadas amostras de raiz e folhas de araticum de terra-fria e araticum mirim [*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer] pra extração e quantificação de alcaloides e de voláteis foliares, respectivamente. Foram utilizadas 25 plantas de Araticum de Terra fria e 25 de Araticum Mirim na área de Campos do Jordão – SP, e a mesma proporção na área de São Bento do Sapucaí - SP, totalizando 100 plantas.

3.5.2. Análises quantitativas e qualitativas dos extratos de alcaloides

Para a obtenção dos extratos de alcaloides totais foram utilizadas em cada estágio fenológico 25 plantas de cada variedade em cada localidade, totalizando 100 plantas por estágio, obtendo-se por amostra aproximadamente 5g de massa seca de casca de raiz. As amostras foram secas em estufa de aeração forçada, a temperatura constante de 30°C, até obtenção da matéria seca constante. Posteriormente as amostras foram maceradas com auxílio de moinho mecânico. A extração foi realizada pelo método ácido-base (De-la-Cruz-Chacón et al., 2011; De-la-Cruz-Chacón and González-Esquinca, 2012).

Os extratos foram armazenados em ambiente escuro até a quantificação dos alcaloides totais em espectrofotômetro com absorvância a 254 nm. Também foram quantificados, individualmente, a liriodenina com auxílio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (UHPLC Focused Thermo Fisher-Scientific), dado que é considerado um marcador quimiotaxonômico da família, assim como obtenção do número de substâncias do perfil de alcaloides.

Para a análise de cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada bomba gradiente e detector UVVIS com o uso de coluna de fase reversa C18 (150 x 4,6mm e diâmetro de partícula de 5µm). A fase móvel foi gradiente, composta por água (pH 3.5 com ácido acético) e metanol 30:70, com velocidade de fluxo de 1mm/min. Temperatura da coluna mantida em 30°C. A detecção foi realizada em UV a 280 nm.

Para a quantificação da liriodenina foram realizadas curvas de calibração mediante a análise de série de soluções estoque. A identificação dos alcaloides Norpredicentina, N-Metil-Laurotetanina, Norglaucina, Discretina, Xilopinina, Xilopina, Assimilobina, Laurotetanina, Oxoglaucina e Lanulinosina também foram realizados em comparação com os padrões fornecidos por Emmanoel Vilaça Costa e Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida (Sousa et al., 2019).

3.5.3. Análises qualitativas de voláteis foliares

Para a obtenção do perfil de voláteis foliares foram coletadas em cada estágio fenológico 25 plantas de cada variedade em cada localidade, totalizando 100 plantas, dentre essas amostras coletadas foram escolhidas, de forma inteiramente casualizado, três plantas de cada variedade em cada localidade. Foram utilizadas 0,250 g de folhas secas, o material vegetal foi seco em estufa de aeração forçada, a temperatura constante de 30°C até obtenção de matéria seca constante.

Foi realizada a captura dos voláteis por meio de microextração em fase sólida em modo headspace (HS-SPME) com: SPME Fiber Assembly 75 um Carboxen TM-PDMS for Manual Holder-SUPELCO. A composição química dos componentes voláteis extraídos das folhas foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), em equipamento Shimadzu modelo QP-5000 dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e gás de arraste Hélio (fluxo 1,0 mL min⁻¹) (Campos et al., 2019). A identificação das substâncias foi realizada através da comparação dos espectros de massas encontrados com os do banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 Libr.), determinando-se o índice de retenção calculado (IRC), comparando os mesmos com a literatura (Adams, 2017).

3.5.4. Morfometria

Para as análises morfológicas foi realizada confecção de exsicatas, sendo uma de cada “variedade” em cada localidade, estão depositadas no herbário BOTU “Herbário Irina Delanova Gemtchujnicov”, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, com os códigos 33118, 33119, 33120, 33121. Foram fotografadas e analisadas características das flores da plantas assim como foram fotografados os ramos para análise de diferenças visuais.

Foi realizada a morfometria das folhas, onde se mediu a relação comprimento x largura do limbo foliar com auxílio de paquímetro, foram utilizadas 25 plantas de cada variedade em cada localidade, totalizando 100 plantas no estágio vegetativo, dessas foram utilizadas três folhas por planta para as medições, totalizando 300 folhas.

3.5.5. Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. A análise de componentes principais (PCA) e o dendrograma hierárquico foram realizados com os dados da proporção de presença e ausência do perfil de alcaloides, e da proporção relativa média de substâncias voláteis (> 2%) (software PAST 3.22 v.2018 HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., 2001).

Os dados da morfometria foram submetido a ANOVA de dois fatores multivariada para averiguar efeito de local e de variedade nas variáveis comprimento e largura das folhas, considerando a correlação entre estas variáveis (software PAST 3.22 v.2018 HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., 2001).

3.6. Agradecimento

A Coordenação de Aprfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor.

3.7. Referências

- Adams, R.P., 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Carol Stream Allured Publ. Corp. 804.
- Almeida, A.S. de, Santos, A.F. dos, 2018. Flavonoides do Gênero *Annona*. Divers. J. 3, 475. <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v3i2.583>
- Baron, D., Ferreira, G., Rodrigues, J.D., Macedo, A.C., Amaro, A.C.E., 2014. Gas exchanges in annonaceae species under different crop protections. Rev. Bras. Frutic. 36, 243–250. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500028>
- Bettioli Neto, J.E., Pio, R., Bueno, S.C.S., Bastos, D.C., Scarpate Filho, J.A., 2006. Enraizamento de estacas dos porta-enxertos Araticum-de-Terra-Fria (*Rollinia* sp.) e Araticum-Mirim (*Rollinia emarginata* Schltdl.) para anonáceas. Ciência e Agrotecnologia 30, 1077–1082. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000600005>
- Campos, F.G., Baron, D., Marques, M.O.M., Ferreira, G., Boaro, C.S.F., 2014. Characterization of the chemical composition of the essential oils from *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer “terra-fria” and *Annona squamosa* L. Rev. Bras. Frutic. 36, 202–208. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500024>
- Campos, F.G., Vieira, M.A.R., Santos, A.A. Dos, Jorge, L.G., Marques, M.O.M., Boaro, C.S.F., 2019. Chemical Diversity of Volatiles From Parents, Rootstock and Atemoya Hybrid. J. Agric. Sci. 11, 271. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n4p271>
- Carvalho, A.P.F., Bustamante, M.M.C., Kozovits, A.R., Asner, G.P., 2007. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. Rev. Bras. Botânica 30, 19–27. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042007000100003>
- Colom, O.A., Popich, S., Bardon, A., 2007. Bioactive constituents from *Rollinia emarginata* (Annonaceae). Nat. Prod. Res. 21, 254–259. <https://doi.org/10.1080/14786410500462819>
- De-la-Cruz-Chacón, I., González-Esquinca, A.R., 2012. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. Nat. Prod. Res. 26, 42–49. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.533373>
- De-la-Cruz-Chacón, I., González-Esquinca, A.R., Fefer, P.G., Garcia, L.F.J., 2011.

- Liriodenine, Early Antimicrobial Defence in *Annona diversifolia*. *Zeitschrift für Naturforsch. C* 66, 377–384. <https://doi.org/10.1515/znc-2011-7-809>
- De-la-Cruz-Chacón, I., Riley-Saldaña, C.A., Arrollo-Gómez, S., Sancristóbal-Domínguez, T.J., Castro-Moreno, M., González-Esquinca, A.R., 2019. Spatio-Temporal Variation of Alkaloids in *Annona purpurea* and the Associated Influence on Their Antifungal Activity. *Chem. Biodivers.* 16. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800284>
- Dewick, P.M., 2002. Secondary Metabolism: The Building Blocks and Construction Mechanisms, in: *Medicinal Natural Products*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 7–34. <https://doi.org/10.1002/0470846275.ch2>
- Dolab, J.G., Lima, B., Spaczynska, E., Kos, J., Cano, N.H., Feresin, G., Tapia, A., Garibotto, F., Petenatti, E., Olivella, M., Musiol, R., Jampilek, J., Enriz, R.D., 2018. The antimicrobial activity of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer and most active isolated compounds against clinically important bacteria. *Molecules* 23, 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules23051187>
- Février, A., Ferreira, M.E., Fournet, A., Yaluff, G., Inchausti, A., de Arias, A.R., Hocquemiller, R., Waechter, A.-I., 1999. Acetogenins and Other Compounds from *Rollinia emarginata* and Their Antiprotozoal Activities. *Planta Med.* 65, 047–049. <https://doi.org/10.1007/BF01044658>
- Fournier, G., Leboeuf, M., Cavé, A., 1999. Annonaceae essential oils: A review. *J. Essent. Oil Res.* 11, 131–142. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9701092>
- González-Esquinca, A.R., De-la-Cruz-Chacón, I., Castro-Moreno, M., Orozco-Castillo, J.A., Riley-Saldaña, C.A., 2014. Alkaloids and acetogenins in Annonaceae development: biological considerations. *Rev. Bras. Frutic.* 36, 01–16. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500001>
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P.D.R., 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron.* <https://doi.org/10.1093/cid/ciq238>
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Dermont, C., Joseph, H., Bailleul, F., 2006. The Essential Oil of *Lippia alba*: Analysis of Samples from French Overseas Departments and Review of Previous Works. *Chem. Biodivers.* 3, 1116–1125. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200690113>
- Júnior, N.G.R., Da Silva, I.V., De Araújo, C.F., De Souza Fagundes, O., Gervazio, W., 2017. Anatomia e morfometria de raízes e folhas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em diferentes estádios de acometimento da síndrome da morte das pastagens. *Iheringia - Ser. Bot.* 72, 127–132. <https://doi.org/10.21826/2446-8231201772111>

- Laursen, T., Møller, B.L., Bassard, J.E., 2015. Plasticity of specialized metabolism as mediated by dynamic metabolons. *Trends Plant Sci.* 20, 20–32. <https://doi.org/10.1177/0886260515570753>
- Leboeuf, M., Cavé, A., Bhaumik, P.K., Mukherjee, B., Mukherjee, R., 1982. THE PHYTOCHEMISTRY OF THE ANNONACEAE. *Phytochemistry* 21, 2783–2813. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85046-1](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(80)85046-1)
- Lindroth, R.L., Hsia, M.T.S., Scriber, J.M., 1987. Seasonal patterns in the phytochemistry of three *Populus* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 15, 681–686. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(87\)90046-9](https://doi.org/10.1016/0305-1978(87)90046-9)
- Lúcio, A.S.S.C., Almeida, J.R.G. da S., da-Cunha, E.V.L., Tavares, J.F., Barbosa Filho, J.M., 2015. Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation of Their Biological Activities, Alkaloids: Chemistry and Biology. <https://doi.org/10.1016/bs.alkal.2014.09.002>
- Lukas, B., Schmiderer, C., Novak, J., 2015. Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry* 119, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.09.008>
- Maas, P.J.M., Kamer, H.M. de, Junikka, L., Mello-silva, R. De, Rainer, H., 2001. Annonaceae from Central-eastern Brazil. *Rodriguésia* 52, 65–98. <https://doi.org/10.2307/23496938>
- Mantoan, L.P.B., Ferreira, G., Boaro, C.S.F., 2015. Chlorophyll a fluorescence in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer plants subjected to water stress and after rehydration. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 184, 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.12.019>
- Máximo, P., Lourenço, A., Tei, A., Wink, M., 2006. Chemotaxonomy of Portuguese *Ulex*: Quinolizidine alkaloids as taxonomical markers. *Phytochemistry* 67, 1943–1949. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.037>
- Mitaine, A.-C., Mesbah, K., Richard, B., Petermann, C., Arrazola, S., Moretti, C., Zèches-Hanrot, M., Men-Olivier, L., 1996. Alkaloids from *Aspidosperma* Species from Bolivia. *Planta Med.* 62, 458–461. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957939>
- Nunes, D.S., Koike, L., Taveira, J.J., de A.M. Reis, F., 1992. Indole alkaloids from *Aspidosperma pruinosum*. *Phytochemistry* 31, 2507–2511. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83311-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83311-L)
- Pereira, M. de M., Jácome, R., Alcântara, A.F. de C., Alves, R.B., Raslan, D.S., 2007. ALCALÓIDES INDÓLICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Aspidosperma* (APOCYNACEAE). *Quim Nov.* 30, 970–983. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400037>

- Piva, L.R. d. O., Jardine, K.J., Gimenez, B.O., de Oliveira Perdiz, R., Menezes, V.S., Durgante, F.M., Cobello, L.O., Higuchi, N., Chambers, J.Q., 2019. Volatile monoterpene ‘fingerprints’ of resinous *Protium* tree species in the Amazon rainforest. *Phytochemistry* 160, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.01.014>
- Rainer, H., 2007. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A. S T. -H IL. Arbeit 191–206.
- Reynolds, T., 2007. The evolution of chemosystematics. *Phytochemistry* 68, 2887–2895. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.06.027>
- Sousa, M.C., Bronzatto, A.C., González-Esquinca, A.R., Campos, F.G., Dalanhol, S.J., Boaro, C.S.F., Martins, A.L., da Silva Almeida, J.R.G., Costa, E.V., De-la-Cruz-Chacón, I., Ferreira, G., 2019. The production of alkaloids in *Annona cacans* seedlings is affected by the application of GA 4+7 + 6-Benzyladenine. *Biochem. Syst. Ecol.* 84, 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.03.007>
- Vajda, V., Pucetaite, M., McLoughlin, S., Engdahl, A., Heimdal, J., Uvdal, P., 2017. Molecular signatures of fossil leaves provide unexpected new evidence for extinct plant relationships. *Nat. Ecol. Evol.* 1, 1093–1099. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0224-5>
- Wink, M., 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64, 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5)
- Wink, M., Botschen, F., Gosmann, C., Schäfer, H., Waterman, P.G., 2018. Chemotaxonomy Seen from a Phylogenetic Perspective and Evolution of Secondary Metabolism, *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism: Second Edition*. <https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch7>
- Yang, L., Wen, K.S., Ruan, X., Zhao, Y.X., Wei, F., Wang, Q., 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules* 23, 1–26. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- Zidorn, C., 2019. Plant chemophenetics – A new term for plant chemosystematics/plant chemotaxonomy in the macro-molecular era. *Phytochemistry* 163, 147–148. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.02.013>

3.8. Tabelas e Figuras

Tabela 1: Concentração alcaloides totais ($\mu\text{g/g}$ de massa seca) extraídos das raízes de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Concentração de Alcaloides Totais ($\mu\text{g.g}$)						
	Floração		Frutificação		Vegetativo	
	C. Jordão	S. B. Sapucaí	C. Jordão	S. B. Sapucaí	C. Jordão	S. B. Sapucaí
Terra-Fria	245,28 - Ba	229,47 - Bb	113,68 - Ba	118,59 - Ba	230,25 - Ba	177,12 - Bb
Mirim	401,77 - Aa	304,20 - Ab	188,36 - Aa	165,93 - Aa	256,24 - Aa	205,79 - Ab
	P<0,001 f= 30,424		P<0,001 f=31,912		P=0,042 f= 4,252	
	C.V.(%) = 47,61		C.V.(%) = 42,23		C.V.(%) = 40,77	

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades (coluna) e minúscula comparando as localidades (linha), não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2: Concentração Liriodenina ($\mu\text{g/g}$ de massa seca) extraído das raízes de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Concentração de Liriodenina ($\mu\text{g.g}^{-1}$ MS)						
	Frutificação		Floração		Vegetativo	
	C. Jordão	S. B. Sapucaí	C. Jordão	S. B. Sapucaí	C. Jordão	S. B. Sapucaí
Terra Fria	462,56 - Ba	407,54 - Aa	67,26 - B	106,53 - B	238,36 - a	158,69 - b
Mirim	708,41 - Aa	408,22 - Ab	133,05 - A	133,65 - A	173,59 - a	163,94 - b
	P=0,025 f= 5,196		P<0,001 f=17,403		P=0,052 f=3,911	
	C.V.(%) = 53,75		C.V.(%) = 50,74		C.V.(%) = 57,51	

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades (coluna) e minúscula comparando as localidades (linha), não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3: Média da proporção relativa das substâncias voláteis identificados em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí no estágio fenológico de floração.

Substâncias	IRC	IRL	Campos do Jordão		São Bento do Sapucaí	
			Terra Fria	Mirim	Terra Fria	Mirim
Heptanal	896	902	0,00	0,37	0,00	0,30
Tujeno	920	930	3,20	0,26	9,60	0,59
α -pineno	927	939	8,11	8,70	8,57	11,97
canfreno	941	954	0,88	0,00	1,39	0,00
sabineno	966	975	0,42	0,00	1,26	0,00
β -pineno	970	979	3,37	3,23	2,77	4,95
Mirceno	986	990	1,55	13,20	0,86	12,71
N-octanal	998	998	0,00	0,07	0,00	0,23
Cis-dehidróxi-óxido de linalool	1003	1008	0,13	0,58	0,00	0,21
α -terpineno	1013	1017	0,13	0,30	0,00	0,28
<i>p</i> -cimeno	1020	1024	2,47	0,79	1,15	1,54
Limoneno	1025	1029	10,45	7,95	6,84	11,56
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1032	1037	0,53	2,74	0,71	1,66
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1032	1037	0,00	4,14	0,00	2,02
γ -terpineno	1053	1059	0,27	0,35	0,35	0,40
Terpinoleno	1084	1088	0,37	1,65	0,00	1,26
Linalool	1095	1096	1,14	9,99	0,64	15,26
N-nonanal	1100	1100	0,00	0,73	0,00	0,75
Terpinen-4-ol	1171	1177	0,13	0,20	0,00	0,12
α -terpineol	1185	1188	0,28	2,40	0,15	2,92
Nerol	1222	1229	0,00	0,08	0,00	0,12
Geraniol	1248	1252	0,00	0,25	0,00	0,25
α -cubebeno	1343	1351	1,14	0,00	0,55	0,00
α -copaeno	1369	1376	2,77	0,48	2,61	0,62
β -bourboneno	1378	1388	0,73	0,00	0,55	0,00
β -elemeno	1386	1390	2,05	1,64	7,22	0,15
<i>Z</i> -cariofileno	1399	1408	0,34	0,00	0,31	0,00
<i>E</i> -cariofileno	1416	1419	27,31	7,33	13,05	7,29
β -copaeno	1421	1432	0,86	0,00	0,44	0,00
β -gurjuneno	1431	1433	1,87	3,83	3,41	2,56
α -humuleno	1449	1454	4,46	6,17	1,83	7,35
allo-aromadendreno	1452	1460	0,00	0,70	0,00	0,38
γ -gurjuneno	1468	1466	1,93	1,57	1,50	1,06
Germacrene D	1472	1481	1,75	0,00	5,94	0,00
β -selineno	1477	1490	4,78	7,03	6,29	1,15
α -selineno	1486	1482	7,32	7,88	10,92	4,23

α -muuroleno	1491	1500	0,80	0,00	0,94	0,00
germacreno A	1495	1509	0,81	0,00	1,30	0,00
γ -cadineno	1504	1513	1,04	0,00	1,21	0,00
δ -cadineno	1513	1523	3,00	0,85	2,58	1,19
Espatuleno	1571	1578	1,39	1,06	0,29	1,04
Total Identificado			97,82	96,53	95,25	96,09
Monoterpenos Hidrocarbonetos			31,76 - B	43,31 - A	48,92 - B	33,49 - A
Monoterpenos Oxigenados			1,68 - B	13,50 - A	0,79 - B	18,87 - A
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			62,97 - A	37,49 - B	60,66 - A	25,97 - B
Outras classes			1,39 - B	2,22 - A	0,29 - B	2,31 - A

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades na coluna, não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4: Média da proporção relativa das substâncias voláteis identificados em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí no estágio fenológico de Frutificação.

Substancias	IRC	IRL	Campos do Jordão		São Bento do Sapucaí	
			Terra Fria	Mirim	Terra Fria	Mirim
Heptanal	896	902	0,00	0,00	0,00	0,23
Tujeno	920	930	4,05	0,39	10,50	0,70
α -pineno	927	939	9,76	10,93	11,39	11,09
Canfreno	941	954	0,63	0,00	0,96	0,00
Sabineno	966	975	0,53	0,00	1,47	0,00
β -pineno	970	979	3,82	4,81	4,11	5,14
Mirceno	986	990	1,78	12,58	1,63	13,73
N-octanal	998	998	0,00	0,00	0,00	0,19
Cis-dehidróxi-óxido de linalool	1003	1008	0,33	0,70	0,29	0,61
α -terpineno	1013	1017	0,41	0,41	0,00	0,44
<i>p</i> -cimeno	1020	1024	3,35	1,09	0,80	2,39
Limoneno	1025	1029	10,60	9,63	7,88	14,78
(Z)- β -ocimeno	1032	1037	0,00	2,14	0,77	1,92
(E)- β -ocimeno	1032	1037	0,00	3,00	0,00	2,59
γ -terpineno	1053	1059	0,44	0,34	0,45	0,41
Terpinoleno	1084	1088	0,40	1,64	0,45	1,52
Linalool	1095	1096	0,71	9,54	1,18	9,50
N-nonanal	1100	1100	0,00	0,59	0,00	0,68
Terpinen-4-ol	1171	1177	0,00	0,00	0,00	0,08
α -terpineol	1185	1188	0,19	1,42	0,32	1,55
Nerol	1222	1229	0,00	0,00	0,00	0,00
Geraniol	1248	1252	0,00	0,00	0,00	0,00

α -cubebeno	1343	1351	0,94	0,00	0,42	0,00
α -copaeno	1369	1376	2,81	0,45	2,67	0,95
β -bourboneno	1378	1388	0,68	0,00	0,35	0,00
β -elemeno	1386	1390	3,09	2,37	7,91	0,35
Z-cariofileno	1399	1408	0,00	0,00	0,31	0,00
E-cariofileno	1416	1419	26,53	6,15	16,94	6,79
β -copaeno	1421	1432	0,77	0,00	0,51	0,00
β -gurjuneno	1431	1433	1,38	2,80	1,81	2,84
α -humuleno	1449	1454	3,74	5,49	2,09	7,10
allo-aromadendreno	1452	1460	0,00	0,63	0,00	0,49
γ -gurjuneno	1468	1466	1,48	1,63	0,78	1,25
Germacrene D	1472	1481	2,50	0,00	2,56	0,00
β -selineno	1477	1490	5,33	6,94	4,67	1,26
α -selineno	1486	1482	4,78	8,72	9,19	4,06
α -muuroleno	1491	1500	0,78	0,00	0,64	0,00
germacreno A	1495	1509	0,42	0,00	1,04	0,00
γ -cadineno	1504	1513	0,92	0,00	0,56	0,00
δ -cadineno	1513	1523	2,49	0,97	1,63	1,71
Espatulenol	1571	1578	0,87	0,63	0,17	0,66
Total Identificado			96,517	95,99	96,463	94,89
Monoterpenos Hidrocarbonetos			35,77 - B	46,95 - A	40,41 - B	54,70 - A
Monoterpenos Oxigenados			1,22 - B	11,66 - A	1,79 - B	11,73 - A
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			58,64 - A	36,14 - B	54,08 - A	26,68 - B
Outras classes			0,87 - B	1,22 - A	0,17 - B	1,76 - A

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades e minúscula comparando as localidades na coluna, não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 5: Média da proporção relativa das substâncias voláteis identificados em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí no estágio fenológico vegetativo.

Substancias	IRC	IRL	Campos do Jordão		São Bento do Sapucaí	
			Terra Fria	Mirim	Terra Fria	Mirim
Heptanal	896	902	0,00	0,13	0,00	0,15
Tujeno	920	930	5,54	0,36	11,18	0,49
α -pineno	927	939	9,47	8,52	8,04	8,21
canfreno	941	954	0,97	0,00	1,05	0,00
sabineno	966	975	0,76	0,00	1,44	0,00
β -pineno	970	979	5,04	4,68	2,06	5,20
Mirceno	986	990	1,62	13,97	1,01	14,25
N-octanal	998	998	0,00	0,00	0,00	0,00
Cis-dehidróxi-óxido de linalool	1003	1008	0,00	1,29	0,20	0,31

α -terpineno	1013	1017	0,13	0,53	0,00	0,19
<i>p</i> -cimeno	1020	1024	0,83	1,28	1,37	0,96
Limoneno	1025	1029	15,24	9,28	3,45	9,60
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1032	1037	0,13	2,98	0,00	2,40
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1032	1037	0,00	3,95	0,00	3,55
γ -terpineno	1053	1059	0,26	0,60	0,16	0,20
Terpinoleno	1084	1088	0,60	1,90	0,28	1,34
Linalool	1095	1096	1,88	14,83	0,34	11,93
N-nonanal	1100	1100	0,00	0,67	0,00	0,63
Terpinen-4-ol	1171	1177	0,00	0,11	0,00	0,00
α -terpineol	1185	1188	0,78	3,12	0,00	1,77
Nerol	1222	1229	0,00	0,27	0,00	0,09
Geraniol	1248	1252	0,00	0,43	0,00	0,11
α -cubebeno	1343	1351	0,59	0,00	0,68	0,00
α -copaeno	1369	1376	0,62	0,28	3,87	0,86
β -bourboneno	1378	1388	0,53	0,00	1,07	0,00
β -elemeno	1386	1390	1,57	0,40	9,53	0,48
<i>Z</i> -cariofileno	1399	1408	0,61	0,00	0,33	0,00
<i>E</i> -cariofileno	1416	1419	23,54	8,06	14,27	10,04
β -copaeno	1421	1432	0,64	0,00	0,43	0,00
β -gurjuneno	1431	1433	1,81	4,92	2,93	3,43
α -humuleno	1449	1454	3,79	5,79	1,78	7,38
allo-aromadendreno	1452	1460	0,00	0,56	0,00	0,59
γ -gurjuneno	1468	1466	1,12	0,73	1,04	1,64
Germacrene D	1472	1481	2,74	0,00	4,76	0,00
β -selineno	1477	1490	1,59	1,38	1,89	1,16
α -selineno	1486	1482	8,81	0,42	16,92	5,78
α -muuroleno	1491	1500	0,41	0,00	1,06	0,00
germacreno A	1495	1509	1,85	0,00	0,92	0,00
γ -cadineno	1504	1513	0,53	0,00	0,83	0,00
δ -cadineno	1513	1523	1,62	0,88	2,34	1,97
Espatuleno	1571	1578	0,55	0,71	0,00	0,35
Total Identificado			96,177	96,46	95,23	95,08
Monoterpenos Hidrocarbonetos			40,58 - B	48,05 - A	30,05 - B	46,39 - A
Monoterpenos Oxigenados			2,66 - B	20,04 - A	0,54 - B	14,21 - A
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			52,38 - Ab	26,84 - Bb	64,64 - Aa	33,33 - Ba
Outras classes			0,54 - Ba	1,51 - Aa	0,00 - Bb	1,13 - Ab

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades e minúscula comparando as localidades na coluna, não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6 – Proporção relativa média de substâncias voláteis da classe dos Monoterpenos Hidrocarbonetos, encontradas em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Monoterpenos Hidrocarbonetos						
	Floração		Frutificação		Vegetativo	
	C. Jordão	S. B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí
Tujeno						
Terra Fria	3,20 - A	9,60 - A	4,05 - A	10,49 - A	5,54 - A	11,18 - A
Mirim	0,26 - B	0,59 - B	0,39 - B	0,70 - B	0,36 - B	0,49 - B
Canfreno						
Terra Fria	0,88 - A	1,39 - A	0,62	0,96	0,97 - A	1,05 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00	0,00	0,00 - B	0,00 - B
Sabineno						
Terra Fria	0,42 - A	1,26 - A	0,53 - A	1,47 - A	0,76 - A	1,44 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
Mirceno						
Terra Fria	1,55 - B	0,86 - B	1,77 - B	1,62 - B	1,61 - B	1,01 - B
Mirim	13,20 - A	12,71 - A	12,58 - A	13,72 - A	13,97 - A	14,25 - A
α-terpineno						
Terra Fria	0,13	0,00	0,40	0,00	0,12 - B a	0,00 - B b
Mirim	0,30	0,27	0,41	0,44	0,53 - A a	0,20 - A b
<i>p</i>-cimeno						
Terra Fria	2,47	1,15	3,35 - Aa	0,80 - Bb	0,82	1,36
Mirim	0,79	1,53	1,08 - Ba	2,39 - Aa	1,28	0,96
Limoneno						
Terra Fria	10,45	6,84	10,59	7,88	15,24 - Aa	3,45 - Bb
Mirim	7,95	11,56	9,63	14,78	9,28 - Aa	9,59 - Aa
(Z)-β-ocimeno						
Terra Fria	0,53	0,71	0,00 - B	0,76 - B	0,13 - B	0,00 - B
Mirim	2,74	1,66	2,14 - A	1,92 - A	2,98 - A	2,40 - A
(E)-β-ocimeno						
Terra Fria	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
Mirim	4,13 - A	2,01 - A	2,99 - A	2,58 - A	3,94 - A	3,55 - A
Terpinoleno						
Terra Fria	0,37 - B	0,00 - B	0,40 - B	0,45 - B	0,60 - B	0,28 - B
Mirim	1,65 - A	1,26 - A	1,64 - A	1,52 - A	1,90 - A	1,33 - A

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades (coluna) e minúscula comparando as localidades (linha), não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 7: Proporção relativa média de substâncias voláteis $\geq 2\%$ da classe dos Monoterpenos Oxigenados, encontradas em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Monoterpenos Oxigenados						
	Floração		Frutificação		Vegetativo	
	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí
Cis-dehidróxi-óxido de linalool						
Terra Fria	0,13 - B	0,00 - B	0,32	0,28	0,00 - B	0,20 - B
Mirim	0,58 - A	0,20 - A	0,70	0,61	1,29 - A	0,31 - A
Linalool						
Terra Fria	1,14 - B	0,64 - B	0,70 - B	1,18 - B	1,88 - B	0,34 - B
Mirim	9,98 - A	15,26 - A	9,54 - A	9,50 - A	14,82 - A	11,92 - A
α-terpineol						
Terra Fria	0,28 - B	0,15 - B	0,19 - B	0,32 - B	0,78 - B	0,00 - B
Mirim	2,40 - A	2,91 - A	1,42 - A	1,54 - A	3,11 - A	1,77 - A
Geraniol						
Terra Fria	0,00 - B	0,00 - B	0,00	0,00	0,00	0,00
Mirim	0,25 - A	0,25 - A	0,00	0,00	0,42	0,11

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades (coluna) e minúscula comparando as localidades (linha), não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8: Proporção relativa média de substâncias voláteis $\geq 2\%$ da classe dos Sesquiterpenos Hidrocarbonetos, encontradas em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Sesquiterpenos Hidrocarbonetos						
	Floração		Frutificação		Vegetativo	
	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí
α-cubebeno						
Terra Fria	1,14 - A	0,55 - A	0,94 - A	0,42 - A	0,59 - A	0,68 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
α-copaeno						
Terra Fria	2,76 - A	2,61 - A	2,81	2,67	0,61 - A b	3,87 - A a
Mirim	0,48 - B	0,62 - B	0,45	0,95	0,28 - A b	0,86 - A a
β-bourboneno						
Terra Fria	0,73 - A	0,55 - A	0,68 - A	0,35 - A	0,52 - A	1,06 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B

		β-elemeno				
Terra Fria	2,04	7,22	3,09 - A	7,90 - A	1,56 - A	9,52 - A
Mirim	1,63	0,15	2,37 - B	0,35 - B	0,40 - B	0,48 - B
		Z-cariofileno				
Terra Fria	0,34	0,31	0,00	0,31	0,61 - A	0,33 - A
Mirim	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 - B	0,00 - B
		E-cariofileno				
Terra Fria	27,30 - Aa	13,05 - Ab	26,52 - A	16,94 - A	23,54 - A	14,26 - A
Mirim	7,33 - Ba	7,28 - Aa	6,14 - B	6,79 - B	8,06 - B	10,03 - B
		β-copaeno				
Terra Fria	0,86 - A	0,43 - A	0,77 - A	0,51 - A	0,63 - A	0,42 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
		α-humuleno				
Terra Fria	4,46 - B	1,82 - B	3,73 - B	2,09 - B	3,79 - B	1,78 - B
Mirim	6,17 - A	7,35 - A	5,49 - A	7,10 - A	5,79 - A	7,38 - A
		allo-aromadendreno				
Terra Fria	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
Mirim	0,70 - A	0,38 - A	0,63 - A	0,49 - A	0,55 - A	0,59 - A
		Germacrene D				
Terra Fria	1,75 - A	5,94 - A	2,50 - A	2,56 - A	2,74 - A	4,76 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
		α-selineno				
Terra Fria	7,32	10,92	4,78	9,19	8,81 - A	16,91 - A
Mirim	7,88	4,23	8,72	4,06	4,02 - B	5,78 - B
		α-muuroleno				
Terra Fria	0,80 - A	0,94 - A	0,77 - A	0,64 - A	0,41 - A	1,06 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
		Germacrene A				
Terra Fria	0,81 - A	1,30 - A	0,42 - A	1,04 - A	1,85 - A	0,91 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
		γ-cadineno				
Terra Fria	1,04 - A	1,21 - A	0,92 - A	0,55 - A	0,53 - A	0,82 - A
Mirim	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
		δ-cadineno				
Terra Fria	3,00 - A	2,57 - A	2,49	1,63	1,62	2,34
Mirim	0,85 - B	1,19 - B	0,97	1,71	0,88	1,97

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades (coluna) e minúscula comparando as localidades (linha), não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9: Proporção relativa média de substâncias voláteis $\geq 2\%$ pertencente a outras classes, encontradas em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” Araticum de terra-fria e “var.” Araticum Mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

Outras classes						
	Floração		Frutificação		Vegetativo	
	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí	C. Jordão	S.B. Sapucaí
Heptanal						
Terra Fria	0,00 - B	0,00 - B	0,00	0,00	0,00	0,00
Mirim	0,37 - A	0,30 - A	0,00	0,23	0,13	0,15
N-nonanal						
Terra Fria	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B	0,00 - B
Mirim	0,73 - A	0,75 - A	0,59 - A	0,68 - A	0,66 - A	0,63 - A

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula comprando as variedades (coluna) e minúscula comparando as localidades (linha), não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10: Comparação dos principais resultados encontrados entre o perfil alcaloidal de raízes, perfil volátil foliar e variações morfológicas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí.

Araticum de terra-fria	Araticum Mirim
Perfil alcaloidal de raízes	
Alcaloides principais Lanulinosina	Maior quantidade de alcaloides totais Maior quantidade de liriodenina Alcaloides principais Laurotetanina N-metil laurotetanina
Perfil volátil foliar	
Maior riqueza de sesquiterpenos Sesquiterpenos: 52 - 65% do perfil Monoterpenos: 31 - 43% do perfil Monoterpenos hidrocarbonetos: 30-41% Monoterpenos oxigenados: 1-3%	Maior riqueza de monoterpenos Sesquiterpenos: 25 - 37% do perfil Monoterpenos: 52 - 68% do perfil Monoterpenos hidrocarbonetos: 34-55% Monoterpenos oxigenados: 12-20%

Voláteis principais (%)	Voláteis principais (%)
E-cariofileno (13-27)	Mirceno (12-14)
α -selineno (5-17)	Linalool (10-16)
limoneno (3-15)	α -pineno (9-12)
α -pineno (5-11)	limoneno (8-15)
Tujeno (3-11)	E-cariofileno (6-10)
β -elemeno (2-6)	α -humuleno (6-7)
β -selineno (2-6)	α -selineno (4-9)
	β -pineno (3-5)
Voláteis exclusivos	Voláteis exclusivos
canfreno	Heptanal
sabineno	n-Octanal
α -cubeneno	n-nonanal
β -bourboneno	E- β -Ocimeno
Z-cariofileno	terpinen-4-ol
β -copaeno	nerol
germacreno D	geraniol
α -muuroleno	allo-aromandendreno
germacreno A	
δ -cadineno	
Aspectos morfológicos	
Folhas com maior comprimento e largura	Folhas com menor comprimento e largura
Flores amarelas	Flores amarelas e rosas

Tabela 11: Média das temperaturas máxima e mínima e da precipitação, registradas nos três meses em que ocorreram as coletas nas duas localidades, Campos do Jordão e São Bento do Sapucaí.

Área de coleta	Altitude (m)	Coordenadas	Temperaturas médias e precipitação			
			dez/17	fev/18	jun/18	
Campos do Jordão-SP	1.597	Latitude: -22.7386, Longitude: -45.5921 22° 44' 19" Sul, 45° 35' 32" Oeste	min (°C)	12	13	4
			máx (°C)	22	23	18
			prec. (mm)	300	266	55
São Bento do Sapucaí-SP	874	Latitude: -22.6883, Longitude: -45.7363 22° 41' 18" Sul, 45° 44' 11" Oeste	min (°C)	16	16	10
			máx (°C)	24	24	20
			prec. (mm)	237	217	40

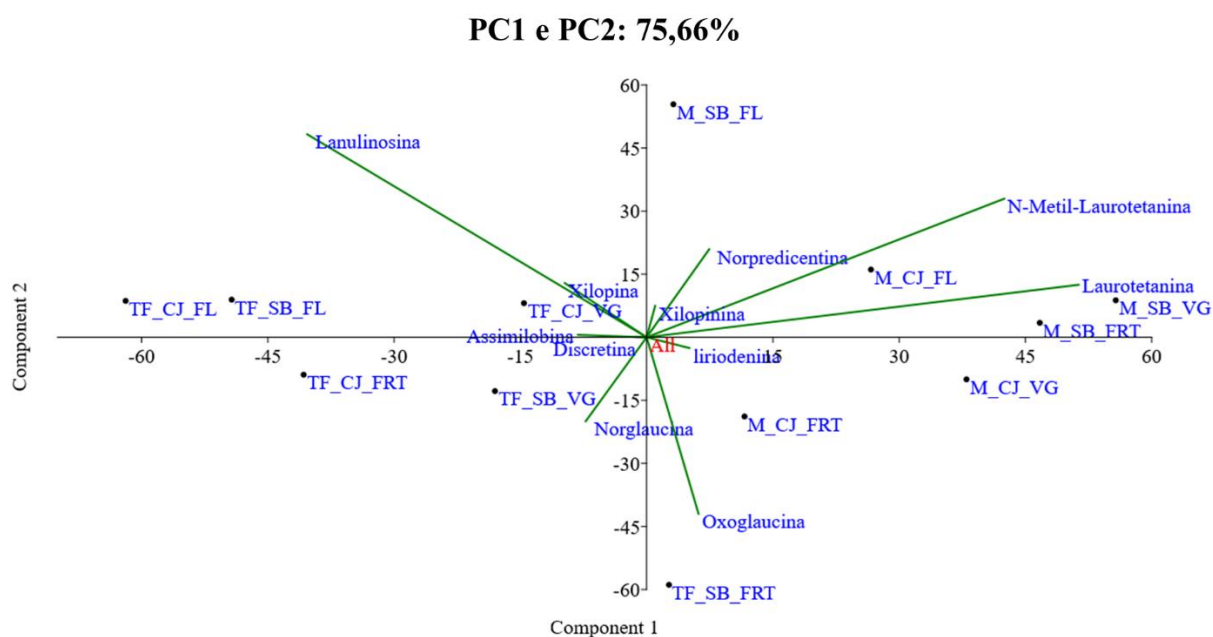


Figura 1: Análise de componentes principais (PCA) com proporção da presença de alcaloides, encontradas em plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

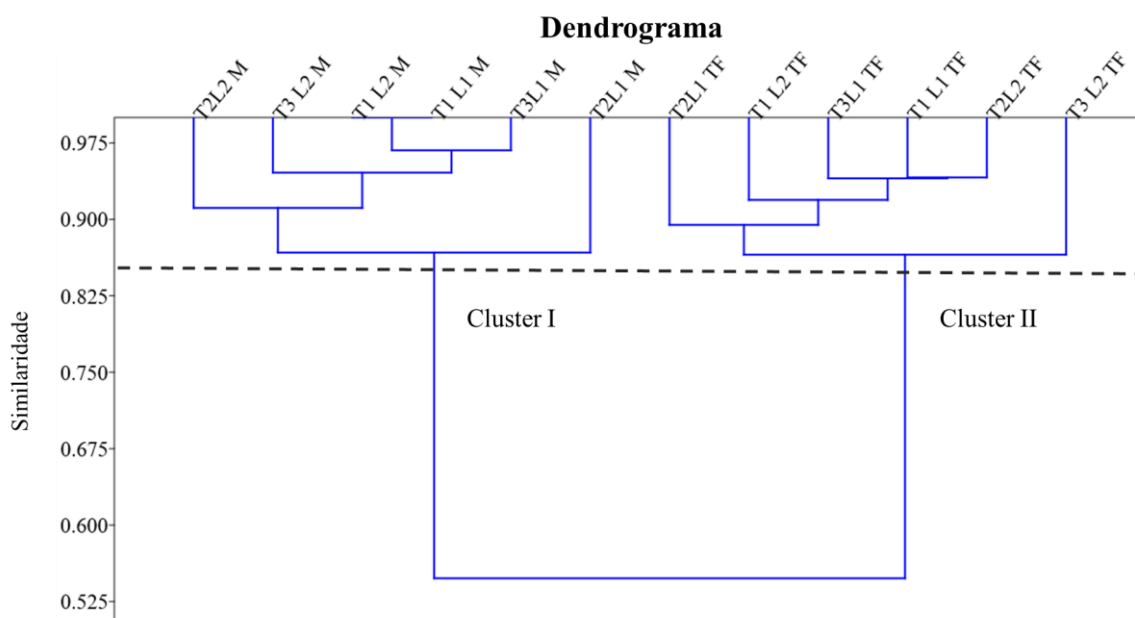


Figura 2: Dendrograma com proporção relativa média de substâncias voláteis majoritárias (> 2%), encontradas em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em

Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

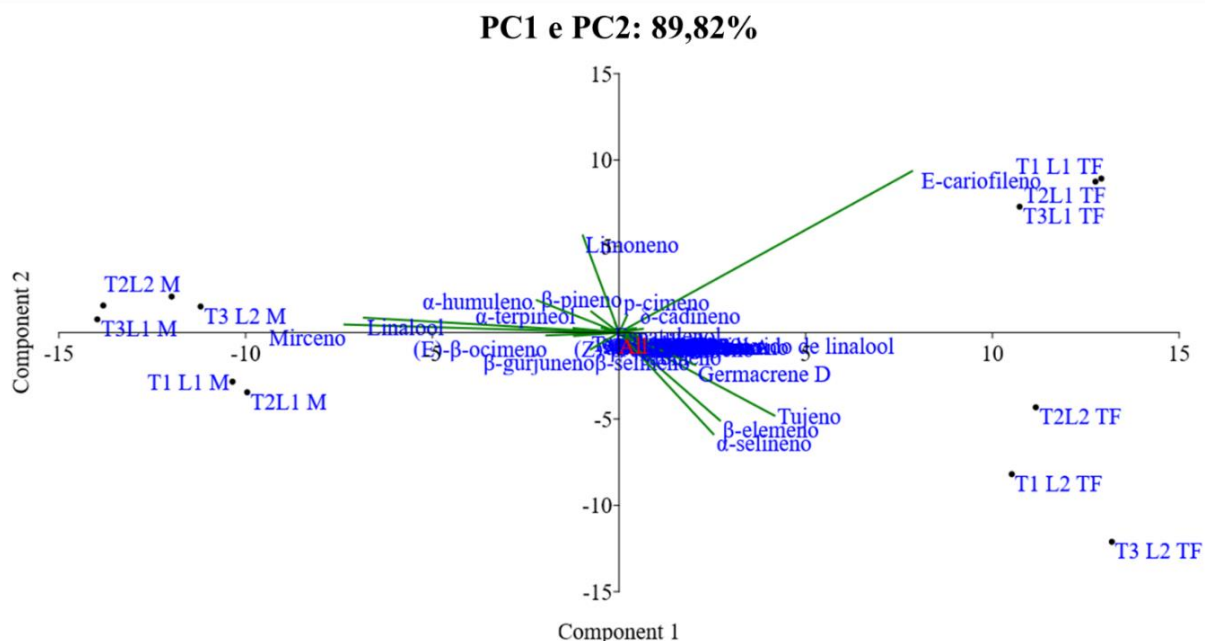


Figura 3: Análise de componentes principais (PCA) com proporção relativa média de substâncias voláteis majoritárias (> 2%), encontradas em folhas de plantas adultas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, “var.” araticum de terra-fria e “var.” araticum mirim, coletadas em Campos do Jordão e em São Bento do Sapucaí, nos três estádios fenológicos (floração, frutificação e vegetativo).

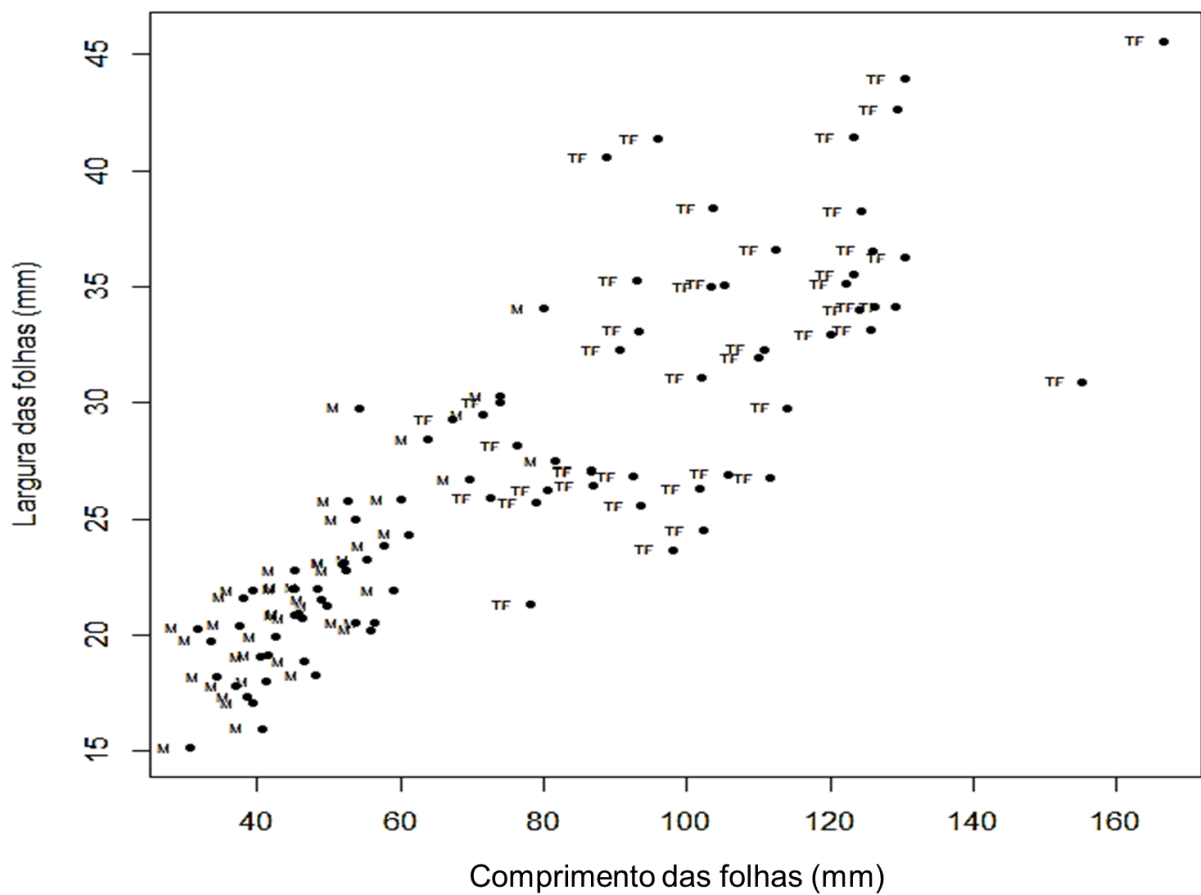


Figura 4: - Relação das variáveis comprimento e largura das medições do limbo foliar de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer “var.” araticum de terra-fria (TF) e “var.” araticum mirim (M). $F = 8,339$; $P = 0,0004896$.



Figura 5: Ramos coletados de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer var. araticum mirim sendo A (Campos do Jordão) e C (São Bento do Sapucaí) e var. araticum de terra-fria, sendo B (Campos do Jordão) e D (São Bento do Sapucaí) Fonte: Mariana de Fátima De-Pieri-Oliveira (2018).

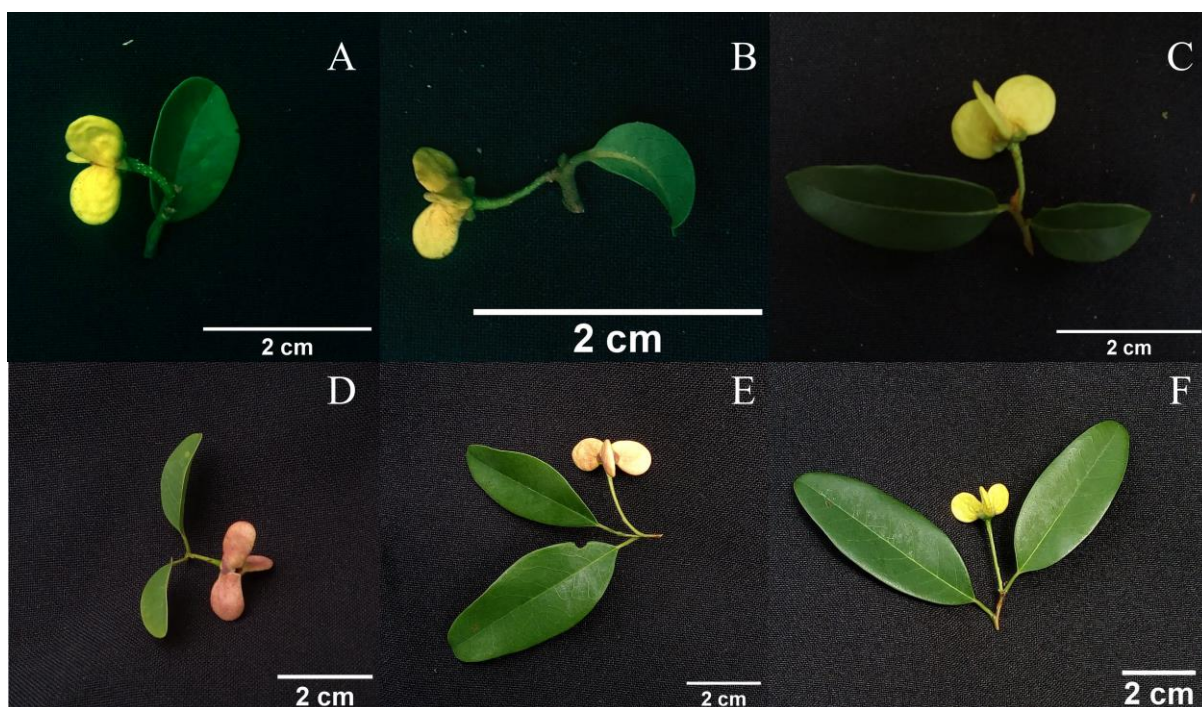


Figura 6: Flores coletadas de diferentes plantas da espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, em Campos do Jordão, sendo araticum de terra-fria (A,B,C) e araticum mirim (D,E,F). Fonte: Carolina Ovíle Mimi (2017).

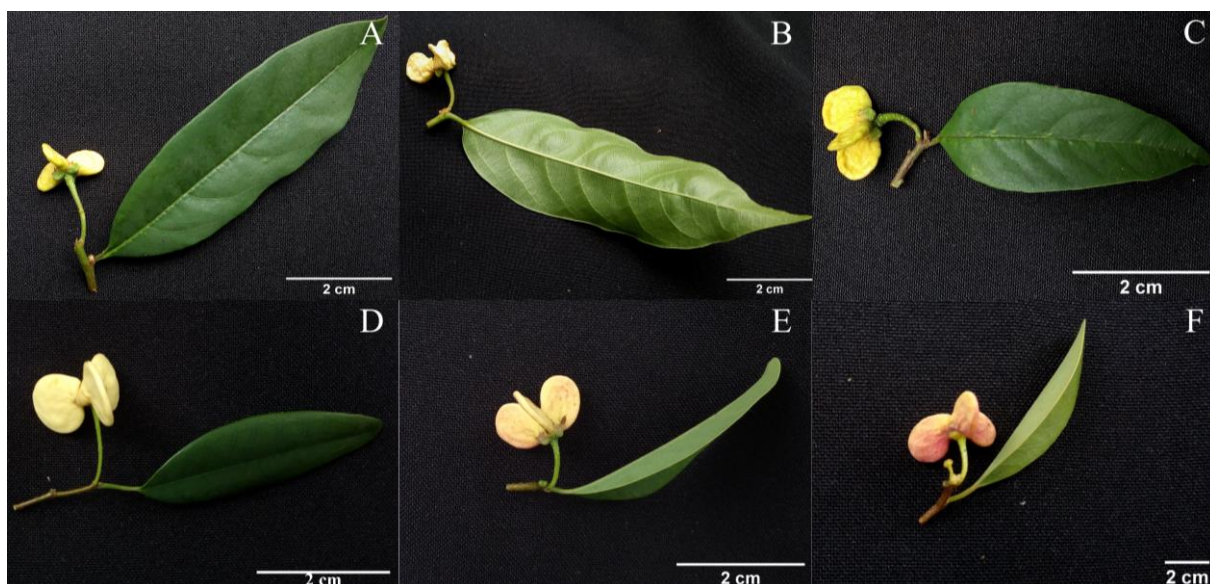


Figura 7: Flores coletadas de diferentes plantas da espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, em São Bento do Sapucaí, sendo araticum de terra-fria (A, B, C) e araticum mirim (D, E, F). Fonte: Carolina Ovíle Mimi (2017).

4. Considerações Finais

Considerando a importância da espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, tanto para aspectos econômicos como produção de porta-enxertos, quanto para aspectos ecológicos como a recuperação de áreas degradadas, e levando em consideração a importância de seus metabólitos especializados com propriedades medicinais, é importante que esteja estabelecido se araticum de terra-fria e araticum mirim são variedades quimiofenéticas distintas.

De acordo com os resultados encontrados neste trabalho podemos concluir que os araticuns são variedades diferentes da espécie *A. emarginata*, esse resultado está amparado nas diferenças químicas encontradas nas quantificações de alcaloides totais e da liriodenina, e no perfil químico dos alcaloides e dos voláteis foliares mais abundantes e exclusivos, assim como nas diferenças morfológicas como a coloração das flores e o tamanho das folhas.

Deste modo, embora sem análises genéticas clássicas, foi possível apresentar o primeiro relato na literatura da caracterização das diferenças entre as duas variedades de *Annona emarginata* utilizando-se quimiofenética.

5. Referências

ABBAS, F. et al. Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. **Planta**, v. 246, n. 5, p. 803–816, 2017.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. **Carol Stream: Allured Publishing Corporation**, p. 804, 2017.

ALARA, O. R. et al. Phytochemical And Pharmacological Properties Of *Vernonia amygdalina*: A Review. **Journal of Chemical Engineering and Industrial Biotechnology**, v. 2, n. September, p. 80–86, 2017.

ALMEIDA, A. S. DE; SANTOS, A. F. DOS. Flavonoides do Gênero *Annona*. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 475, 2018.

AZOFEIFA-DELGADO, Á. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. **Agronomía Mesoamericana**, v. 17, n. 2, p. 221, 2006.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BARBALHO, S. et al. *Annona* sp: Plants with Multiple Applications as Alternative Medicine - A Review. **Current Bioactive Compounds**, v. 8, n. 3, p. 277–286, 2012.

BARON, D. et al. Gas exchanges in Annonaceae species under different crop protections. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 243–250, 2014.

BARON, D. et al. Physiological changes modulated by rootstocks in atemoya (*Annona x atemoya* Mabb.): gas exchange, growth and ion concentration. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 41, n. 1, p. 219–225, 2017.

BARON, D. et al. Leaf gas exchanges responses of atemoya scion grafted onto *Annona* rootstocks. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 30, n. 3, p. 203–213, 2018.

BETTIOL NETO, J. E. et al. Enraizamento de estacas dos porta-enxertos Araticum-de-Terra-Fria (*Rollinia* sp.) e Araticum-Mirim (*Rollinia emarginata* Schldtl.) para anonáceas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1077–1082, 2006.

CAMPOS, F. G. et al. Characterization of the chemical composition of the essential oils from *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer “terra-fria” and *Annona squamosa* L. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 202–208, 2014.

CAMPOS, F. G. et al. Chemical Diversity of Volatiles From Parents, Rootstock and Atemoya Hybrid. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 4, p. 271, 2019.

CARVALHO, A. P. F. et al. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 1, p. 19–27, 2007.

CHACÓN, I. D.-L.-C. et al. Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos. **Universitas Scientiarum**, v. 17, p. 189–202, 2012.

CHATROU, L. W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 5–40, 2012a.

CHATROU, L. W. et al. The natural history of Annonaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 1–4, 2012b.

COLOM, O. A.; POPICH, S.; BARDON, A. Bioactive constituents from *Rollinia emarginata* (Annonaceae). **Natural Product Research**, v. 21, n. 3, p. 254–259, 2007.

COSTA, V. C. O. et al. Composição química e modulação da resistência bacteriana a drogas do óleo essencial das folhas de *Rollinia leptopetala* R. E. Fries. **Brazilian Journal of**

Pharmacognosy, v. 18, n. 2, p. 245–248, 2008.

COSTA, E. V. et al. Chemical constituents isolated from the bark of *Guatteria blepharophylla* (Annonaceae) and their antiproliferative and antimicrobial activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 6, p. 1111–1117, jun. 2011.

COUVREUR, T. L. P. et al. Phylogenomics of the major tropical plant family Annonaceae using targeted enrichment of nuclear genes. **bioRxiv**, p. 1–25, 2018.

DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I. et al. Liriodenine, Early Antimicrobial Defence in *Annona diversifolia*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 66, n. 7–8, p. 377–384, 1 ago. 2011.

DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I. et al. Spatio-Temporal Variation of Alkaloids in *Annona purpurea* and the Associated Influence on Their Antifungal Activity. **Chemistry and Biodiversity**, v. 16, n. 2, 2019.

DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. **Natural Product Research**, v. 26, n. 1, p. 42–49, 2012.

DEWICK, P. M. Secondary Metabolism: The Building Blocks and Construction Mechanisms. In: **Medicinal Natural Products**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2002. v. 2p. 7–34.

DOLAB, J. G. et al. The antimicrobial activity of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer and most active isolated compounds against clinically important bacteria. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1–14, 2018.

DOS SANTOS, A. F.; SANT'ANA, A. E. G. Molluscicidal properties of some species of *Annona*. **Phytomedicine**, v. 8, n. 2, p. 115–120, 2001.

DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.

FÉVRIER, A. et al. Acetogenins and Other Compounds from *Rollinia emarginata* and Their Antiprotozoal Activities. **Planta Medica**, v. 65, n. 1, p. 047–049, 1999.

FOURNIER, G.; LÉBOEUF, M.; CAVÉ, A. Annonaceae essential oils: A review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 2, p. 131–142, 1999.

GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. et al. Alkaloids and acetogenins in Annonaceae development: biological considerations. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 01–16, 2014.

GOTTLIEB, O. R. **Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1982. v. 52

GUO, X. et al. A mega-phylogeny of the Annonaceae: Taxonomic placement of five enigmatic genera and support for a new tribe, Phoenicantheae. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.

HAGEL, J. M.; FACCHINI, P. J. Plant metabolomics: Analytical platforms and integration with functional genomics. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 3, p. 479–497, 2008.

HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., AND P. D. R. **PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis**. *Palaeontologia Electronica*, 2001.

HENNEBELLE, T. et al. The Essential Oil of *Lippia alba*: Analysis of Samples from French Overseas Departments and Review of Previous Works. **Chemistry & Biodiversity**, v. 3, n. 10, p. 1116–1125, out. 2006.

JARAMILLO, M. C. et al. Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp. **Fitoterapia**, v. 71, n. 2, p. 183–186, abr. 2000.

JÚNIOR, N. G. R. et al. Anatomia e morfometria de raízes e folhas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em diferentes estádios de acometimento da síndrome da morte das pastagens. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 72, n. 1, p. 127–132, 2017.

KUTCHAN, T. M. Alkaloid Biosynthesis: The Basis for Metabolic Engineering of Medicinal Plants. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 1059, 1995.

LAURSEN, T.; MØLLER, B. L.; BASSARD, J. E. Plasticity of specialized metabolism as mediated by dynamic metabolons. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 1, p. 20–32, 2015.

LEBOEUF, M. et al. THE PHYTOCHEMISTRY OF THE ANNONACEAE. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2783–2813, 1982.

LINDROTH, R. L.; HSIA, M. T. S.; SCRIBER, J. M. Seasonal patterns in the phytochemistry of three *Populus* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 15, n. 6, p. 681–686, 1987.

LOBÃO, A. Q.; ARAUJO, D. S. D. DE;; KURTZ, B. C. Annonaceae das restingas do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 56, n. 87, p. 85–96, 2005.

LÚCIO, A. S. S. C. et al. **Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation of Their Biological Activities**. [s.l.: s.n.]. v. 74

LUKAS, B.; SCHMIDERER, C.; NOVAK, J. Essential oil diversity of European

Origanum vulgare L. (Lamiaceae). **Phytochemistry**, v. 119, p. 32–40, 2015.

MAAS, P. J. M. et al. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguésia**, v. 52, n. 80, p. 65–98, 2001.

MAAS, P. J. M.; LOBÃO, A.; RAINER, H. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2001. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB110219&action=print>>. Acesso em: 3.12.18.

MAAS, P., LOBÃO, A., RAINER, H. Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110219>>. Acesso em: 27.06.19.

MANTOAN, L. P. B.; FERREIRA, G.; BOARO, C. S. F. Chlorophyll a fluorescence in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer plants subjected to water stress and after rehydration. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 23–30, 2015.

MATSUURA, H. N. et al. Specialized Plant Metabolism Characteristics and Impact on Target Molecule Biotechnological Production. **Molecular Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 169–183, 2018.

MÁXIMO, P. et al. Chemotaxonomy of Portuguese *Ulex*: Quinolizidine alkaloids as taxonomical markers. **Phytochemistry**, v. 67, n. 17, p. 1943–1949, 2006.

MITAINE, A.-C. et al. Alkaloids from *Aspidosperma* Species from Bolivia. **Planta Medica**, v. 62, n. 05, p. 458–461, 4 out. 1996.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. **Características Botânicas das Principais Anonáceas e Aspectos Fisiológicos de Maturação**. 1. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006.

MUHLEMANN, J. K.; KLEMPIEN, A.; DUDAREVA, N. Floral volatiles: from biosynthesis to function. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, p. 1936–1949, 2014.

NUNES, D. S. et al. Indole alkaloids from *Aspidosperma pruinosum*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2507–2511, 1992.

PADMA, P. et al. Effect of the extract of *Annona muricata* and *Petunia nyctaginiflora* on *Herpes simplex* virus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 81–83, 1998.

PEREIRA, M. DE M. et al. ALCALÓIDES INDÓLICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Aspidosperma* (APOCYNACEAE). **Quim Nova**, v. 30, n. 4, p.

970–983, 2007.

PICHERSKY, E.; LEWINSOHN, E. Convergent Evolution in Plant Specialized Metabolism. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, n. 1, p. 549–566, 2011.

PIVA, L. R. D. O. et al. Volatile monoterpene ‘fingerprints’ of resinous *Protium* tree species in the Amazon rainforest. **Phytochemistry**, v. 160, n. February, p. 61–70, 2019.

PONTIN, M. et al. *Allium sativum* produces terpenes with fungistatic properties in response to infection with *Sclerotium cepivorum*. **Phytochemistry**, v. 115, n. 1, p. 152–160, 2015.

PRASSINOS, C. et al. Rootstock-induced dwarfing in cherries is caused by differential cessation of terminal meristem growth and is triggered by rootstock-specific gene regulation. **Tree Physiology**, v. 29, n. 7, p. 927–936, 2009.

QUÍLEZ, A. M. et al. Potential therapeutic applications of the genus *Annona*: Local and traditional uses and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 225, p. 244–270, 2018.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A. S. T. -HIL. **Arbeit**, n. 1992, p. 191–206, 2007.

REYNOLDS, T. The evolution of chemosystematics. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22–24, p. 2887–2895, 2007.

SÃO JOSÉ, A. R. et al. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 86–93, 2014.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. Estaquia em Anonas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 147–156, 2014.

SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G.; WEBBER, A. C. Morphological and functional flower characteristics of New and Old World Annonaceae with respect to their mode of pollination. **Taxon**, v. 52, n. 4, p. 701–718, 2003.

SOUSA, M. C. et al. The production of alkaloids in *Annona cacans* seedlings is affected by the application of GA 4+7 + 6-Benzyladenine. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 84, n. December 2018, p. 47–51, 2019.

SURESH, H. M.; SHIVAKUMAR, B.; SHIVAKUMAR, S. I. Phytochemical Potential of *Annona reticulata* Roots for Antiproliferative Activity on Human Cancer Cell Lines. **Advances in Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 1–4, 2012.

THE PLANT LIST. Versão 1.1. 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>

(acesso em: 27.06.19).

TOKUNAGA, T. A. A cultura da atemóia. Campinas, **Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI)**, 2000.

VAJDA, V. et al. Molecular signatures of fossil leaves provide unexpected new evidence for extinct plant relationships. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, n. 8, p. 1093–1099, 2017.

VINAY, G. M.; SAKTHIVEL, T.; PRIYANKA, H. L. Recent Advances in *Annona* Breeding: A Review. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, v. 5, n. 2, p. 1168–1181, 2017.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 3–19, 2003.

WINK, M. et al. Chemotaxonomy Seen from a Phylogenetic Perspective and Evolution of Secondary Metabolism. In: *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism: Second Edition*. **Annual Plant Reviews**. v. 40. 2018. p. 364-433.

XUE, B. et al. A new annonaceae genus, wuodendron, provides support for a post-boreotropical origin of the Asian-neotropical disjunction in the tribe miliuseae. **Taxon**, v. 67, n. 2, p. 250–266, 2018.

YANG, L. et al. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 1–26, 2018.

ZIDORN, C. Plant chemophenetics – A new term for plant chemosystematics/plant chemotaxonomy in the macro-molecular era. **Phytochemistry**, v. 163, n. March, p. 147–148, 2019.