

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 25/11/2024.

CICLO CIRCADIANO E AUXINA NA MODULAÇÃO DA SÍNTESE DE ALCALOIDES EM *Annona emarginata* H.

RAINER

Bruna Cavinatti Martin

Defesa apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do câmpus de Botucatu e Instituto de Biociências câmpus Rio Claro.

BOTUCATU – SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

CICLO CIRCADIANO E AUXINA NA MODULAÇÃO DA
SÍNTESE DE ALCALOIDES EM *Annona emarginata* H.

RAINER

Doutoranda: Bruna Cavinatti Martin

Orientadora: Prof^a Dr^a Gisela Ferreira

Defesa apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Interunidades entre o Instituto de Biociências do câmpus de Botucatu e Instituto de Biociências câmpus Rio Claro.

BOTUCATU – SP

2022

M379c Martin, Bruna Cavinatti
Ciclo circadiano e auxina na modulação da síntese de alcaloides em
Annona emarginata H. Rainer / Bruna Cavinatti Martin. -- Botucatu,
2022
84 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Botucatu
Orientadora: Gisela Ferreira

1. metabolismo especializado. 2. metabolismo primário. 3.
hormônios vegetais. 4. fotossíntese. I. Título.

AGRADECIMENTOS

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

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) e aos funcionários da Seção de Pós-graduação, pelo auxílio no decorrer do curso.

À Prof.^a Dr.^a Gisela Ferreira pela orientação na execução desse trabalho, por toda troca e aprendizado durante esse arduo caminho.

Aos colegas de laboratório Dr^a Ana Beatriz Marques Honório, Ms. Gustavo Cabral da Silva, Dr. Felipe Giroto Campos e Dr. Fabrício Custódio de Moura Gonçalves, por todo auxílio possível na execução das análises do trabalho.

Aos amigos que fiz em Botucatu que tornaram minha caminhada um pouco mais leve.

Ao meu psiquiatra Dr Lucas Valente Giustra, sem o qual, jamais teria chegado ao final dessa jornada.

Ao meu marido Caio Pagliarini Colombo por todo cuidado, toda parceria e todos os puxões de orelha para me fazer entender que eu precisava cumprir sim com o trabalho que me propus a fazer, mas que ao mesmo tempo, a vida vai muito além disso.

Aos meus filhos caninos, Weed e Raul, que foram minha razão de viver e minha companhia durante o doutorado em meio a uma pandemia.

Aos meus amados pais, Tania Cavinatti Martin e Antonio Martin Filho, por sempre serem meu chão e meu ar em todos os desafios da vida, inclusive nesse. Obrigada por não me deixarem desistir.

À Deus, por ter me mantido em pé e colocado pessoas em meu caminho que me auxiliaram para a conclusão desse trabalho.

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract	9
1. INTRODUÇÃO GERAL	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Metabolismo especializado em Annonaceae	12
2.1.1 Alcaloides em Annonaceae	13
2.1.2 Fatores ambientais que afetam a produção de alcaloides	14
2.2 Auxinas e o metabolismo primário e especializado	16
2.2.1 Auxinas e o metabolismo primário	18
2.2.2 Auxinas e o metabolismo especializado	19
REFERÊNCIAS	21
3. CAPÍTULO 1: Impacto do ciclo circadiano na produção de alcaloides em mudas de <i>Annona emarginata</i> ‘Terra-Fria’	28
Resumo	28
Abstract	29
3.1 Introdução	30
3.2 Material e Método	31
3.2.1 Obtenção de material vegetal e delineamento experimental	31
3.2.2 Alcaloides	31
3.2.3 Nitrato redutase	32
3.2.4 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	32
3.2.5 Extração e quantificação de açúcares	33
3.2.6 Atividade antioxidante	33
3.2.7 Análise dos dados	34
3.3 Resultados e Discussão	34
3.4 Conclusão	43
REFERÊNCIAS	43
4. CAPÍTULO 2: Modulação da síntese de alcaloides pela ação de ácido indolilacético em mudas de <i>Annona emarginata</i> (Schltdl) H. Rainer	49
Resumo	49
Abstract	51
4.1 INTRODUÇÃO	52

4.2 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.2.1 Obtenção de material vegetal e delineamento experimental	55
4.2.2 Aplicação do ácido indolilacético e seu inibidor de transporte TIBA	56
4.2.3 Alcaloides	56
4.2.4 Quantificação de ácido indolilacético	57
4.2.5 Nitrato Redutase	57
4.2.6 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	57
4.2.7 Açúcares e amido	58
4.2.8 Atividade antioxidante e espécies reativas de oxigênio	58
4.2.9 Análise dos dados	58
4.3 RESULTADOS	59
4.4 DISCUSSÃO	74
4.5 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	79

Resumo

As plantas da família Annonaceae são conhecidas por produzirem diversos metabolitos especializados, dentre eles os alcaloides destacam-se por sua variedade e funções biológicas de interesse farmacológico e agrônomico. A espécie *Annona emarginata* é nativa e muito utilizada como porta enxerto de espécies comerciais de *Annona* como a atemóia, além de ser utilizada na recuperação de áreas biodegradadas e possuir ampla variedade de alcaloides. É sabido que os alcaloides podem sofrer alterações em sua concentração ou composição de acordo com o ambiente, e que além disso, tais substâncias compartilham parte da sua rota de síntese com o ácido indolilacético (IAA). Assim, o objetivo desse trabalho foi verificar as possíveis alterações da síntese de alcaloides em *Annona emarginata* dentro de um ciclo circadiano, bem como se a aplicação de IAA modifica a síntese de alcaloides. Além disso, buscamos avaliar possíveis alterações no metabolismo primário das mudas, que pudessem estar relacionadas com as mudanças nos alcaloides. Visando avaliar variações no conteúdo de alcaloides no ciclo circadiano um primeiro experimento foi instalado e com relação à aplicação de IAA e a síntese de alcaloides um segundo experimento foi realizado. Em ambos os experimentos analisamos alcaloides totais e liriodenina, presença e ausência de alcaloides específicos, atividade da nitrato redutase, trocas gasosas, fluorescência da clorofila a, açúcares e amido, enzimas antioxidantes, peróxido de hidrogênio e lipoperoxidação. Nossos resultados mostraram que em *Annona emarginata* existe uma relação entre metabolismo primário e especializado, causando alterações na concentração de alcaloides totais, liriodenina e na presença e ausência de alcaloides específicos em folhas e raízes. Concluímos com o primeiro experimento que o melhor horário de coleta visando extrair maior concentração desses compostos é às 02h00 nas raízes. Quanto ao segundo experimento, verificamos que a aplicação de IAA também causou alterações pontuais no metabolismo primário que resultaram em redução da síntese de alcaloides, além de causar alterações na presença e ausência de alcaloides em raízes de mudas de *Annona emarginata*, o que foi possível detectar com a inibição do transporte de auxina.

Palavras-chave: Metabolismo especializado; Metabolismo primário; Hormônios vegetais; Fotossíntese

Abstract

Plants of the Annonaceae family are known to produce several specialized metabolites, among which the alkaloids stand out for their variety and biological functions of pharmacological and agronomic interest. The species *Annona emarginata* is native and widely used as a rootstock for commercial species of *Annona* such as atemoya, in addition to being used in the recovery of biodegradable areas and having a wide variety of alkaloids. It is known that alkaloids can change their concentration or composition according to the environment, and that, in addition, such substances share part of their synthesis route with indolylacetic acid (IAA). Thus, the objective of this work was to verify the possible alterations in the synthesis of alkaloids in *Annona emarginata* within a circadian cycle, as well as whether the application of IAA modifies the synthesis of alkaloids. In addition, we sought to evaluate possible changes in the primary metabolism of seedlings, which could be related to changes in alkaloids. Aiming to evaluate variations in the alkaloid content in the circadian cycle, a first experiment was installed and in relation to the application of IAA and the synthesis of alkaloids, a second experiment was carried out. In both experiments we analyzed total alkaloids and liriodenine, presence and absence of specific alkaloids, nitrate reductase activity, gas exchange, fluorescence chlorophyll, sugars and starch, antioxidant enzymes, hydrogen peroxide and lipid peroxidation. Our results showed that in *Annona emarginata* there is a relationship between primary and specialized metabolism, causing changes in the concentration of total alkaloids, liriodenine and in the presence and absence of specific alkaloids in leaves and roots. We concluded with the first experiment that the best time of collection to extract the highest concentration of these compounds is at 2:00 am in the roots. As for the second experiment, we found that the application of IAA also caused specific changes in the primary metabolism that resulted in a reduction in the synthesis of alkaloids, in addition to causing changes in the presence and absence of alkaloids in the roots of *Annona emarginata* seedlings, which was possible to detect by inhibiting auxin transport.

Keywords: Specialized metabolism; Primary metabolism; plant hormones; Photosynthesis

1. INTRODUÇÃO GERAL

O metabolismo das plantas é dividido em primário e especializado. O metabolismo primário consiste em uma série de processos fundamentais, como a fotossíntese e a respiração, a fim de assegurar o crescimento e desenvolvimento da planta, sendo encontrado em todo reino vegetal (VERPOORTE, 2000). O metabolismo especializado, se utiliza dos produtos do metabolismo primário como precursores de seus compostos, que vão garantir a sobrevivência do vegetal, atuando especialmente na interação entre a planta e o ambiente (KUTCHAN et al., 2015; PICHERSKY; LEWINSOHN, 2011; VERPOORTE, 2000). Os metabólitos especializados são restritos a determinadas espécies e/ou órgãos e são divididos em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (STEVENSON; NICOLSON; WRIGHT, 2017).

Os alcaloides, alvo desta pesquisa, fazem parte da classe dos compostos nitrogenados, sendo metabólitos de grande importância quando se trata de adaptação e sobrevivência das plantas a fatores bióticos e abióticos estressantes (ataques de patógenos e radiação UV, por exemplo), além de serem reserva de nitrogênio (JANSEN et al., 1998; SIMÕES et al., 1998; SIMÕES et al., 2007; SIMÕES et al., 2016).

Na família Annonaceae estão documentados mais de 900 alcaloides, sendo que os mais abundantes são os benzilisoquinolínicos (ABI) derivados da tirosina e fenilalanina (LÚCIO et al., 2015). Em *A. diversifolia*, os ABIs são produzidos desde etapas iniciais da germinação, onde a liriodenina atua como sistema de defesa ao inibir o crescimento de *Rhizopus stolonifer* e *Aspergillus glaucus*, fungos que degradam desde sementes (DE LA CRUZ CHACÓN et al., 2011; DE LA CRUZ CHACÓN; GONZÁLEZ-ESQUINCA, 2012) até plantas adultas (GONZÁLEZ-ESQUINCA et al., 2014). Desta forma, a liriodenina é um alcaloide benzilisoquinolínico bastante encontrado em espécies dessa família sendo considerado marcador quimiotaxonômico. Além disso, a liriodenina possui importantes atividades biológicas como ação antifúngica, antibactericida, antiprotzoaria, capaz de inibir o crescimento de vários fitopatógenos (DE LA CRUZ CHACÓN et al., 2011).

A produção de alcaloides varia em função de estágio de desenvolvimento do vegetal (HOFT et al., 1996; WILLIAMS; ELLIS, 1989), de condições ambientais (HOFT et al., 1996; BRISKE; CAMP, 1982; ELGORASHI et al., 2002; ROCCA-PEREZ et al., 2004) e de reguladores vegetais, como as auxinas (PALEG et al., 1959; SOUSA et al., 2019; SILVA et al., 2021).

Com relação ao ambiente, estudos demonstram alterações no conteúdo de alcaloides de acordo com a sazonalidade, variações nas condições de luminosidade, temperatura e disponibilidade de água (VERMA e SKULA et al., 2015; YANG et al., 2018). O cultivo de *Trachyspermum ammi* em região de escassez hídrica aumenta o teor de clorofila e fenólicos totais e reduz a altura das plantas, massa fresca e seca da erva, o que influencia seu sistema de defesa (AZHAR et al., 2011). Castro-Moreno et al. (2013) verificaram que em *Annona lutescens* houve redução na concentração de liriodenina nas raízes na estação seca. As elevadas temperaturas também afetam a produção de metabólitos especializados fazendo com que o fotossistema II apresente diminuição da eficiência fotoquímica causando aumento do estresse nas plantas (JOCHUM et al., 2007). No entanto até o momento não foi observado como o ciclo circadiano impacta a produção de alcaloides em *Annona* sp.

Metabólitos especializados e hormônios compartilham parte de rotas metabólicas, o que sugere que hormônios poderão desempenhar papel na biossíntese de alcaloides. A rota do ácido chiquímico dá origem a produtos especializados nitrogenados como os alcaloides e compostos fenólicos, além do grupo hormonal das auxinas (LJUNG, 2013; MAEDA; DUDAREVA, 2012). Além disso, sabe-se que os hormônios possuem efeitos no crescimento das plantas, morfogênese e metabolismo primário reconhecidos há mais de um século (ALAM; NAEEM; IDREES, 2012). O fato de os hormônios estarem relacionados ao metabolismo primário e especializado das plantas sugere estudos que ao investigarem o papel de hormônios na síntese de metabólitos especializados, considere suas relações também com o metabolismo primário (OLIVOTO et al., 2017), o que ainda é pouco elucidado em Annonaceae.

A espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer escolhida para este estudo é nativa do continente sul-americano, encontrada na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai, Peru e Uruguai (MAAS et al., 2001). No Brasil possui importância na recuperação de áreas degradadas e é utilizada como porta-enxerto para espécies comerciais como a atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) e a fruta-do-conde (*A. squamosa* L.) (BETTIOL NETO et al., 2006; KAVATI, 2013) devido à sua rusticidade, tolerância a patógenos causadores da broca-do-colmo (KAVATI, 2013), podridão de raízes e colo (TOKUNAGA, 2005) e tolerância ao déficit hídrico severo (MANTOAN et al., 2016). Nesta espécie há relatos da presença de liriodenina, anonaina, reticulina e asimilobina em raízes e caules de plantas adultas (LÚCIO et al., 2015).

reduções na transpiração e nos açúcares e amido nos momentos de maior síntese de alcaloides (156h e 324h).

4.5 Conclusão

A aplicação do ácido indolilacético provoca alterações no metabolismo primário que resultam em decréscimo na concentração de alcaloides totais e liriodenina em raízes de mudas de *Annona emarginata*, o que foi possível confirmar com a inibição do transporte de auxina. Com a inibição do transporte de auxina, nos momentos em que verificamos maior concentração de alcaloides totais tanto em raízes como em folhas, houve redução na transpiração e no teor de carboidratos. A auxina IAA altera as relações entre presença e ausência de alcaloides. Nas folhas após aplicação de IAA foi possível detectar lanuginosina, liriodenina e xilopina, e quando seu transporte é inibido, desaparece a xilopina e surge a N-metil laurotetanina. Nas raízes a IAA promove o aparecimento de discretina e xilopina, enquanto a oxoglaucina não é detectada, e quando o transporte da auxina é inibido, não se observa assimilobina e oxoglaucina, mas sim a xilopina.

Referências

- ALEXIEVA V, SERGIEV I, MAPELLI S, KARANOV E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*. 24(12): 1337-1344, 2001.
- BARON, D.; AMARO, A. C. E.; CAMPOS, F. G.; FERREIRA, G. Leaf gas exchanges responses of atemoya scion grafted onto *Annona* rootstocks. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 30, n. 3, p. 203–213, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40626-018-0115-4>>.
- BEAUCHAMP C, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*. 44(1):276-287, 1971.
- BRADFORD, M.M. 1976. Um método rápido e sensível para a quantificação de quantidades de microgramas de proteína utilizando o princípio da ligação proteína-corante. *Bioquímica analítica*. 72 (1-2): 248-254, 1976.
- BRISKE, D. D.; CAMP, B. J.; *Weed Science*. 30, 106, 1982.

CATO, S. C.; CASTRO, P. R. D. C. Redução da altura de plantas de soja causada pelo ácido 2, 3, 5-triiodobenzóico. *Ciência Rural*, 36, 981-984, 2006.

CHEN C-Y, WU H-M, CHAO W-Y, LEE C-H. Review on pharmacological activities of liriodenine. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(18): 1067–1070, 2013.

CLEGG, K. M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 7, n. 1, p. 40-44, 1956.

DA SILVA, G. C., HONÓRIO, A. B. M., MARTIN, B. C., CAMPOS, F. G., & FERREIRA, G. Compostos bioativos de sementes de annona x atemoya mabb. 'gefner' durante o processo de embebição em ga3. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, 2(3), 11-11, 2021.

DE LA CRUZ, C. I.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. *Natural product research*, v. 26, n. 2, p. 42–49, 2012.

DE LA CRUZ, C. I.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R.; GUEVARA, F. P.; JÍMENEZ, G. L. F. Liriodenine, early antimicrobial defence in *Annona diversifolia*. *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 66, n. Table I, p. 377–384, 2011.

DELANHOL, S. J.; MANTOAN, L. P. B.; AMARO, A. C. E.; FERREIRA, G. Gas exchange in *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER subjected to salt stress and application of plant growth regulator. *Scientia Agraria Paranaensis*, v. 17, n. 1, p. 67 70, 2018.

DEMMIG-ADAMS B, EBBERT V, ZARTER CR, ADAMS WW. Características e emprego dependente da espécie de dissipação térmica flexível versus sustentada e fotoinibição. Em *Fotoproteção, fotoinibição, regulação gênica e meio ambiente*. Springer, Dordrecht. 39-48, 2008.

DODD AN, SALATHIA N, HALL A, KÉVEI E, TÓTH R, NAGY F, HIBBERD JM, MILLAR AJE, WEBB AAR. Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage. *Science*. 309(5734): 630 – 633, 2005.

EGYDIO-BRANDÃO, A.P.M.; NOVAES, P.; SANTOS, D. Y. A. C. Alkaloids from *Annona*: Review from 2005 to 2016. *JSM Biochem Mol Biol*, v. 4, n. 3, p. 1031, 2017.

ELGORASHI, E. E.; DREWES, S. E.; STADEN, J. V.; *Fitoterapia*. 73, 490, 2002.

EVANS, W. C.; Trease and Evans' Pharmacognosy, 14th ed., WB Saunders

FAIRBAIRN, J. W.; SUWAL, P. N.; *Phytochemistry* , 1, 38, 1961.

GARCIA, I. S. et al. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Biology*, v. 66, n. 2b, p. 739-45, 2006.

GELDNER, N., FRIML, J., STIERHOF, Y. D., JÜRGENS, G., & PALME, K. Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature*, 413(6854), 425-428, 2001.

GHORBANPOUR, M.; HATAMI, M.; KHAVAZI, K. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turkish Journal of Biology*, v. 37, n. 3, p. 350-360, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GODDIJN, O. J. M.; DE KAM, R. J.; ZANETTI, A.; SCHILPEROORT, R. A.; HOGE, J. H. C. Auxin rapidly down-regulates transcription of the tryptophan decarboxylase gene from *Catharanthus roseus*. *Plant Molecular Biology*, v. 18, n. 6, p. 1113–1120, 1992.

GONÇALVES, S.; ROMANO, A. In vitro culture of lavenders (*Lavandula* spp.) and the production of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, v. 31, n. 2, p. 166-174, 2013.

HEATH RL, PACKER L. Fotoperoxidação em cloroplastos isolados: I. Cinética e estequiometria da peroxidação de ácidos graxos. *Arquivos de bioquímica e biofísica*. 125 (1): 189-198, 1968.

HIKOSAKA, K. Interspecific difference in the photosynthesis–nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research*, 117: 481-494, 2004.

HIRATA, K.; ASADA, M.; YATANI, E.; MIYAMOTO, K.; MIURA, Y.; *Planta Med.*

HOFT M, VERPOORTE R, BECK E. Growth and alkaloid contents in leaves of *Tabernaemontana pachysiphon* Stapf (Apocynaceae) as influenced by light intensity, water and nutrient supply. *Oecologia* 107:160–169, 1996.

HÖFT, M.; VERPOORTE, R.; Beck, E.; *Planta Med.* 1998, 64, 148.

HUOT, B.; YAO, J.; MONTGOMERY, B. L.; HE, S. Y. Growth–Defense Tradeoffs in Plants: A Balancing Act to Optimize Fitness. *Molecular Plant*, v. 7, n. 8, p. 1267–1287, ago. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssu049>>.

ITENOV, K.; MØLGAARD, P.; NYMAN, U.; *Phytochemistry* 1999, 52, 1229.

JAMWAL, K.; BHATTACHARYA, S.; PURI, S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 9, n. June 2017, p. 26–38, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.12.003>>.

JOSHI, G.; SHUKLA, A.; SHUKLA, A. Synergistic response of auxin and ethylene on physiology of *Jatropha curcas* L. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 23, n. 1, p. 66–77, 2011. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00344-011-9230-z>>.

JUNG, S. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 42, n. 3, p. 225–231, mar. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S098194280400004X>>.

KAR M, MISHRA D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*. 57(2):315-319, 1976.

KOEPPE, D. E.; ROHRBAUGH, L. M.; RICE, E. L.; WENDER, S. H.; *Physiol.*

KOORNNEEF, A.; PIETERSE, C.M.J. Cross talk in defense signaling. *Plant physiology*, v. 146, n. 3, p. 839-844, 2008.

KUMAR R, AGARWAL P, PAREEK A, TYAGI AK, SHARMA AK. Genomic survey, gene expression, and interaction analysis suggest diverse roles of ARF and Aux/IAA proteins in *Solanaceae*. *Plant Mol Biol Rep* 33:1552–157, 2015.

KUTCHAN, T. M.; GERSHENZON, J.; MOLLER, B.; DAVID, R.; GANG, D. R. Natural Products. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; GONES, R. (Ed.).

Biochemistry and Molecular Biology of Plants. 2. ed. Hoboken, New Jersey: Wiley, 2015. p. 1132–1221.

LI, H.-T.; WU, H.-M.; CHEN, H.-L.; LIU, C.-M.; CHEN, C.-Y. The Pharmacological Activities of (–)-Anonaine. *Molecules*, v. 18, n. 7, p. 8257–8263, 12 jul. 2013. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/18/7/8257>>.

LJUNG, K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development*, v. 140, n. 5, p. 943–950, 2013. Disponível em: <<http://dev.biologists.org/cgi/doi/10.1242/dev.086363>>.

LÚCIO, A. S. S. C.; ALMEIDA, J. R. G. da S.; DA-CUNHA, E. V. L.; TAVARES, J. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation of Their Biological Activities. In: *Alkaloids: Chemistry and Biology*. [s.l: s.n.]74p. 233–409, 2015.

MAAS, P. J. M.; KAMER, H. M. De; JUNIKKA, L.; MELLO-SILVA, R. De; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. *Rodriguésia*, v. 52, n. 80, p. 65–98, 2001.

MAEDA, H.; DUDAREVA, N. The Shikimate Pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 63, n. 1, p. 73–105, 2012. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-arplant-042811-105439>>.

MANTOAN, L. P. B.; ROLIM DE ALMEIDA, L. F.; MACEDO, A. C.; FERREIRA, G.; BOARO, C. S. F. Photosynthetic adjustment after rehydration in *Annona emarginata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 38, n. 6, p. 157, 30 jun. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11738-016-2171-1>>.

MENGEL K, KIRKBY E.A. Principles of plant nutrition. 5th ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 849p. 2001.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MIMI, C.O., DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I., CAIXETA SOUSA, M., APARECIDA RIBEIRO VIEIRA, M., ORTIZ MAYO MARQUES, M., FERREIRA, G., & SILVIA FERNANDES BOARO, C. (2021). Chemophenetics as a Tool for Distinguishing Morphotypes of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. *Chemistry & Biodiversity*, 18(10), e2100544.

MORRIS, D. L. Quantitative Determination of Carbohydrates With Dreywood's Anthrone Reagent. *Science*, v. 107, n. 2775, p. 254-255, 1948.

MOSTAFA, G. G.; ABOU ALHAM, M. F. Effect of Gibberellic Acid and Indole 3-acetic Acid on Improving Growth and Accumulation of Phytochemical Composition in *Balanites aegyptiaca* Plants. *American Journal of Plant Physiology*, v. 6, n. 1, p. 36–43, 1 jan. 2011. Disponível em: <<http://www.scialert.net/abstract/?doi=ajpp.2011.36.43>>.

MURCIA, G.; FONTANA, A.; PONTIN, M.; BARALDI, R.; BERTAZZA, G.; PICCOLI, P. N. ABA and GA3 regulate the synthesis of primary and secondary metabolites related to alleviation from biotic and abiotic stresses in grapevine. *Phytochemistry*, v. 135, p. 34–52, mar. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942216302734>>.

MUTHULAKSHMI, S.; PANDIYARAJAN, V. Influence of IAA on the vincristine content of *Catharanthus roseus* (L). G . Don . *Asian Journal of Plant Science and Research*, v. 3, n. 4, p. 81–87, 2013.

NUNES-NESSI A, FERNIE AR, STITT M. Metabolic and Signaling Aspects Underpinning the Regulation of Plant Carbon Nitrogen Interactions. *Molecular Plant*. 3: 973-996, 2010.

PARMOON, G., EBADI, A., JAHANBAKHS, S., HASHEMI, M., & MOOSAVI, S. A. Effect of exogenous application of several plant growth regulators on photosynthetic pigments of fennel plants. *Notulae Scientia Biologicae*, 10(4), 508-515, 2018.

PASQUALI, G.; GODDIJN, O. J. M.; DE WAAL, A.; VERPOORTE, R.; SCHILPEROORT, R. A.; HOGE, J. H. C.; MEMELINK, J. Coordinated regulation of two indole alkaloid biosynthetic genes from *Catharanthus roseus* by auxin and elicitors. *Plant Molecular Biology*, v. 18, n. 6, p. 1121–1131, 1992.

PEIXOTO PHP, CAMBRAIA J., SANT'ANNA R., MOSQUIM PR, MOREIRA, MA. Efeitos do alumínio na peroxidação lipídica e na atividade de enzimas do metabolismo oxidativo em sorgo. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 11 (3): 137-143, 1999.

PICHERSKY, E.; LEWINSOHN, E. Convergent Evolution in Plant Specialized Metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, v. 62, n. 1, p. 549–566, 2011. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-arplant-042110-103814>>.

Plant. 1970, 23, 258.

RILEY-SALDAÑA CA, CRUZ-ORTEGA MDR, MARTÍNEZ VÁZQUEZ M, DE-LA-CRUZ-CHACÓN I, CASTRO-MORENO M, GONZÁLEZ-ESQUINCA AR. Acetogenins and alkaloids during the initial development of *Annona muricata* L. (Annonaceae). *Zeitschrift für Naturforschung C*. 72(11–12): 497–506, 2017.

ROBINSON, T.; *Science* 1974, 184, 430.

ROCA-PÉREZ, L.; BOLUDA, R.; GAVIDIA, I.; PÉREZ-BERMÚDEZ, P.; *Phytochemistry*. 65, 1869, 2004.

SINGH A, PANDEY B, KUMARI S, AGRAWAL M. 2015. Nitrogen availability modulates CO₂-induced responses of *Catharanthus roseus*: Biomass allocation, carbohydrates and alkaloids profile. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 2:160-167.

SINGH BRAR, H. et al. Girdling and grapevine leafroll associated viruses affect berry weight, colour development and accumulation of anthocyanins in ‘Crimson Seedless’ grapes during maturation and ripening. *Plant Science*, v. 175, n. 6, p. 885-897, 2008.

SOUSA MC, BRONZATTO AC, GONZÁLEZ-ESQUINCA AR, CAMPOS FG, DALANHOL SJ, BOARO CSF, MARTINS AL, DA SILVA ALMEIDA JRG, COSTA EV, DE-LA-CRUZ-CHACÓN I, FERREIRA G. The production of alkaloids in *Annona cacans* seedlings is affected by the application of GA₄₊₇ + 6-Benzyladenine. *Biochemical Systematics and Ecology*. 84(April): 47–51, 2019.

TEISSEIRE H, GUY V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant science*. 153(1): 65-72, 2000.

TSUCHIYA, T.; OHTA, H.; OKAWA, K.; IWAMATSU, A.; SHIMADA, H.; MASUDA, T.; TAKAMIYA, K. -i. Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: Finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 96, n. 26, p. 15362–15367, 21 dez. 1999. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.96.26.15362>>.

VEROTTI, T. do P.; OLIVEIRA, C. G. de; SOUZA PARREIRAS, N. de; GONÇALVES, F. C. M.; CORRÊA, C. V.; FERREIRA, G.; CAMPOS, F. G.; BOARO, C. S. F. Vegetal regulators increase the quality of atemoya fruits and recover the photosynthetic metabolism of stressed plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 41, n. 9, p. 1–8, 2019. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0217930>>.

VERPOORTE, R. Secondary Metabolism. In: *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000. p. 1–29.

WALLAART TE, PRAS N, BEEKMAN AC, QUAX WJ. Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* of different geographical origin: Proof for the existence of chemotypes. *Planta Médica*. 66(1): 57–62, 2000.

YEMM, E. W.; FOLKES, B. F. The regulation of respiration during the assimilation of nitrogen in *Torulopsis utilis*. *Biochemical Journal*, v. 57, n. 3, p. 495, 1954.