

IMPACTO DAS ESTAÇÕES HÍDRICAS DO CERRADO
PAULISTA NOS METABOLISMOS PRIMÁRIO E
ESPECIALIZADO DE *Xylopia Aromatica* (Lam.) Mart.

LETÍCIA GALHARDO JORGE

Tese apresentada ao Instituto de Biotecnologia,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do
título de Doutor no Programa de Pós- graduação
em Biologia Vegetal.

BOTUCATU - SP

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**IMPACTO DAS ESTAÇÕES HÍDRICAS DO CERRADO
PAULISTA NOS METABOLISMOS PRIMÁRIO E
ESPECIALIZADO DE *Xylopia Aromatica* (Lam.) Mart.**

LETÍCIA GALHARDO JORGE

PROF^a DR^a CARMEN SÍLVIA FERNANDES BOARO

ORIENTADORA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do
título de Doutor no Programa de Pós-graduação
em Biologia Vegetal.

BOTUCATU - SP

2024

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

Jorge, Leticia Galhardo.

Impacto das estações hídricas do cerrado paulista nos
metabolismos primário e especializado de *Xylopia Aromatica*
(Lam.) Mart. / Leticia Galhardo Jorge. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Carmen Silvia Fernandes Boaro
Capes: 20303009

1. Alcalóides. 2. Chuvas. 3. Fotossíntese. 4. Seca.
5. Terpenos.

Palavras-chave: Alcaloides; Chuva; Fotossíntese; Seca;
Terpenos.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE LETÍCIA GALHARDO JORGE, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BOTÂNICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 26 dias do mês de abril do ano de 2024, às 13:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de LETÍCIA GALHARDO JORGE, intitulada **Impacto das estações hídricas do Cerrado Paulista nos metabolismos primário e especializado de *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart.**

A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof.^ª Dr.^ª CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências Unesp Campus de Botucatu, Prof.^ª Dr.^ª GISELA FERREIRA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP, Pós-doutorando FELIPE GIROTTO CAMPOS (Participação Virtual) do(a) Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Prof.^ª Dr.^ª VILMA MARQUES FERREIRA (Participação Virtual) do(a) Engenharia e Ciências Agrárias / Universidade Federal de Alagoas, Prof. Dr. IVÁN DE LA CRUZ CHACÓN (Participação Virtual) do(a) Instituto de Ciências Biológicas / Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: _Aprovada _ . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof.^ª Dr.^ª CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

Dedico

Com amor e carinho, aos meus pais João Henrique Jorge, Roselaine Ap. Galhardo Jorge e ao meu irmão Rodrigo Galhardo Jorge, que sempre me incentivaram, apoiaram e me deram amor incondicional. Vocês são a minha base, exemplo de caráter, honestidade, dignidade e respeito.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo e ao auxílio financeiro.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

A Deus por estar sempre presente em minha vida, pelas oportunidades postas em meu caminho, por sempre me guiar e proteger, me permitindo chegar até aqui.

À minha orientadora, Profa. Dra. Carmen Sílvia Fernandes Boaro pelos ensinamentos, pela paciência, amizade, sabedoria e por sua presença e dedicação em todas as etapas do projeto, e também por depositar sua confiança em mim para a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques, por toda contribuição e que gentilmente me recebeu no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e por permitir o uso de seu laboratório.

À Roselaine Facanali e Paulo Henrique Furlan pela ajuda nas análises cromatográficas realizadas no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

Aos membros da banca examinadora, pelas correções e contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos meus pais e ao meu irmão, que são as inspições da minha vida e que me ensinaram a agir sempre com amor ao próximo, respeito, humildade e honestidade. Mesmo diante das dificuldades que trilhamos juntos nos últimos anos, não mediram esforços para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus familiares, que sempre estiveram presentes em minha vida, acreditam em mim e por saber que poderia contar com o apoio de todos vocês.

Ao Bruno Novaes pela ajuda nas coletas, pelo amor, compreensão, paciência, carinho, apoio e por se fazer tão presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus professores da graduação em Ciências Biológicas (Unesp – Botucatu), por todo conhecimento adquirido.

Aos meus amigos de departamento e laboratório, pelos momentos de descontração, conversas e ajuda nas análises laboratoriais, em especial ao Felipe Giroto Campos, pelo apoio

e colaboração na execução deste trabalho. Obrigada pela paciência e por tudo o que me ensinou. Minha eterna gratidão a você.

A família do Felipe Giroto Campos, em especial a sua mãe Fátima, que me recebeu de braços abertos em sua casa durante as minhas quatro coletas em sua cidade, Santa Fé do Sul. Muito obrigada pelo acolhimento, carinho, atenção, conversas e pelas suas comidas feitas com tanto amor. Você é uma mulher incrível!

Aos meus amigos de Botucatu e que vou levar comigo para o resto da vida. Obrigada pela amizade, companheirismo e momentos de descontração.

A todos os professores do curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) pelos ensinamentos adquiridos.

Aos funcionários do departamento de Biodiversidade e Bioestatística (setor de Fisiologia vegetal), pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram e participaram dessa fase tão importante da minha vida.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. OBJETIVOS.....	12
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1. Metabolismo primário e especializado.....	12
3.2. Família Annonaceae.....	14
3.3 Atividades biológicas de compostos do metabolismo especializado do gênero <i>Xylopi</i> a.....	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
CAPÍTULO I: Modulação dos metabolismos primário e especializado de <i>Xylopi</i> a <i>aromatica</i> (Lam.) Mart. nas épocas seca e chuvosa do cerrado paulista.....	22
Resumo.....	23
Abstract.....	24
1. Introdução.....	25
2. Material e métodos.....	27
Material vegetal e condições ambientais.....	27
Fluorescência da clorofila <i>a</i>	29
Trocias gasosas.....	30
Carboidratos, atividade enzimática e peroxidação lipídica.....	30
Secagem das folhas e extração do óleo essencial.....	31
Rendimento e caracterização da composição química do óleo essencial.....	31
Extração, quantificação e perfil dos alcaloides benzilisoquinolínicos.....	31
3. Resultados.....	33
4. Discussão.....	48

5. Conclusão.....	53
6. Referências bibliográficas.....	54
CAPÍTULO II: Terpenos e alcaloides de <i>Xylopi</i> <i>a aromatica</i> (Lam.) Mart. com potencial atividade biológica.....	62
Resumo.....	63
Abstract.....	64
1. Introdução.....	65
2. Material e métodos.....	66
Material vegetal	66
Secagem das folhas e extração do óleo essencial.....	67
Caracterização da composição química do óleo essencial.....	67
Extração, quantificação e perfil dos alcaloides benzilisoquinolínicos.....	67
3. Resultados.....	68
4. Discussão.....	69
5. Conclusão.....	74
6. Referências bibliográficas.....	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80

Resumo

Xylopia aromatica (Lam.) Mart., espécie pertencente à família Annonaceae, apresenta ampla distribuição no Brasil, sendo uma das espécies recomendadas para fins de recuperação de áreas degradadas de cerrado. O metabolismo vegetal é dividido em primário e especializado. O primário, é responsável pela síntese de carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, gerando energia e poder redutor a partir de reações de oxido-redução de compostos orgânicos. O metabolismo especializado, é responsável por produzir compostos vitais para as espécies vegetais, atuando como atrativos ou repelentes de polinizadores, na proteção contra radiação UV e poluição, estresse hídrico, sinalização intraespecífica, entre outros. Os metabólitos especializados, formados a partir de produtos gerados na fotossíntese, são responsáveis por expressar a individualidade das espécies, devido a sua grande plasticidade genética e diversidade, garantindo adaptações à mediação de fatores bióticos, relacionados a espécies de plantas e abióticos, relacionados ao ambiente em que a espécie se encontra. Existem diversos fatores capazes de influenciar a biossíntese desses compostos, levando a alterações no metabolismo especializado da planta, podendo alterar sua atividade biológica. A manutenção dos níveis normais de espécies reativas de oxigênio, em resposta a fatores bióticos e abióticos é fundamental para os mecanismos fisiológicos, como a regulação de vias de sinalização celular, ativação de genes e respostas de defesa. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar se a atividade enzimática do sistema antioxidante e a síntese de carboidratos, terpenos e alcaloides de *Xylopia aromatica* produzidos na época seca diferem daqueles produzidos na época chuvosa e identificar compostos do metabolismo especializado com potencial atividade biológica.

Palavras-chave: fotossíntese, terpenos, alcaloides, seca, chuva

Abstract

Xylopia aromatica (Lam.) Mart., a species belonging to the Annonaceae family, has a wide distribution in Brazil, being one of the recommended species for the purpose of recovering degraded areas of cerrado. Plant metabolism is divided into primary and specialized. The primary one is responsible for the synthesis of carbohydrates, proteins, lipids and nucleic acids, generating energy and reducing power from oxidation-reduction reactions of organic compounds. Specialized metabolism is responsible for producing vital substances for plant species, acting as attractants or repellents for pollinators, protection against UV radiation and pollution, water stress, intraspecific signaling, among others. Specialized metabolites, formed from products generated in photosynthesis, are responsible for expressing the individuality of species, due to their great genetic plasticity and diversity, ensuring adaptations to the mediation of biotic factors, related to plant species and abiotic factors, related to the environment in which the species is found. There are several factors capable of influencing the biosynthesis of these compounds, leading to changes in the plant's specialized metabolism, which can alter its biological activity. Maintaining normal levels of reactive oxygen species in response to biotic and abiotic factors is fundamental for physiological mechanisms, such as the regulation of cell signaling pathways, gene activation and defense responses. Therefore, the objective of this work is to evaluate whether the enzymatic activity of the antioxidant system and the synthesis of carbohydrates, terpenes and alkaloids of *Xylopia aromatica* produced in the dry season differ from those produced in the rainy season and to identify specialized metabolism substances with potential biological activity.

Keywords photosynthesis, terpenes, alkaloids, drought, rain

1. INTRODUÇÃO GERAL

Xylopia aromatica (Lam.) Mart., popularmente conhecida como pimenta-de-macaco ou pindaíba, é uma espécie arbórea pertencente à família Annonaceae (LOPES et al., 2011; LORENZI, 2014) e apresenta ampla distribuição no Brasil, podendo ser encontrada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Centro-Sul (RATTER et al., 1996). É uma das espécies recomendadas para fins de recuperação de áreas degradadas situadas principalmente em locais com solos pobres e com déficit hídrico (SOCOLOWSKI et al., 2012).

O metabolismo vegetal é dividido em primário e especializado. Como metabolismo primário, caracterizam-se os processos comuns à maioria das espécies vegetais, e que levam à síntese de carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, gerando energia e poder reductor a partir de reações de oxido-redução de compostos orgânicos (DE REZENDE et al., 2016). O metabolismo especializado, não está envolvido em processos geradores de energia, no entanto, compostos provenientes de vias especializadas também são vitais para as espécies vegetais, podendo atuar como atrativos ou repelentes de polinizadores, na proteção contra radiação UV e poluição, estresse hídrico, sinalização intraespecífica, alelopatia, entre outros (DIXON; PAIVA, 1995; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; GONÇALVEZ; GUAZZELI, 2014).

Os metabólitos especializados, formados a partir de produtos gerados na fotossíntese, são responsáveis por expressar a individualidade de famílias, gêneros e, até mesmo espécies vegetais, devido a sua grande plasticidade genética e diversidade, garantindo adaptações à mediação de fatores bióticos, relacionados a espécies de plantas e abióticos, relacionados ao ambiente em que a espécie se encontra (TRAPP; CROTEAU, 2001; SHAO et al., 2007; MOORE et al., 2014; DE REZENDE et al., 2016).

Os compostos do metabolismo especializado são diversos, podendo existir mais de 200.000 metabólitos conhecidos (YANG et al., 2015), que são sintetizados a partir de precursores provenientes do metabolismo primário, principalmente a acetil coenzima A (acetil-CoA), ácido chiquímico, ácido mevalônico e o metileritritol fosfato. Os metabólitos especializados são sintetizados em diferentes compartimentos celulares, por quatro vias de biossíntese, sendo: via do acetato malonato, do ácido mevalônico (MEV), do metileritritol fosfato (MEP) e do ácido chiquímico (DEWICK, 2009; SIMÕES et al., 2010) e, por meio destas vias, é que são formados os três principais grupos de metabólitos especializados, os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (BORGES et al., 2017).

Existem diversos fatores capazes de influenciar a biossíntese de metabólitos especializados, podendo interferir na sua qualidade e quantidade (TRAPP; CROTEAU, 2001; SHAO et al., 2011). Dentre eles, pode-se citar a época de coleta do material vegetal, considerado um dos fatores de maior importância, uma vez que a quantidade e, até mesmo a

natureza das substâncias, não são constantes durante o ano. Na literatura, são relatadas variações sazonais no conteúdo de várias classes de metabólitos especializados, como os óleos essenciais, flavonoides, alcaloides, entre outros (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Ainda, alguns fatores fisiológicos, como fotossíntese, abertura e fechamento estomático, mobilização de reservas e expansão foliar, podem ser alterados por falta de água, levando a alterações no metabolismo especializado (GOBBO-NETO; LOPES 2007) e, podendo alterar consequentemente, a atividade biológica desses compostos.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é avaliar se a atividade enzimática do sistema antioxidante e a síntese de carboidratos, terpenos e alcaloides de *Xylopiá aromática* produzidos na época seca diferem daqueles produzidos na época chuvosa e identificar compostos do metabolismo especializado com potencial atividade biológica.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Metabolismo primário e especializado

Todos os seres vivos necessitam sintetizar uma diversidade de substâncias para garantir sua sobrevivência e, apesar das suas diferenças morfológicas, utilizam-se de uma série de reações químicas, conhecida como rota metabólica. Em espécies vegetais, muitas dessas substâncias são essenciais para manutenção da espécie e são produzidas a partir do seu metabolismo primário, responsável pela síntese de carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, gerando energia e poder redutor a partir de reações de oxido-redução de compostos orgânicos. Em contrapartida, existem rotas metabólicas responsáveis por originar substâncias que não estão envolvidas em processos fundamentais na manutenção da vida, mas que desempenham papel importante na interação das plantas e o ambiente em que se encontram, atuando na defesa vegetal, na proteção contra agentes bióticos e abióticos e auxiliando na reprodução (DEWICK, 2009; PAGARE et al., 2015; DE REZENDE et al., 2016).

Há uma diversidade de metabólitos especializados, sintetizados em diferentes compartimentos celulares, por quatro vias de biossíntese, a via do acetato malonato, do ácido mevalônico (MEV), do metileritritol fosfato (MEP) e do ácido chiquímico. Através dessas vias são formados os três principais grupos de metabólitos especializados, os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (DEWICK, 2009; SIMÕES et al., 2010) (Figura 1).

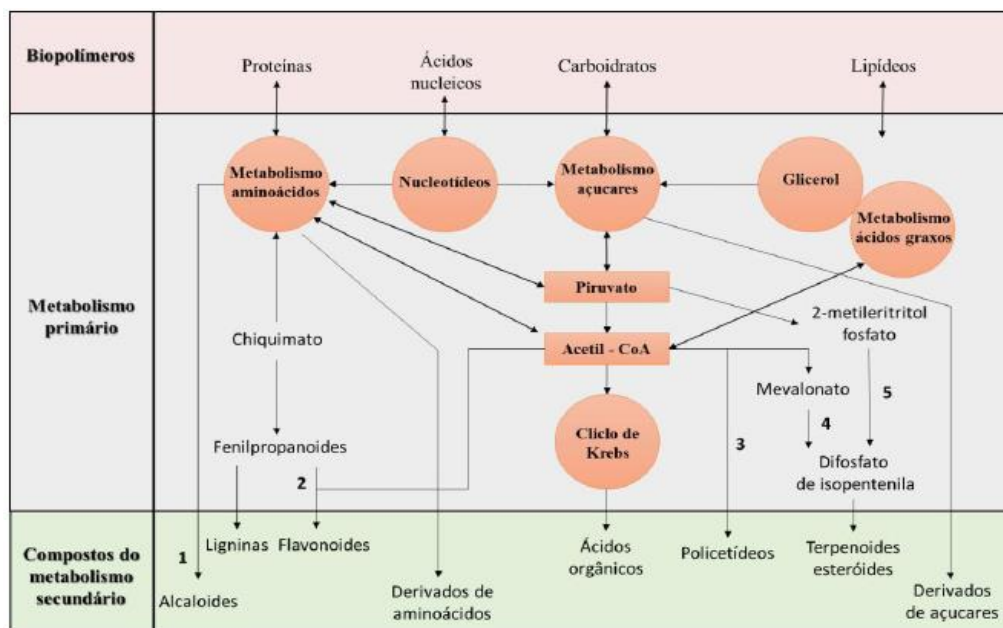


Figura 1. Principais etapas envolvidas na biossíntese dos metabólitos especializados. Fonte: Adaptada de Simões e colaboradores, 2010.

Apesar de existir uma regulação genética por trás dos indivíduos, a biossíntese dos metabólitos especializados representa a interação química entre a espécie vegetal e o ambiente em que se encontra, uma vez que, esses metabólitos desempenham papéis biológicos como resposta a adaptação ao meio. Sendo assim, dependendo das condições e dos estímulos ambientais em que a espécie se encontra, diferentes compostos poderão ser sintetizados em função do redirecionamento de vias metabólicas responsáveis pela produção desses compostos (DEWICK, 2009; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; BORGES et al., 2017).

Dentre os estímulos ambientais associados às alterações na síntese de metabólitos especializados, destacam-se fatores bióticos como a interação entre as plantas e outros organismos, idade e o estágio de desenvolvimento da planta e o seu ciclo circadiano; e fatores abióticos como, temperatura, umidade, intensidade da luz, sazonalidade, disponibilidade de nutrientes, água e CO₂ (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Nesse contexto, fatores climáticos, como temperatura e precipitação, têm sido apontados como importantes influências na produção e acúmulo de metabólitos especializados em várias plantas aromáticas (BOTREL, 2010). Em estudo com *Xylopiá sericea* St. Hill., a sazonalidade e disponibilidade de água no solo interferiu no seu metabolismo especializado, mostrando-se efetivo durante a estação seca (DE MACEDO MARTINS, 2012). De acordo com Sampaio et al. (2016), a falta de água pode ocasionar em um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), aumentando a síntese de compostos fenólicos como mecanismo de defesa do vegetal.

Em sistemas biológicos, as ERO são constantemente geradas pelo metabolismo celular, como subprodutos de diferentes vias metabólicas que ocorrem em compartimentos celulares que apresentam alto fluxo de elétrons, como mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos. A manutenção dos níveis normais de espécies reativas de oxigênio é fundamental para os mecanismos fisiológicos, como a regulação de vias de sinalização celular, ativação de genes e respostas de defesa (BARBOSA et al., 2010; DE REZENDE et al., 2016; XU et al., 2017).

As espécies vegetais como organismos sésseis estão constantemente submetidas a estresses ambientais, ocorrendo a produção de ERO, geradas principalmente pelo transporte de elétrons. De forma a controlar sua produção e evitar seu efeito tóxico, às células vegetais apresentam um sistema antioxidante presente na maioria de seus compartimentos que visa a eliminação das ERO. Este sistema inclui tanto componentes enzimáticos como não-enzimáticos (CAO et al., 2015; DE REZENDE et al., 2016).

No sistema antioxidante enzimático, ocorre a ativação de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase e peroxidases, que podem ser utilizadas como sinalizadores moleculares (VRANOVA; INZE; BREUSEGEM, 2002; SELMAR; KLEINWÄCHTER, 2013). Além disso, a peroxidação lipídica é a variável que confirma o nível de estresse e a eficiência do sistema antioxidante na sua contenção, uma vez que, permite monitorar o dano causado por ERO com o acúmulo de malondialdeído (APEL; HIRT, 2004). As espécies vegetais também possuem sistema antioxidante não enzimático exercido por substâncias do metabolismo especializado, como alcaloides, flavonoides e terpenos (DE REZENDE et al., 2016).

Além disso, as mudanças climáticas recentes têm intensificado as condições de seca e chuvas intensas, impactando também a fotossíntese, produção de energia, síntese e transporte de moléculas e íons nas plantas (MARTINAZZO et al., 2013). Plantas em ambientes de estresse hídrico, por exemplo, tendem a evitar a perda excessiva de água regulando sua condutância estomática e aumentando a eficiência do uso da água (EUA), que pode variar conforme as condições ambientais (HESCHEL et al., 2002; YAN et al., 2010). A fotossíntese em plantas em condições de seca é inibida principalmente pela menor assimilação de CO₂ devido à menor condutância estomática (YAN et al., 2010).

3.2. Família Annonaceae

A família Annonaceae pertence ao grupo Eudicotiledôneas e compreende aproximadamente 110 gêneros e 2400 espécies (SOUZA; LORENZI, 2008; CHATROU et al., 2012). No Brasil, estão registrados cerca de 30 gêneros e 260 espécies, presentes em praticamente todas as formações vegetais (SOUZA; LORENZI, 2008). De forma geral, as

espécies de anonáceas são de hábito arbóreo, folhas alternadas, dísticas, simples, sem estipulas, margem inteira e veneção peninérvea. Inflorescência cimosa, flores geralmente grandes, vistosas e bissexuadas, diclamídeas; fruto apocárpico ou sincárpico (LOBÃO et al., 2005; JUDD et al., 2009).

Annonaceae desempenha um papel ecológico importante em termos de diversidade de espécies, especialmente em ecossistemas de florestas tropicais (DE SOUZA et al., 2015). No Brasil, a família tem ocorrência confirmada em todos os estados, sendo aqui descritas cerca de 380 espécies, distribuídas em 32 gêneros. O bioma Amazônia contém três quartos de todas as espécies de Annonaceae. Enquanto isso, a Mata Atlântica abriga 98 espécies e o Cerrado possui aproximadamente 52 (LOBÃO et al., 2020).

Economicamente, diversos gêneros da família Annonaceae são de grande importância como fonte de grupos comestíveis e matéria prima para cosméticos, perfumaria e plantas medicinais (LORENZI, 1998; JOHNSON et al., 2000; PIMENTA et al., 2003; FERREIRA et al., 2020). Muitas espécies possuem fragrância devido à presença de óleos essenciais e aromas, que ocorrem na madeira, casca, folhas, flores, frutos e raiz (YOLANDA RÍOS et al., 2003; ALMEIDA et al., 2010; LIMA et al., 2015).

Entre os gêneros de Annonaceae mais estudados, destacam-se *Annona* spp., *Duguetia* spp. e *Xylopi*a spp., pois os diversos produtos vegetais, e as substâncias isoladas a partir destes, demonstraram potencial atividade biológica (LIMA et al., 2015). A maioria dos estudos realizados com óleos essenciais de Annonaceae ocorrendo no Brasil, publicados entre os anos de 2011 e 2021, foram realizados com espécies pertencentes aos gêneros *Annona*, *Guatteria* e *Xylopi*a (CASCAES et al., 2021). Até o momento, cerca de 100 constituintes químicos voláteis (> 5%) foram obtidos a partir de óleos essenciais de espécies de Annonaceae coletadas no Brasil. Entre estes compostos, α -pineno, β -pineno, limoneno, (E)-cariofileno, biciclogermacreno, óxido de cariofileno, germacreno D, espatulenol e β -elemeno são os mais abundantes (CASCAES et al., 2021).

O óleo essencial da espécie *Annona cherimola*, isolado de folhas, flores e frutos, apresentou ação antimicrobiana contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis* e *Candida albicans* (YOLANDA RÍOS et al., 2003). Estudo realizado com óleos essenciais obtidos das folhas de *Annona crassiflora* revela atividade antifúngica frente a cepas de *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, dentre outros (LIMA; FARIAS, 1994). Além disso, os óleos essenciais de *Duguetia gardneriana* Mart. e *D. moricandiana* Mart. foram ativos contra linhagens de *Candida guilliermondii* e *C. albicans*, respectivamente (YOLANDA RÍOS et al., 2003; ALMEIDA et al., 2010). As espécies *Annona muricata* L., semelhantes a outras espécies de

Annona, incluindo *A. squamosa* L. e *A. reticulata* L., são amplamente utilizadas na medicina tradicional contra uma variedade de doenças, especialmente câncer e infecções parasitárias. Os frutos de *A. muricata* são usados como remédio natural para doenças como nevralgia, artrite, diarreia, disenteria, febre, malária, parasitas, reumatismo, erupções cutâneas e vermes. Além disso, muitas mulheres comem a fruta para aumentar a produção de leite materno após o parto. As folhas desta espécie são usadas para tratar cistite, diabetes, dores de cabeça e insônia. O extrato feito das folhas tem efeitos anti-reumáticos e neurológicos, enquanto as folhas cozidas são utilizadas no tratamento de abscessos e reumatismo (MOGHADAMTOUSI et al., 2015).

Algumas espécies de *Guatteria* são utilizadas na medicina tradicional; no Norte do Brasil, as sementes de *G. ouregou* (Aubl.) Dunal são usadas para tratar dispepsia, dores de estômago e dores uterinas (MAIA et al., 2005). A espécie *Duguetia furfuracea* (A.St.-Hil.) Saff. é conhecido como “araticum-seco”. Na medicina popular, o pó de suas sementes é misturado com água para uso no tratamento de pediculose, enquanto uma infusão de suas folhas e galhos é usada para tratar reumatismo (DA SILVA et al., 2007). *Duguetia lanceolata* A.St.-Hil., popularmente conhecida como pindaíba, beribá ou pinhão, é uma espécie perene distribuída em vários estados do Brasil; na medicina popular, essa planta tem sido usada como antiinflamatório, cicatrizante e como agente antimicrobiano (SOUSA et al., 2012).

3.3. Atividades biológicas de compostos do metabolismo especializado do gênero

Xylopi

Xylopi é um dos 33 gêneros da família Annonaceae existentes no Brasil (LORENZI, 2002) que se destaca por apresentar 150 espécies amplamente distribuídas em diversas partes do mundo (BRUMMITT, 1992). Do ponto de vista químico, esse gênero tem sido exclusivamente estudado devido às numerosas espécies odoríferas.

Dentre as espécies, destaca-se a *Xylopi aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae), conhecida popularmente como pimenta-de-macaco (MAIA et al., 2005), uma espécie arbórea cujos frutos podem ser utilizados como tempero (RIOS; PASTORES, 2011). É recomendada para a recuperação de áreas degradadas de "Cerrado" no estado de São Paulo (Resolução SMA nº 47/2003). Além disso, suas folhas, flores e frutos possuem óleo essencial, rico em mono e sesquiterpenos (LAGO et al., 2003; ANDRADE et al., 2004; MAIA et al., 2005).

Alguns estudos mostram que a composição e rendimento do óleo essencial variam em função do órgão de interesse e localização das plantas. Plantas de *Xylopi aromatica* coletadas no estado do Pará, Brasil, revelaram nas flores e frutos a presença de limoneno (44% e 36%), α -pineno (24% e 19%) e β -pineno (16% e 13%). Bicyclogermacreno (36,5%) e espatulenol

(20,5%) foram majoritários nas folhas (ANDRADE et al., 2004, MAIA et al., 2005). Em folhas frescas de *X. aromatica* coletadas no cerrado em Araraquara, São Paulo, Brasil, foram determinados α -pineno (26%), limoneno (22%), biciclogermacreno (20%) e β -pineno (19%), com rendimento de óleo essencial de 0,08% (LAGO et al., 2003).

No Brasil, espécies vegetais do Cerrado, Mata Atlântica e Floresta Amazônica têm sido estudadas e utilizadas como medicamentos para o tratamento de doenças, incluindo infecções causadas por fungos e bactérias. Isso acontece devido ao grande número de constituintes químicos encontrados nessas espécies que são responsáveis pela atividade biológica, em especial, antibacteriana e antifúngica (LIMA et al., 2015).

Alguns microrganismos têm se mostrado resistentes diante da utilização de alguns medicamentos antifúngicos sintéticos (KHAN et al., 2009). Devido a isso, surge o interesse de identificar substâncias alternativas ao uso de medicamentos tradicionais. Dessa forma, foram e estão sendo desenvolvidos muitos trabalhos científicos que revelam a atividade biológica de óleos essenciais. Neste contexto, plantas do gênero *Xylopi* se destacam na busca de novos bioativos devido aos inúmeros compostos especializados presentes (PIMENTA et al., 2009).

Existem relatos encontrados na literatura demonstrando o potencial antimicrobiano do gênero *Xylopi*. Em estudo recente, óleos essenciais de sementes secas de *X. aethiopica* apresentaram excelente atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* e atividade moderada contra *Escherichia coli* (NDOYE et al., 2024). Os óleos essenciais de *X. aethiopica* e *X. parviflora* foram testados e foram ativos contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (HASSAN et al., 2014; WOGUEM et al., 2014) Alguns fungos dermatófitos como *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum spp.* tiveram seu crescimento inibido pelo óleo essencial das folhas de *Xylopi frutescens* Aubl. (LIMA et al., 1992).

Em estudo recente, a composição química e a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de flores e folhas de *Xylopi aromatica* foram testados. Os principais compostos identificados no óleo essencial das folhas foram: espatulenol (27,11%), khusinol (13,04%), biciclogermacreno (8,52%), globulol (6,47%), *cis*-guaia-3,9-dien-11-ol (5,98%), 2-epi- α -cedren-3-ona (4,69 %) e elemicina (4,32 %). O óleo essencial das flores apresentou pentadecan-2-ona (16,38%), biciclogermacreno (9,74%), 7-epi- α -eudesmol (7,76%), khusinol (7,23%), *n*-tricosano (6,17%), heptadecan-2-ona (5,83%), entre outros. Em relação a atividade biológica, as menores concentrações inibitórias mínimas (CIM) foram observadas frente à *Streptococcus pyogenes* (200 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para as flores e folhas, respectivamente. Quanto ao potencial antifúngico, o óleo essencial das folhas apresentou atividade moderada (500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) frente à *Candida albicans* (DO NASCIMENTO et al., 2018).

Além disso, os alcaloides são um dos compostos isolados com mais frequência em espécies de *Xylopi*a. Dímeros de benzilisoquinolina foram isolados de *X. columbiana* (GRANELL et al., 2004) e de *X. parviflora* (NISHIYAMA et al., 2006). O fracionamento guiado por bioensaios do extrato das partes aéreas de *X. aethiopica* levou ao isolamento de oxofebina e liriodenina (HARRIGAN et al., 1994). Nishiyama et al. (2006), estudaram a atividade antinociceptiva da casca de *X. parviflora* e investigaram os principais alcaloides das frações que apresentaram efeitos significativos, como (+)-glaucina e (+)-corituberina que exibiram fortes efeitos analgésicos.

Os estudos acima registrados desmonstram potencial atividade biológica do óleo essencial e alcaloides do gênero *Xylopi*a, incluindo a espécie *Xylopi*a *aromatica*. No entanto, a literatura não traz referências que relacionam o metabolismo primário e o especializado, de forma a destacar a influência das épocas seca e chuvosa na composição química e potencial atividade biológica das substâncias encontradas no perfil do óleo essencial e dos alcaloides.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001.

ANDRADE, E. H. A. et al. Essential oil composition from leaf, fruit and flower of *Xylopi*a *aromatica* (Lam.) Mart. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 7, n. 2, p. 151–154, 2004.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373–99, 2004.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BORGES, C. V. et al. Medicinal plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites. **Medicinal Plants and Environmental Challenges**, p. 259-277, 2017.

CAO, B. L. et al. Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 53–62, 2015.

CASCAES, M. M. et al. Essential oils from Annonaceae species from Brazil: a systematic review of their phytochemistry, and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12140, 2021.

DE REZENDE, F. M. et al. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, p. 93, 2016.

DEWICK, P.M. Medicinal Natural Products – A biosynthetic approach. Third edition. **John Wiley and Sons**. West Sussex, UK, 2009.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The plant cell**, v. 7, n. 7, p. 1085-1097, 1995.

DO NASCIMENTO, M. N. G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Xylopia aromatica* (Annonaceae) flowers and leaves. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, p. 1578–1590, 2018.

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.

GONÇALVEZ, A.; GUAZZELLI, M. J. **Agrofloresta e óleos essenciais**. 2014.

GRANELL, S. et al. Bisbenzyltetrahydro isoquinolines, a new class of inhibitors of the mitochondrial respiratory chain complex I. **Planta medica**, v. 70, n. 03, p. 266-268, 2004.

HARRIGAN, G. G. et al. Isolation of bioactive and other oxoaporphine alkaloids from two annonaceous plants, *Xylopia aethiopica* and *Miliusa* cf. *banacea*. **Journal of natural products**, v. 57, n. 1, p. 68-73, 1994.

LOBÃO, A.Q. et al. **Annonaceae in Flora do Brasil**. 2020.

LOPES, S. F. et al. Caracterização ecológica e distribuição diamétrica da vegetação arbórea em um remanescente de floresta estacional semidecidual na Fazenda Experimental do Glória, Uberlândia, MG. **Bioscience Journal**, v. 27, p. 322-335, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 2014.

MAIA, J. G. S. et al. Leaf volatile oils from four Brazilian *Xylopi*a species. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 5, p. 474–477, 2005.

MOORE, B. D. et al. Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. **New Phytologist**, v. 201, n. 3, p. 733-750, 2014.

MUSLIM HASSAN, A.; ZOHEIR ALMAGBOUL, A.; ABDELGADIR, H. Antimicrobial activity of the fruits essential oil of *Xylopi*a *aethiopi*ca [Dun.] A. Rich. **Advancement in Medicinal plant Research**, v. 2, n. 4, p. 58-61, 2014.

NDOYE, S. F. et al. Chemical Constituents and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oil from Dried Seeds of *Xylopi*a *aethiopi*ca. **Biochemistry Research International**, v. 2024, 2024.

NISHIYAMA, Y. et al. Secondary and tertiary isoquinoline alkaloids from *Xylopi*a *parviflora*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 24, p. 2671-2675, 2006.

PAGARE, S. et al. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, p. 293-304, 2015.

RATTER, J. A. et al. Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation II: Comparison of the woody vegetation of 98 areas. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 53, n. 2, p. 153–180, 1996.

SAMPAIO, B. L. et al. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. **Scientific reports**, v. 6, p. 29265, 2016.

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v.42, p.558–566, 2013.

SHAO, H. B. et al. Understanding molecular mechanism of higher plant plasticity under abiotic stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 54, n. 1, p. 37–45, 2007.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: **Editora da UFRGS**, Florianópolis, 2010.

SOCOLOWSKI, F. et al. Viability of recently harvested and stored *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 3, p. 408-415, 2012.

TRAPP, S. C.; CROTEAU, R. B. **Genomic Organization of Plant Terpene Synthases**, 2001.

VANDENDOOL, H.; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, v. 11, n. 3, p. 463–71, 1963.

VRANOVA, E.; INZE, D.; BREUSEGEM, F. V. **Signal trans Oxid Stress**, v. 53, n. 372, p. 1227–1236, 2002.

WOGUEM, V. et al. Volatile oil from striped African pepper (*Xylopia parviflora*, Annonaceae) possesses notable chemopreventive, anti-inflammatory and antimicrobial potential. **Food Chemistry**, v. 149, p. 183–189, 2014.

XU, D. P. et al. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 1, p. 96, 2017.

YANG, H. Y.; LEE, T. H. Antioxidant enzymes as redox-based biomarkers: a brief review. **BMB reports**, v. 48, n. 4, p. 200-208, 2015.

CAPÍTULO I: Modulação dos metabolismos primário e especializado de *Xylopiá aromática* (Lam.) Mart. nas épocas seca e chuvosa no cerrado paulista

Resumo

Xylopia aromatica (Lam.) Mart., é uma espécie arbórea característica do Cerrado, encontrada também em Cerrado Amazônico e Floresta Estacional Decidual e recomendada principalmente para recuperação de áreas degradadas do Cerrado. As plantas são capazes de produzir substâncias diversas que desempenham funções importantes para sua sobrevivência e adaptação ao ecossistema, contribuindo para proteção contra estresses abióticos e bióticos, causado pela variação da intensidade das chuvas, temperatura, luminosidade, competição com outras plantas, pragas, doenças e herbívoros. Esses fatores ambientais podem influenciar o metabolismo primário das plantas e, conseqüentemente, o metabolismo especializado, alterando a produção e o perfil químico dos metabólitos. O crescente interesse de diversos setores industriais por matérias-primas alternativas, tem incentivado estudos envolvendo a caracterização do perfil químico dos óleos essenciais e de outros metabólitos especializados e a possível influência de fatores bióticos e abióticos na porcentagem relativa desses compostos. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar se a atividade enzimática e a síntese de carboidratos, alcaloides e terpenos de *Xylopia aromatica* produzidos na época seca diferem daqueles produzidos na época chuvosa. As variáveis, fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas, açúcares solúveis totais e amido, atividade enzimática do sistema antioxidante, extração, rendimento e caracterização química do óleo essencial, extração, perfil químico e quantificação dos alcaloides de *Xylopia aromatica* foram avaliadas em 20 plantas, coletadas nas épocas seca e chuvosa, em 2021 e reamostradas em 2022. Plantas coletadas em épocas secas de 2021 e 2022 apresentaram diferenças em relação à eficiência quântica, dissipação de energia, quenching fotoquímico e trocas gasosas. Em 2021 houve indícios de acionamento de mecanismos de fotoproteção, em 2022, houve potencial dano nos fotossistemas, com maior acúmulo de energia e menor produção de agentes redutores. Apesar disso, plantas coletadas em 2022 apresentaram maior eficiência no uso da água, indicando maior controle estomático. O rendimento do óleo essencial foi maior na época seca do ano de 2021, possivelmente devido à maior eficiência de carboxilação da RuBisCO com maior oferta de esqueletos carbônicos para síntese de terpenos. A composição química do óleo essencial e a produção de alcaloides variaram de acordo com as épocas de coleta, refletindo a influência das condições ambientais na síntese de metabólitos especializados.

Palavras-chaves: fotossíntese, óleo essencial, alcaloides, disponibilidade hídrica, sistema antioxidante

Abstract

Xylopia aromatica (Lam.) Mart., is a tree species characteristic of the Cerrado, also found in the Amazonian Cerrado and Seasonal Deciduous Forest and recommended mainly for the recovery of degraded areas of the Cerrado. Plants are capable of producing diverse substances that perform important functions for their survival and adaptation to the ecosystem, contributing to protection against abiotic and biotic stresses, caused by variations in rainfall intensity, temperature, light, competition with other plants, pests, diseases and herbivores. These environmental factors can influence the primary metabolism of plants and, consequently, the specialized metabolism, altering the production and chemical profile of metabolites. The growing interest of several industrial sectors in alternative raw materials has encouraged studies involving the characterization of the chemical profile of essential oils and other specialized metabolites and the possible influence of biotic and abiotic factors on the relative percentage of these compounds. Therefore, this study aimed to evaluate whether the enzymatic activity and synthesis of carbohydrates, alkaloids and terpenes of *Xylopia aromatica* produced in the dry season differ from those produced in the rainy season. The variables, chlorophyll a fluorescence, gas exchange, total soluble sugars and starch, enzymatic activity, extraction, yield and chemical characterization of the essential oil, extraction and quantification of alkaloids from *Xylopia aromatica* were evaluated in 20 plants, collected in the dry and rainy seasons, in 2021 and 2022. Plants collected in dry seasons of 2021 and 2022 showed differences in relation to quantum efficiency, energy dissipation, photochemical quenching and gas exchange. In 2021 there were signs of activation of photoprotection mechanisms, in 2022, there was potential damage to photosystems, with greater energy accumulation and lower production of reducing agents. Despite this, plants collected in 2022 showed greater water use efficiency, indicating greater stomatal control. The essential oil yield was higher in the dry season of 2021, possibly due to the greater carboxylation efficiency of RuBisCO with a greater supply of carbonic skeletons for terpene synthesis. The chemical composition of the essential oil and the production of alkaloids varied according to the collection times, reflecting the influence of environmental conditions on the synthesis of specialized metabolites.

Keywords: photosynthesis, essential oil, alkaloids, water availability, antioxidant system

1. INTRODUÇÃO

Xylopia aromatica (Lam.) Mart. (Annonaceae), popularmente conhecida como pimenta-de-macaco, embira, pindaíba e pimenta-de-bugre, é uma espécie arbórea característica do Cerrado, encontrada também em Cerrado Amazônico e Floresta Estacional Decidual (JUNQUEIRA et al., 2021; MAIA et al., 2005). É recomendada principalmente para recuperação de áreas degradadas do Cerrado no estado de São Paulo, Brasil (Resolução SMA nº 47/2003). Suas folhas, flores e frutos possuem óleo essencial rico em monoterpenos e sesquiterpenos (FOURNIER et al., 1994; LAGO et al., 2003; MAIA et al., 2005). Seus frutos, sementes, cascas e folhas são utilizados popularmente como vermífugo, antitérmico, no tratamento de cefaléia e processos inflamatórios renais (FAGUNDES et al., 2017; JESUS et al., 2020; MAIA, 2013; PASTORE, 2011).

O metabolismo primário, que consome grande parte da energia produzida pela planta, é essencial para o crescimento, desenvolvimento, maturação e reprodução de qualquer espécie vegetal e envolve fotossíntese, respiração e transporte de nutrientes na planta. Já o metabolismo especializado, dependente do primário, é responsável por originar os metabólitos especializados, cuja composição é característica para cada espécie (GONÇALVEZ; GUAZZELLI, 2014). A produção dos metabólitos especializados depende de compostos sintetizados no metabolismo primário, que está relacionado à produtividade das plantas, determinada pela quantidade de folhas e conseqüentemente pela capacidade fotossintética (DE FAZIO, 2011).

As plantas são capazes de produzir substâncias diversas, pertencentes a diferentes classes químicas, que desempenham funções importantes para sua sobrevivência e adaptação ao ecossistema, contribuindo também para sua proteção contra estresses abióticos e bióticos, que pode ser causado pela variação da intensidade das chuvas, temperatura, luminosidade, competição com outras plantas, pragas, doenças e herbívoros (ALVAREZ-CASTELLANOS; BISHOP; PASCUAL-VILLALOBOS, 2001.; ARIMURA; MATSUI; TAKABAYASHI, 2009). Esses fatores ambientais podem influenciar o metabolismo primário das plantas e, conseqüentemente, o metabolismo especializado, alterando a produção e o perfil químico dos metabólitos especializados (MACHADO et al., 2017).

Sob condições de estresse, espécies reativas de oxigênio (ERO), moléculas formadas durante funções metabólicas normais em cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (CAO et al., 2015), são geradas durante o sistema de transporte de elétrons, causando danos celulares ou atuando como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa. Enzimas

antioxidantes, incluindo superóxido dismutase e peroxidases, podem reverter o estresse oxidativo (SPYCHALLA; DESBOROUGH, 1990). O monitoramento dessas enzimas e da peroxidação lipídica podem ser utilizados como marcadores moleculares (ENRILE et al., 2016) acompanhando os danos causados por ERO com acúmulo de malondialdeído (APEL; HIRT, 2004), para avaliação do nível de estresse em plantas.

Estudos fitoquímicos mostraram que o gênero *Xylopia* apresenta várias classes de substâncias que pertencem ao metabolismo especializado, como terpenos, amidas, lignoides, alcaloides e acetogeninas (MAIA et al., 2005; FOURNIER et al., 1994; MOREIRA; LAGO; ROQUE, 2003; SILVA et al., 2015). Nascimento et al., 2018, avaliaram o perfil químico e a atividade antimicrobiana e antifúngica do óleo essencial de flores e folhas de *Xylopia aromatica*, no qual os compostos majoritários foram espatulenol, khusinol, biciclogermacreno, para folhas, e pentadecano-2-ona, biciclogermacreno, 7-epi- α -eudesmol e khusinol para flores. O óleo essencial de folhas e flores apresentou menores concentrações inibitórias mínimas (CIM) para *Streptococcus pyogenes* (200 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e o óleo essencial das folhas apresentou atividade moderada (500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para *Candida albicans*. Outros estudos realizados com óleos essenciais extraídos de *Xylopia aromatica* também revelaram atividade antifúngica e antimicrobiana (ALCÂNTARA et al., 2017; FOURNIER et al., 1994; NASCIMENTO et al., 2018). Os alcaloides também são um dos compostos isolados com mais frequência em espécies de *Xylopia*. Dímeros de benzilisoquinolina foram isolados de *X. columbiana* (GRANELL et al., 2004), de *X. parviflora* (NISHIYAMA et al., 2006) e de *X. aethiopica* (HARRIGAN et al., 1994).

Além da importância ecológica dos metabólitos especializados, o interesse de alguns setores industriais por matérias-primas alternativas, tem incentivado estudos envolvendo a caracterização do perfil químico dos óleos essenciais e de outros metabólitos especializados e a possível influência de fatores bióticos e abióticos na porcentagem relativa desses compostos (BAKKALI et al., 2008; FERRAZ et al., 2013). Nesse contexto, os efeitos da chuva e seca na concentração de metabólitos especializados devem ser considerados, uma vez que, esses podem ser fatores capazes de influenciar a caracterização do perfil químico desses metabólitos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Sendo assim, este estudo teve como objetivo investigar se a atividade enzimática do sistema antioxidante e a síntese de carboidratos, terpenos e alcaloides de *Xylopia aromatica* produzidos na época seca diferem daqueles produzidos na época chuvosa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e condições ambientais

Foram estudadas folhas de 20 plantas de *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart (Figura 1), localizados em remanescentes de Cerrado *stricto sensu* em área do município de Santa Fé do Sul, São Paulo, Rodovia dos Barrageiros, coordenadas 20°12'57.6"S, 50°54'28.8"W (Figura 2), cujas características ambientais podem ser observadas na figura 3 e tabelas 1 e 2. As coletas foram realizadas nos dias 11 e 12 de março de 2021, 25 e 26 de agosto de 2021, 23 e 24 de março de 2022 e 24 e 25 de agosto de 2022. Os 20 indivíduos foram avaliados nas épocas seca e fria e chuvosa e quente, totalizando quatro coletas (duas na época seca e duas na época chuvosa). Após a realização do estudo do desempenho fotossintético, amostras de folhas foram coletadas e avaliadas junto aos laboratórios do Departamento de Biodiversidade e Bioestatística, setor de Biologia Vegetal do Instituto de Biociências (IBB) e do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

Material botânico fértil (ramos com flores e frutos) foi coletado para confecção de exsicatas que foram depositadas (voucher 33159) no Herbário “Irina Delanova de Gemtchújnicov - BOTU” Departamento de Biodiversidade e Bioestatística, setor de Biologia Vegetal, Instituto de Biociências de Botucatu (IBB – UNESP).

As características químicas do solo na localidade onde foram coletadas as 20 plantas de *Xylopia aromatica*, na estação chuvosa (março/2021 e março/2022) e na estação seca (agosto/2021 e agosto/2022), estão apresentadas na tabela 2.



Figura 1. (A) *Xylopia aromatica*; (B) Flor de *Xylopia aromatica*; (C) Fruto maduro de *Xylopia aromatica*.

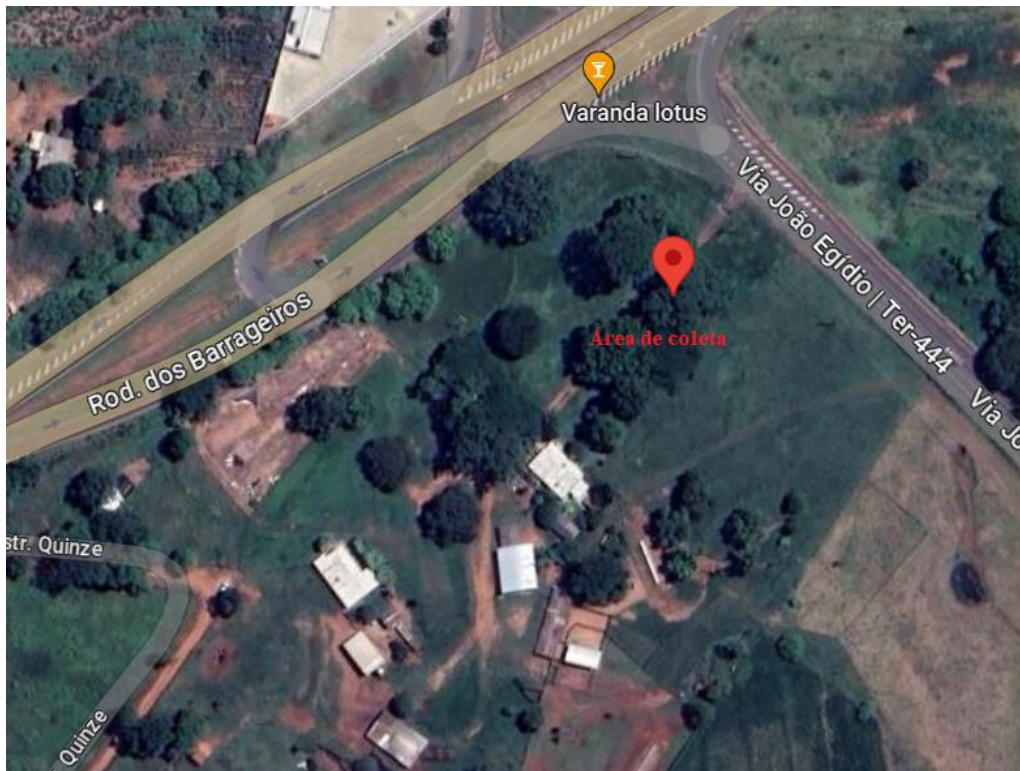


Figura 2. Localização da área de coleta, no município de Santa Fé do Sul, Rodovia dos Barrageiros, coordenadas 20°12'57.6"S, 50°54'28.8"W, São Paulo.

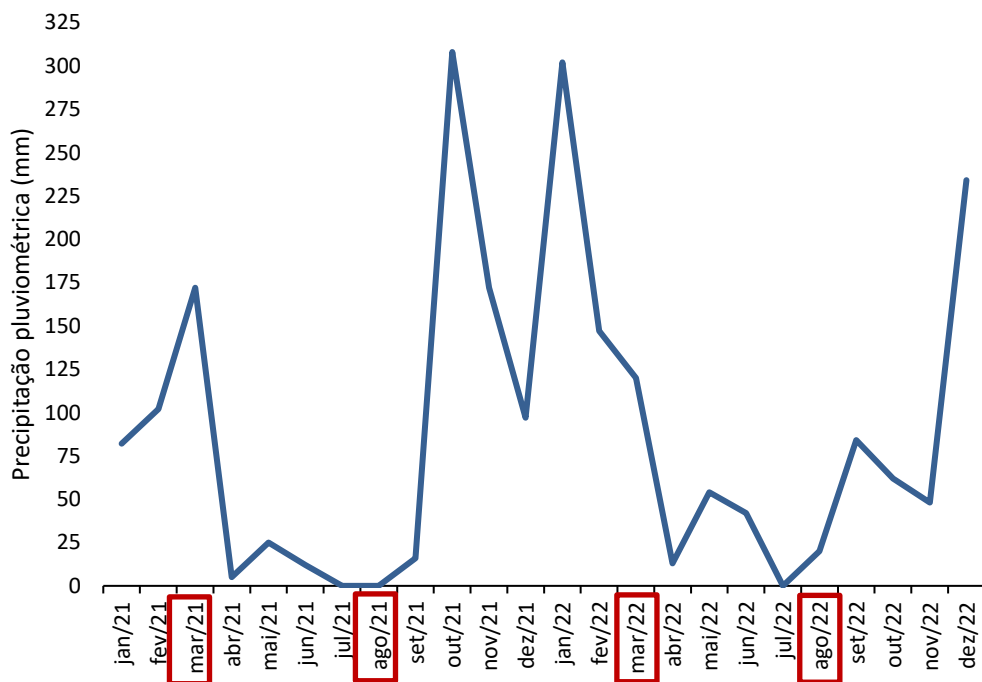


Figura 3. Precipitação (mm) de Santa Fé do Sul, São Paulo, no período compreendido entre janeiro de 2021 e dezembro de 2022. Dados registrados em localidade próxima ao campo de coleta.

Tabela 1. Médias referentes a temperatura da folha, temperatura ambiente e DFFFA (densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos) no momento de cada coleta (época seca e chuvosa, em 2021 e 2022) de plantas de *Xylopia aromatica*, na região de Santa Fé do Sul, São Paulo. Dados obtidos por meio do equipamento “Infra Red Gas Analyser – IRGA”, modelo GSF 3000, Walz.

Estação/Ano	Tfolha	Tamb	DFFFA
	°C	°C	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Chuva/2021	29,30	28,50	685,10
Seca/2021	33,80	33,55	952,33
Chuva/2022	30,81	30,64	1315,59
Seca/2022	26,43	25,87	512,40

Tabela 2. Características químicas do solo na estação chuvosa (março/2021 e março/2022) e na estação seca (agosto/2021 e agosto/2022), da região de Santa Fé do Sul, São Paulo. Dados fornecidos por meio de análise realizada no Departamento de Solos e Recursos Ambientais.

Estação/Ano	pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----mmol/dm ³ -----						-----mg/dm ³ -----						
Chuva/2021	5,0	10	7	0	19	2,9	15	9	26	45	58	0,18	0,8	43	10,7	1,2
Seca/2021	4,8	13	7	0	21	3,4	14	9	27	48	56	0,16	0,5	35	19,0	1,2
Chuva/2022	4,8	10	6	0	22	2,7	14	8	25	47	53	0,16	0,8	41	9,7	1,1
Seca/2022	5,1	13	5	0	17	2,6	17	9	28	45	62	0,21	0,5	40	10,2	1,3

Delineamento experimental

Na área de estudo entre 40 indivíduos de *Xylopia aromatica* foram sorteados 20 espécimes. Delimitamos como época seca, a estação do inverno, com baixa temperatura e umidade relativa do ar e como época chuvosa, a estação do verão, com temperatura e umidade relativa do ar elevadas.

CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

Fluorescência da clorofila *a*

As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas em 20 indivíduos de *X. aromatica*, entre 9:00 e 11:00 horas, em dia ensolarado, com fluorômetro portátil de luz LED-Array/PAM-Fluorometer 3055-FL, Walz, sob irradiância de saturação de 4500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Foram determinados eficiência quântica potencial (F_v'/F_m'), captação de luz realizada pelo fotossistema II, eficiência quântica efetiva do (Fotossistema II) FSII (ΦPSII), cujo valor se relaciona à estimativa do nível de $\text{NADPH}+\text{H}^+$, taxa de transporte de elétrons no

Fotossistema II ($ETR = DFFF * \Delta F/Fm' * 0,5 * 0,84$), fração de luz absorvida pela antena FSII que é dissipada como calor ($D=1-Fv'/Fm'$) e fração de energia de excitação não dissipada na antena que não pode ser utilizada para a fase fotoquímica ($Ex= (1- qP)*(Fv'/Fm')$) (DEMMIG-ADAMS et al., 1996).

Trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas, nos mesmos indivíduos, utilizando-se equipamento com sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infra-vermelha (“Infra Red Gas Analyser – IRGA”, modelo GSF 3000, Walz). Tais medidas foram estimadas a partir da diferença entre a concentração de CO₂ e vapor d'água do ar da referência (valor presente na câmara sem a folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), obtendo-se as concentrações de vapor d'água e CO₂ que foram liberados (transpiração – vapor d'água) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas. As medidas foram realizadas entre 9:00 e 11:00 horas, em dia ensolarado.

As características de trocas gasosas analisadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$). A eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) foi determinada por meio da relação entre assimilação de CO₂ e taxa de transpiração (A/E), descrita por Berry e Downton (1983). A eficiência de carboxilação da Ribulose 1,5-difosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) foi determinada pela relação da taxa de assimilação de CO₂ com a concentração interna de CO₂ na câmara subestomática (A_{net}/C_i , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$).

Carboidratos, atividade enzimática, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Para estas determinações foram coletadas 10 folhas totalmente expandidas, por planta. A coleta foi realizada tomando-se os cuidados necessários para minimizar a degradação das enzimas pela luz. As amostras foram envolvidas em papel alumínio e acondicionadas em sacos plásticos e, em seguida, congeladas em nitrogênio líquido para paralisar todas as reações.

Os açúcares solúveis totais (MORRIS, 1948, YEMM; WILLIS, 1954) e amido (CLEGG, 1956) foram quantificados.

O teor de proteínas totais solúveis foi determinado pelo método proposto por Bradford (1976). As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 595 nm e comparadas com a curva-padrão de caseína a 1%, sendo o teor proteico da amostra expresso em mg de proteína g⁻¹ de matéria fresca.

A determinação da atividade da peroxidase foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico proposto por Teisseiree Guy (2000). A atividade específica da peroxidase será expressa em $\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2 \text{ decomposto min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de proteína. A determinação da atividade da superóxido dismutase foi determinada de acordo com o método proposto por Giannopolitis e Ries (1977). O nível de peroxidação de lipídeos foi avaliado utilizando a metodologia de Heath e Packer (1968) e peróxido de hidrogênio conforme Alexieva et al. (2001).

Óleo essencial

Secagem das folhas e extração de óleo essencial

Foram coletados ramos de diferentes posições dos 20 indivíduos de *Xylopia aromatica*. As folhas foram separadas dos ramos e secas em temperatura ambiente durante 15 dias, tempo suficiente para secagem e facilidade de seu acondicionamento no aparato tipo Clevenger.

Os óleos essenciais das folhas foram extraídos por hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, por 2 horas, sendo, a seguir, armazenados em frascos de vidro (Vial, 5 mL) e mantidos no freezer até a análise da composição química.

Rendimento e caracterização da composição química do óleo essencial

O rendimento foi determinado, de acordo com a fórmula: $\text{Re} = (\text{MOE}/\text{MFolha}) \times 100$. Onde: Re = Rendimento (%); MOE = Massa óleo extraído (g); MFolha = Massa das folhas secas (g).

A análise qualitativa dos óleos essenciais foi conduzida em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas, operando a 70 eV, dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), hélio como gás de arraste (1,0 mL/min), injetor a 220°C, detector a 230°C. Foi utilizado o programa de temperatura de 60°C-240°C, 3°C/min, efetuando-se as alterações de acordo com a eficiência de separação dos componentes da mistura.

A identificação das substâncias foi realizada pela comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema (CG-EM); índices de Retenção (IR) e dados de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos, pela análise nas mesmas condições operacionais das amostras de uma mistura de n-alcanos (C9-C40 - Sigma Aldrich 99%) e aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

A análise quantitativa dos óleos essenciais para estudo da sua composição química foi conduzida por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (GC-DIC), empregando-se as mesmas condições operacionais das análises por CG-EM.

Extração, quantificação e perfil dos alcaloides benzilisoquinólicos

A extração dos alcaloides totais foi realizada em amostras foliares de 15 plantas de *Xylopia aromatica* através de uma extração seletiva de ácido-base em material seco e moído. Foram utilizados 5g por amostra, que foram impregnadas com 30 mL de uma solução de Na_2CO_3 e secas por 48h em temperatura ambiente. Após a secagem os alcaloides foram extraídos com 100 mL de CHCl_3 sob agitação constante durante 1h, as amostras foram filtradas e lavadas com água deionizada. A seguir, foi realizada a separação das fases, sendo a fase clorofórmio com uma solução saturada de 60 mL de 1 N de HCl, e a fase ácida preservada e alcalinizada com solução saturada de Na_2CO_3 até atingir pH 7, extraindo-se novamente com CHCl_3 e as amostras foram secas com Na_2SO_4 anidro. Finalmente as amostras foram filtradas e evaporadas em um evaporador rotativo a baixa temperatura, obtendo-se os extratos de alcaloides totais. Após a evaporação completa do CHCl_3 as amostras foram diluídas com um volume conhecido de mesmo solvente e avaliado em espectrofotômetro com fonte de luz ultravioleta e o conteúdo total de alcaloides foi determinado por espectrofotometria a 254 nm utilizando liriodenina como padrão na elaboração da curva padrão ($y = 0,0881x - 0,0112$, $R = 0,9949$) (GONZÁLEZ-ESQUINCA, 2011).

Os extratos foram analisados e os perfis obtidos foram comparados com padrões pré existentes utilizando cromatógrafo líquido ultra-alto desempenho (UHPLC - Thermo Fisher-Scientific ®) com bomba de gradiente e detector UV-Vis com o uso de coluna de fase reversa C 18 (150 × 4,6 mm e 5 µm de diâmetro de partícula). A fase móvel utilizada foi água (pH 3,5 com ácido acético) e 30:70 isometanol crático, com taxa de fluxo de 1mL / min, mantendo a temperatura da coluna a 30 ° C.

Forma de análise dos resultados

Para verificar a normalidade e a homogeneidade de variância dos dados, foram aplicados os testes de Shapiro-Wilk e de Levene (ZAR, 2010).

As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (ZAR, 2010). Análises multivariadas foram realizadas para avaliar tendências sazonais do perfil químico do óleo essencial dos indivíduos,

coletados em 2021 e recoletados em 2022, usando o programa XLSTAT (2017) e MetaboAnalyst.

3. RESULTADOS

Relações hídricas

A umidade relativa foi maior na época chuvosa no ano de 2021. O déficit de pressão de vapor foliar foi maior na época seca no ano de 2021 e na época chuvosa no ano de 2022 (Figura 4).

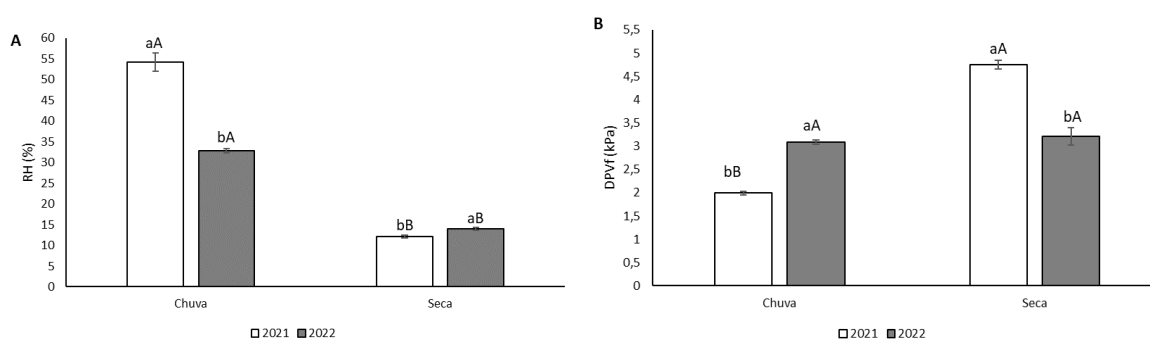


Figura 4. A. Umidade relativa (RH, %); **B.** déficit de pressão de vapor foliar (DPVf, kPa) de *Xylopia aromatica*, nas épocas seca e chuvosa coletadas em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Fluorescência da clorofila *a*

A eficiência quântica potencial adaptada a luz (F_v'/F_m') foi maior na época chuvosa no ano de 2021 e na época seca no ano de 2022. A dissipação de calor no complexo antena (D) foi maior na época chuvosa no ano de 2022 e na época seca no ano de 2021. Não houve interação entre época e ano de coleta para as variáveis transporte fotoquímico de elétrons (ϕ PSII) e taxa de transporte de elétrons (ETR), sendo essas variáveis maiores no ano de 2021 e na época chuvosa. O quenching fotoquímico (qP) foi menor na época seca no ano de 2022. A dissipação do excesso de energia do centro de reação do FSII (Ex) foi maior na época seca no ano de 2022 e na época chuvosa no ano de 2021 (Figura 5).

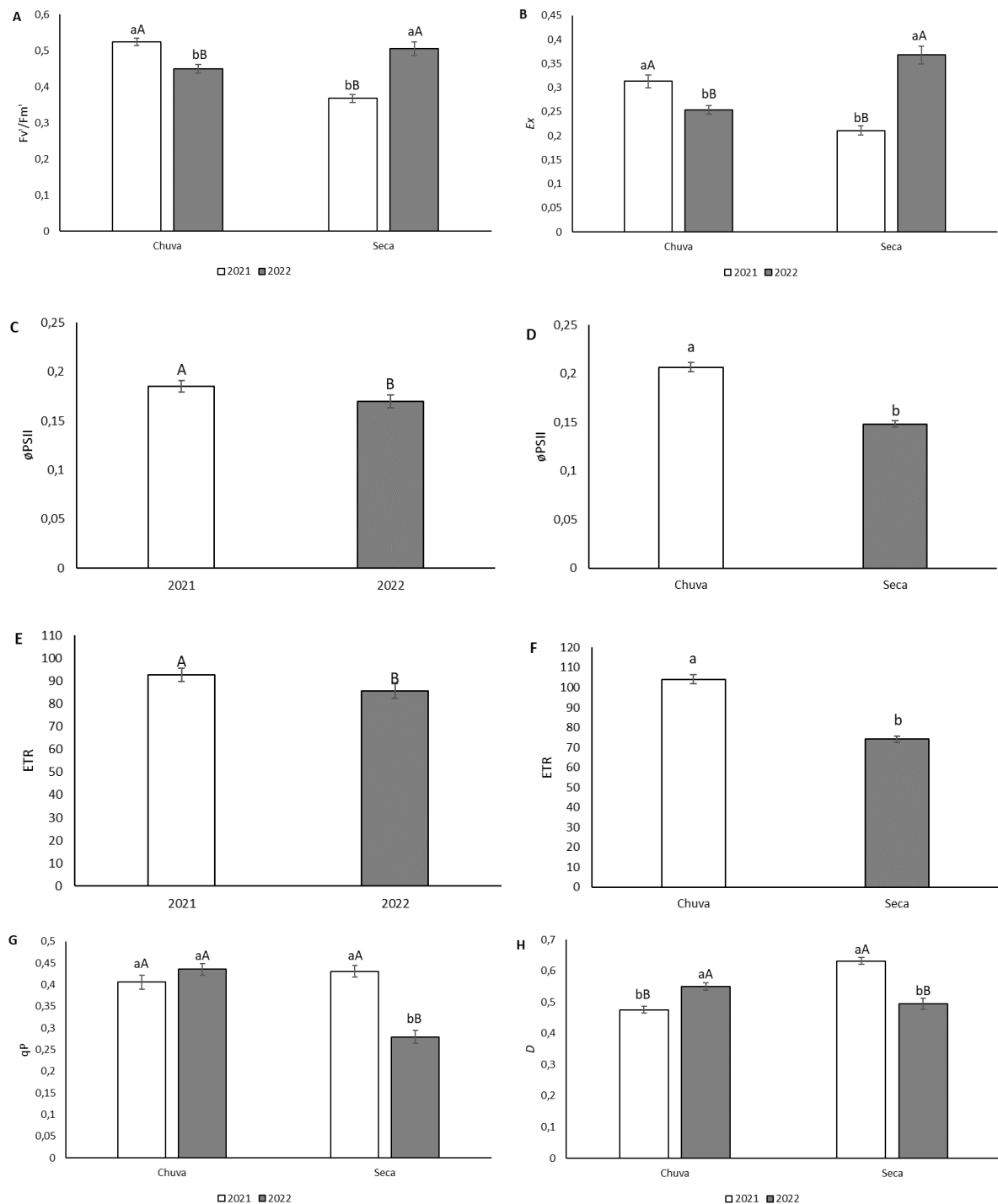
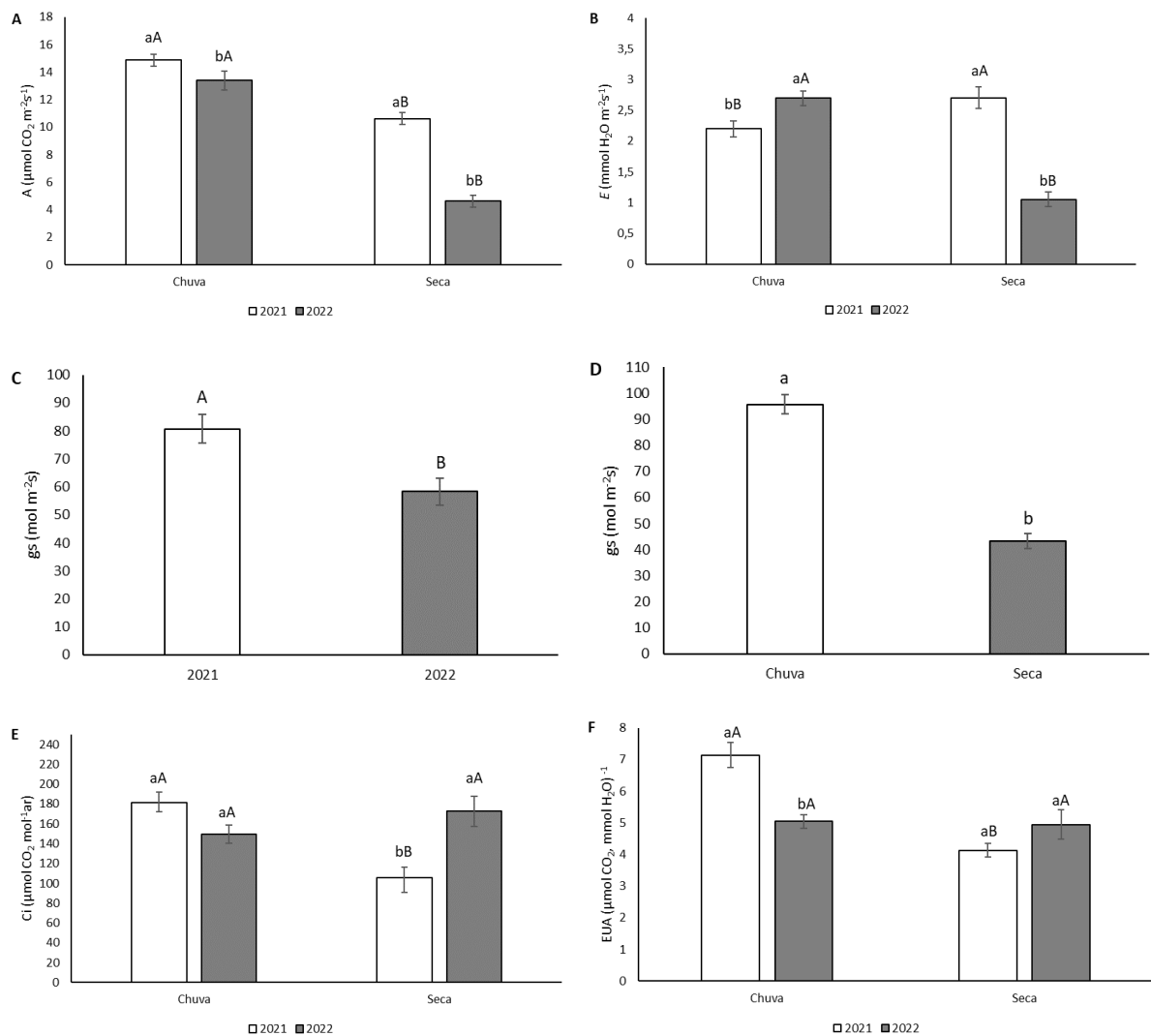


Figura 5. (A). Eficiência quântica potencial adaptada a luz (F_v'/F_m'); (B). Dissipação do excesso de energia do centro de reação do FSII (E_x); (C) e (D). Transporte fotoquímico de elétrons (ϕ_{PSII}); (E) e (F). Taxa de transporte de elétrons (ETR); (G). Quenching fotoquímico (q_p); (H). Dissipação de calor no complexo antena (D) de *Xylopia aromatica*, nas épocas seca e chuvosa coletadas em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Trocas gasosas

A taxa de assimilação de CO₂ (A) foi maior na estação chuvosa nos dois anos de coleta. A taxa de transpiração (E) foi maior na época chuvosa no ano de 2022 e na época seca no ano de 2021. Não houve interação entre época (chuva e seca) e ano de coleta (2021 e 2022) para condutância estomática (gs), sendo esta variável maior no ano de 2021 e na época chuvosa. A concentração interna de CO₂ na folha (Ci) foi menor na época seca no ano de 2021. A eficiência do uso da água (EUA) foi maior na época chuvosa de 2022 e na época seca de 2021. A eficiência de carboxilação da RuBisCO ($Anet/Ci$) foi menor na época seca de 2022 (Figura 6).



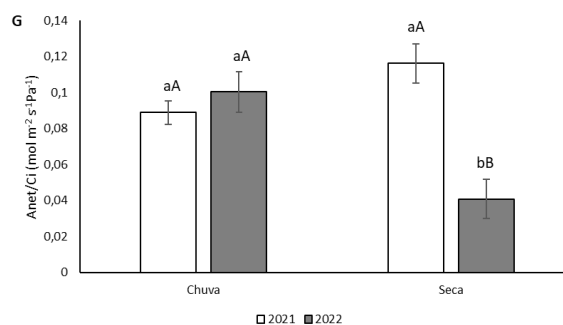


Figura 6. (A). Taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); (B). Taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$); (C) e (D). Condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$); (E). Concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ molar}^{-1}$); (F). Eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$); (G). Eficiência de carboxilação da RuBisCO (A_{net}/C_i , $\text{umol m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$), em *Xylopia aromatica*, nas épocas seca e chuvosa, coletados em 2021 e reamostrados em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Carboidratos, atividade enzimática, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Tecidos foliares de plantas de *Xylopia aromatica* coletadas nas épocas chuvosa e seca, nos anos de 2021 e reamostradas em 2022, não apresentaram diferenças no teor de açúcares solúveis totais ($p > 0,6419$).

O acúmulo de amido não diferiu quanto as épocas de coletas (chuva e seca), sendo maior no ano de 2022 (Figura 7).

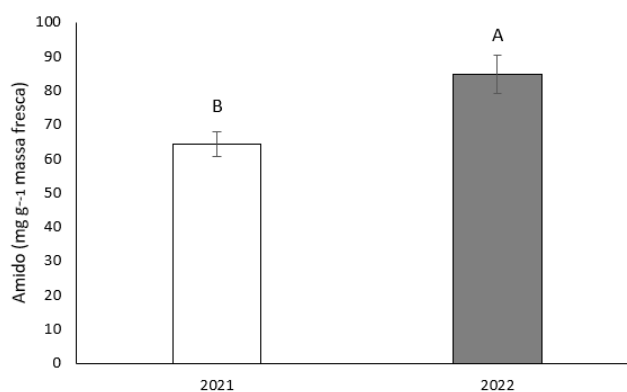


Figura 7. Teor de amido foliar de folhas (mg g^{-1} massa fresca) de *Xylopia aromatica*, coletadas em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Plantas de *Xylopiya aromatica* coletadas na época chuvosa no ano de 2021 apresentaram menor teor de proteínas solúveis totais (Figura 8).

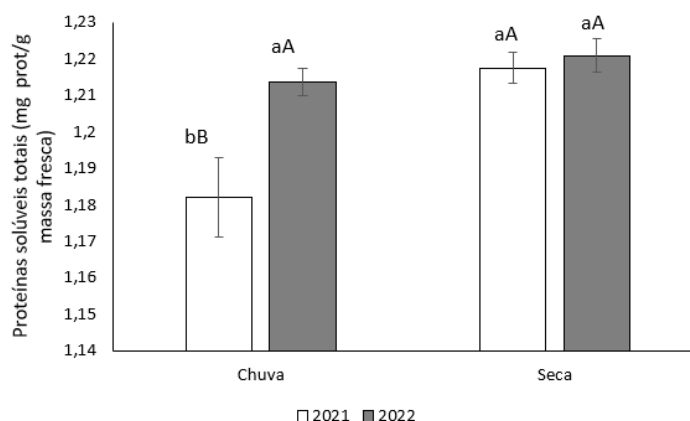


Figura 8. Teor de proteínas solúveis totais em *Xylopiya aromatica*, nas épocas seca e chuvosa, coletados em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Não houve interação entre época (chuva e seca) e ano de coleta (2021 e 2022) para a atividade da superóxido dismutase (SOD), sendo esta variável maior no ano de 2021 e na época chuvosa (Figura 9). Para a enzima peroxidase (POD) houve interação entre os fatores estudados, sendo sua atividade maior nas épocas chuvosa no ano de 2021 e seca de 2022 (Figura 9).

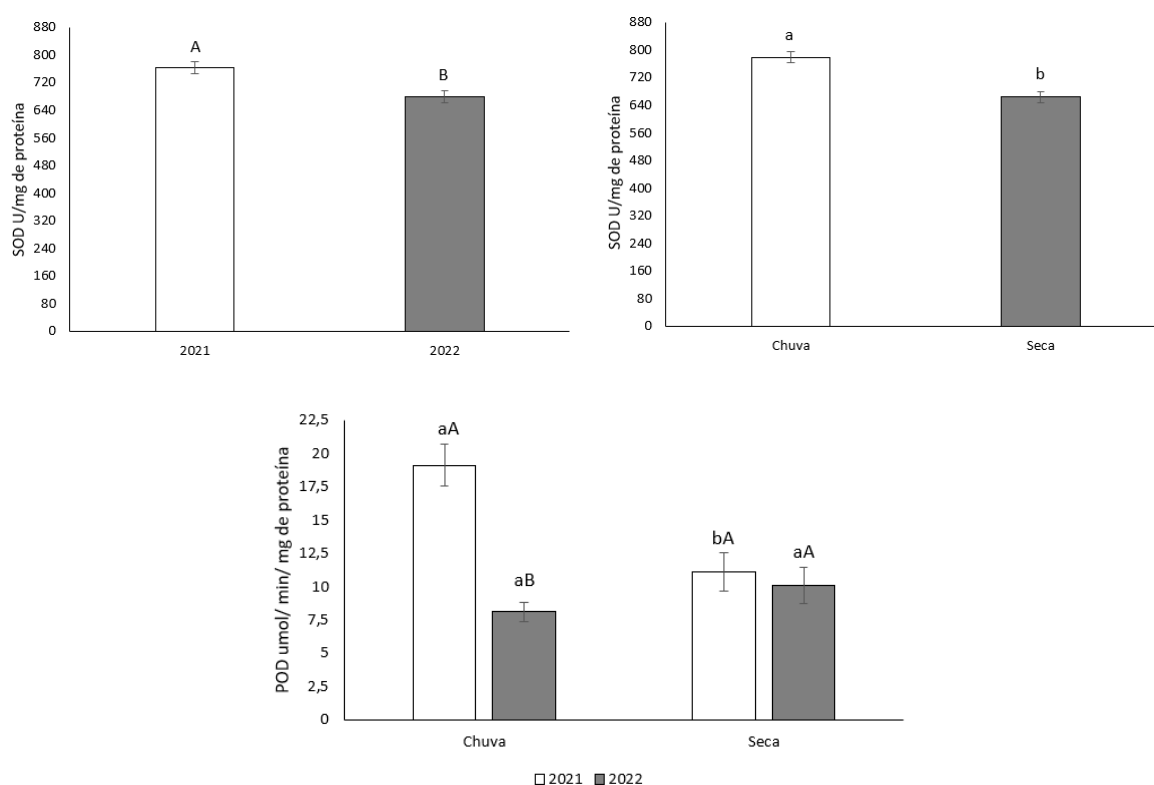


Figura 9. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD) de *Xylopiya aromatica*, nas épocas seca e chuvosa, coletados em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Plantas de *Xylopiya aromatica* coletadas na época seca no ano de 2022, apresentaram menor peroxidação lipídica (Figura 10).

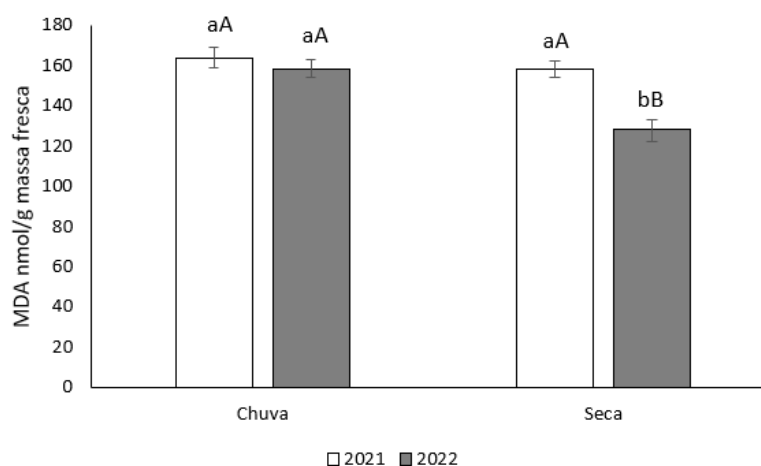


Figura 10. Atividade da peroxidação lipídica (expresso pela formação de malonaldeído, MDA) de plantas *Xylopiya aromatica*, nas épocas seca e chuvosa, coletados em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Não houve interação entre época (chuva e seca) e ano de coleta (2021 e 2022) para o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), apresentando-se maior em plantas coletadas no ano de 2021 e na época chuvosa (Figura 11).

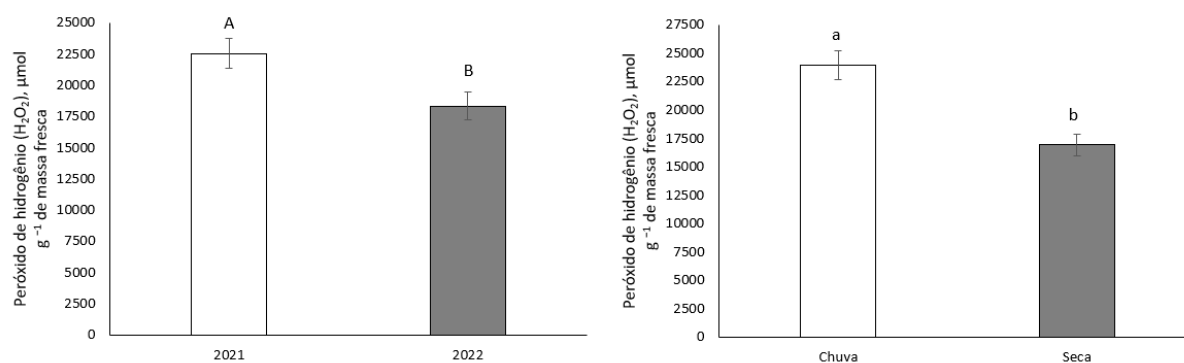


Figura 11. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2), $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca de plantas *Xylopia aromatica*, nas épocas seca e chuvosa, coletados em 2021 e reamostrados em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Rendimento e caracterização da composição química do óleo essencial

A porcentagem relativa (%), índice de retenção da literatura, índice de retenção calculado, bem como valores mínimo e máximo das 44 substâncias encontradas no óleo essencial de *Xylopia aromatica*, coletadas na época chuvosa (CV) e seca (SC), em 2021 e reamostradas em 2022 estão apresentadas na tabela 3. Dentre as 44 substâncias encontradas, nove não foram identificadas (NI).

Tabela 3. Porcentagem relativa (%) do óleo essencial de *Xylopia aromatica*, coletadas na época chuvosa e seca, no ano de 2021 e reamostradas no ano de 2022, Santa Fé do Sul, São Paulo, Brasil.

Substâncias	LIR _E	LIR _L	Chuva (CV) – Março/2021			Seca (SC) – Agosto/2021			Chuva (CV) – Março/2022			Seca (SC) – Agosto/2022		
			Min	Max	Média	Min	Max	Média	Min	Max	Média	Min	Max	Média
α -thujene	931	930	-	1,14	0,17	-	0,73	0,34	-	0,36	0,07	-	0,33	0,09
α -pinene	939	939	9,48	39,04	26,70	0,73	51,84	34,41	-	44,77	24,52	12,7	41,49	24,16
camphene	956	954	-	0,34	0,06	-	0,27	0,12	-	-	0,04	-	-	0,04
thuja-2,4(10)-diene	962	960	-	1,22	0,52	-	0,26	0,06	-	0,21	0,06	-	-	0,04
sabinene	983	975	-	3,68	0,71	0,8	2,82	1,17	-	2,82	0,85	-	2,08	1,09
β -pinene	987	979	3,86	27,93	18,08	-	36,34	24,69	-	33,15	18,94	9,41	25,32	19,31
mircene	1001	990	-	2,31	0,22	-	5,41	1,29	-	2,67	0,51	-	2,39	0,86
α -phellandrene	1014	1002	-	2,77	0,35	-	3,78	0,54	-	1,89	0,27	-	1,09	0,16
<i>o</i> -cimene	1035	1026	-	4,05	0,68	-	2,33	0,21	-	0,68	0,11	-	0,77	0,19
limonene	1038	1029	-	32,46	9,80	-	72,26	15,96	-	38,64	9,15	0,17	34,05	10,31
1,8-cineole (eucalyptol)	1040	1031	-	0,64	0,23	-	0,98	0,20	-	0,78	0,29	-	2,29	0,56
<(E)>-, β > ocimene	1045	1050	-	-	0,04	-	1,94	0,58	-	0,99	0,34	-	0,82	0,14

NI/1	1068		-	0,37	0,06	-	0,18	0,05	-	-	0,04	-	0,35	0,11
camphenol <6->	1105	1113	-	1,42	0,55	-	-	0,04	-	-	0,04	-	-	0,04
α -campholenal	1141	1126	-	6,77	3,46	-	0,85	0,26	-	3,17	1,65	0,55	3,55	1,46
<i>cis</i> -limonene-oxide	1152	1136	-	1,43	0,20	-	-	0,04	-	1,03	0,14	-	-	0,04
<i>trans</i> -pinocarveol	1165	1139	-	3,59	1,97	-	0,64	0,13	-	2,25	0,89	-	4,03	1,73
<i>trans</i> -verbenol	1172	1144	-	3,13	1,46	-	2,58	0,18	-	3,77	0,64	-	4,51	1,19
pinocarvone	1181	1164	-	3,59	1,61	-	0,81	0,10	-	2,81	1,01	-	1,89	0,23
NI/2	1184		-	1,66	0,56	-	-	0,04	-	3,23	0,22	-	-	0,04
terpinen-4-ol	1196	1177	-	1,66	0,26	-	0,72	0,41	-	1,81	0,65	-	0,9	0,59
NI/3	1199		-	1,32	0,62	-	0,29	0,05	-	0,85	0,21	-	-	0,04
cryptone	1210	1185	-	7,56	0,69	-	0,29	0,09	-	3,28	0,43	-	2,72	0,91
mirtenal	1216	1195	0,81	3,72	3,65	-	1,11	0,46	-	3,95	1,78	0,53	2,8	1,27
verbenone	1233	1205	-	3,94	1,33	-	0,45	0,09	-	2,27	0,59	-	1,37	0,33
carvone	1266	1243	-	4,41	0,80	-	-	0,04	-	3,28	0,45	-	0,76	0,08
phellandral	1295		-	5,88	0,51	-	-	0,04	-	2,27	0,24	-	1,18	0,27
bornyl acetate	1299	1285	-	0,36	0,10	-	0,67	0,10	-	0,32	0,05	-	0,91	0,18
α -copaene	1384	1376	-	1,22	0,57	-	2,68	0,52	-	1,86	0,48	0,35	2,13	0,87
geranyl acetate	1399	1381	-	0,72	0,07	-	1,83	0,24	-	2,72	0,30	-	2,29	0,25
aromadendrene	1449	1441	-	1,41	0,93	-	3,18	0,75	-	2,4	1,00	-	2,12	0,57
prezizaene	1469	1446	-	0,06	0,04	-	-	0,04	-	1,05	0,09	-	0,61	0,11
NI/4	1471		-	0,63	0,08	-	1,12	0,23	-	0,73	0,15	-	1,12	0,30
germacrene D	1492	1481	-	-	0,04	-	0,68	0,19	-	0,99	0,15	-	1,19	0,35
bicyclogermacrene	1508	1500	-	5,59	1,46	1,35	28,51	7,54	1,64	24,5	7,54	5,56	23,66	12,35
NI/5	1535		-	-	0,04	-	0,79	0,08	-	0,48	0,06	-	0,64	0,11
NI/6	1593		-	-	0,04	-	0,27	0,05	-	8,99	0,49	-	-	0,04
spathulenol	1601	1578	6,66	45,49	21,09	1,05	38,99	7,04	6,54	57,77	23,34	5,12	37,48	16,06
NI/7	1613		-	-	0,04	-	0,4	0,06	-	-	0,04	-	1,38	0,36
guaiol	1619	1600	-	-	0,04	-	10,65	0,77	-	3,82	0,91	-	4,46	1,08
NI/8	1641		-	-	0,04	-	0,14	0,05	-	-	0,04	-	1,82	0,30
NI/9	1665		-	-	0,04	-	0,26	0,05	-	-	0,04	-	2,71	0,47
bulnesol	1691	1671	-	-	0,04	-	7,24	0,49	-	2,11	0,37	-	4,83	0,87
mustakone	1703	1677	-	0,74	0,08	-	1,08	0,10	-	1,24	0,10	-	-	0,04

LIR_E=Retention index experimental; LIR_L= Retention index literature (Adams, 2017); (-) $\leq 0,04$

As substâncias majoritárias identificadas no óleo essencial de *Xylopia aromatica* foram α -pineno, β -pineno, espatulenol, limoneno e bicyclogermacrene e estão representadas na figura 12.

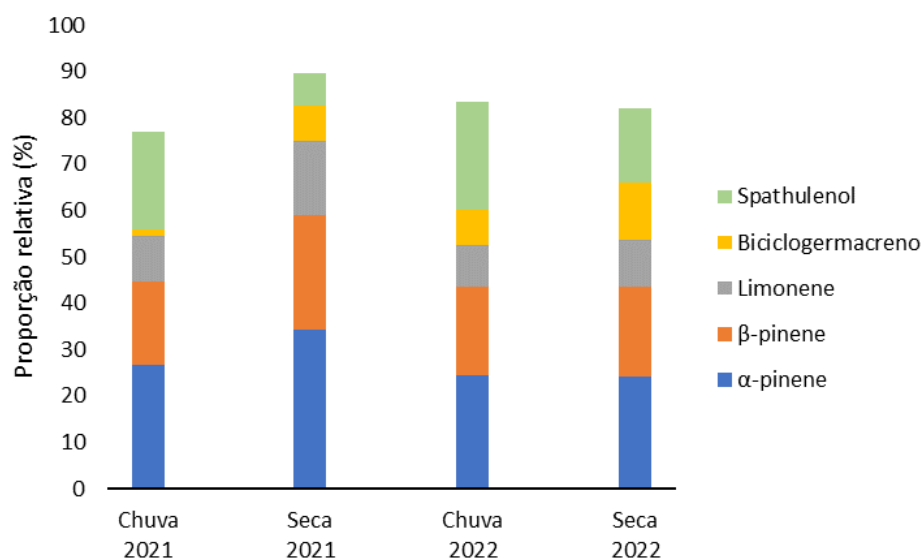


Figura 12. Média da proporção relativa (%) de cinco substâncias majoritárias identificadas no óleo essencial de *Xylopia aromatica*, coletadas na época chuvosa e na época seca no ano de 2021 e reamostradas em 2022.

O rendimento médio do óleo essencial de 20 plantas de *Xylopia aromatica*, coletadas na época chuvosa e na época seca no ano de 2021 e reamostradas em 2022 foi maior na época chuvosa no ano de 2022 e na época seca em 2021 (Figura 13).

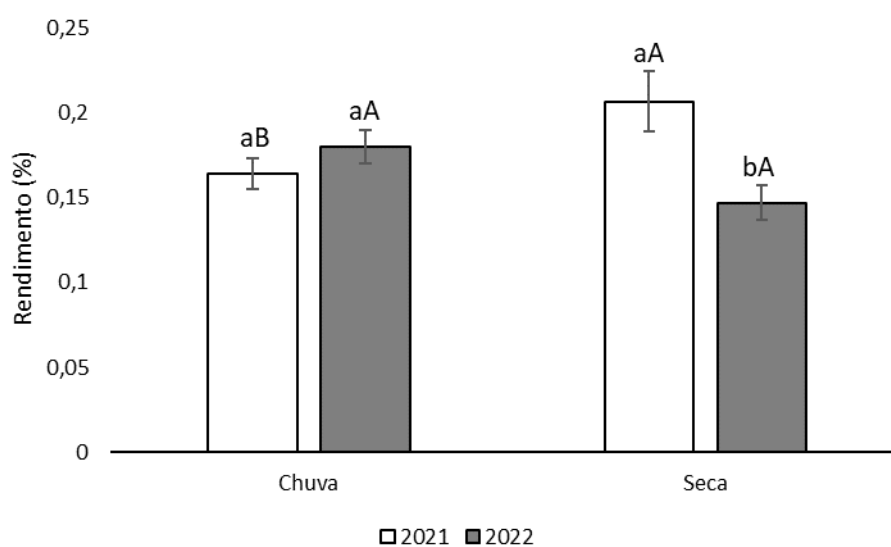


Figura 13. Rendimento médio do óleo essencial de 20 plantas (P) de *Xylopia aromatica*, na época chuvosa (CV) e seca (SC), coletadas em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

A análise de componentes principais (PCA) revela que as substâncias thuja-2,4(10)-diene, <6-> camphenol, mirtenal, campholenal, pinocarvone discriminam grande parte das plantas coletadas na época chuvosa, principalmente no ano de 2021. As substâncias α -thujene, α -pineno, β -pineno, discriminam plantas coletadas na época seca e chuvosa, nos dois anos de coleta (Figura 14)

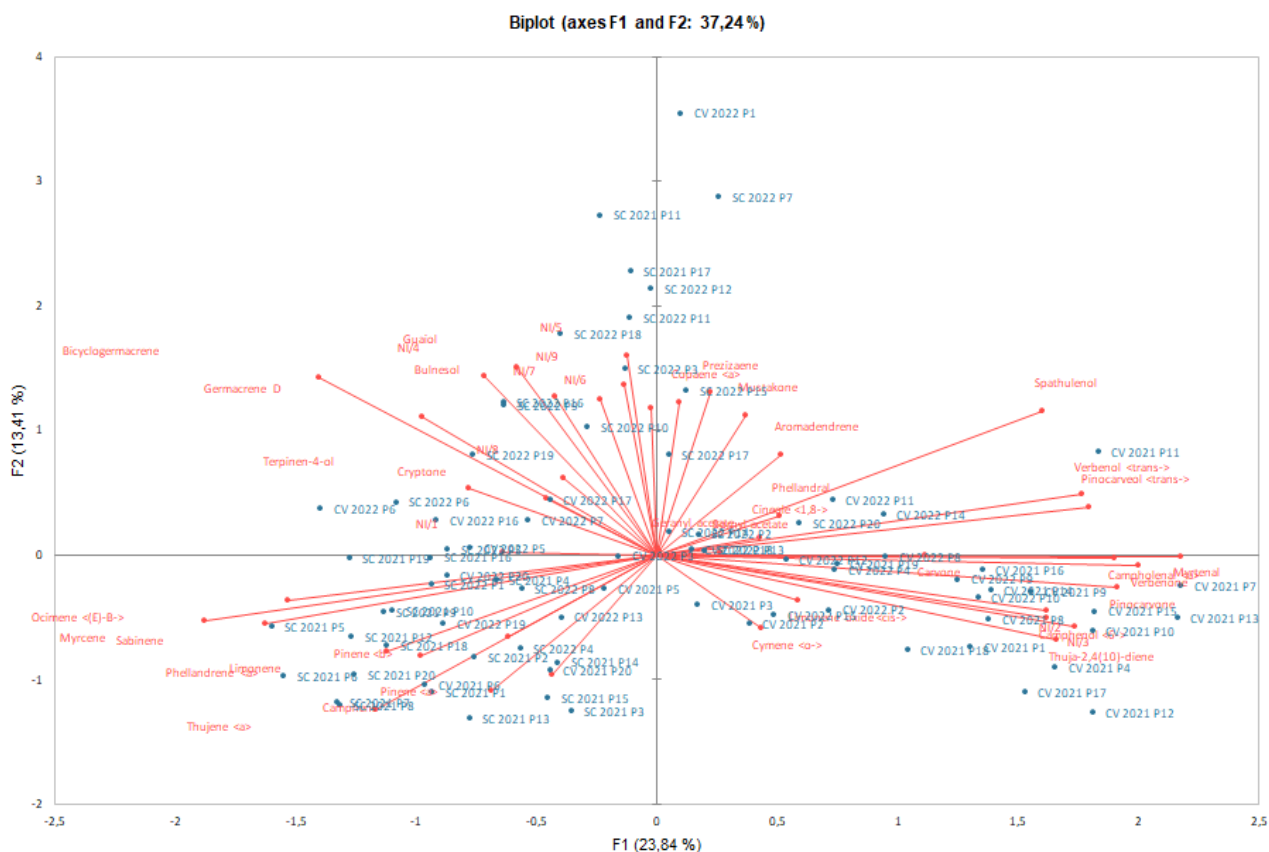


Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) (correlação de Spearman) com base em 44 substâncias constituinte do óleo essencial de 20 plantas (P) de *Xylopiya aromatica*, na época chuvosa (CV) e seca (SC), coletadas em 2021 e reamostradas em 2022.

O dendograma apresenta a composição química das 20 plantas, coletadas na época chuvosa e seca em 2021 e reamostradas nas mesmas épocas em 2022. A formação de cinco clusters podem ser observados. No cluster I (azul marinho) verifica-se o agrupamento de seis plantas coletadas na época chuvosa nos dois anos (CV 2021 P4; CV 2022 P4, CV 2021 P9; CV 2022 P9, CV 2021 P10; CV 2022 P10, CV 2021 P2; CV 2022 P2, CV 2021 P14; CV 2022 P14, CV 2021 P11; CV 2022 P11) e dez plantas coletadas na época chuvosa no ano de 2021 (CV 2021 P18, CV 2021 P12, CV 2021 P17, CV 2021 P13, CV 2021 P19, CV 2021 P8, CV 2021 P1, CV 2021 P16, CV 2021 P15, CV 2021 P7) (Figura 15). Esse cluster demonstra que várias

plantas mantiveram o seu perfil em anos sucessivos e outras não, embora poucas diferenças tenham sido notadas.

O cluster II (vermelho) agrupou cinco plantas coletadas na época seca nos dois anos (SC 2021 P5; SC 2022 P5, SC 2021 P8; SC 2022 P8, SC 2021 P1; SC 2022 P1, SC 2021 P6; SC 2022 P6, SC 2021 P4; SC 2022 P4), doze plantas na época seca em 2021 (SC 2021 P20, SC 2021 P3, SC 2021 P13, SC 2021 P15, SC 2021 P10, SC 2021 P2, SC 2021 P16, SC 2021 P14, SC 2021 P7, SC 2021 P9, SC 2021 P18, SC 2021 P19), uma planta na época chuvosa nos dois anos (CV 2021 P20; CV 2022 P20), uma planta na época chuvosa no ano de 2021 (CV 2021 P6) e duas plantas na época chuvosa em 2022 (CV 2022 P16, CV 2022 P19) (Figura 15).

O cluster III (verde) agrupou uma planta coletada na época seca nos dois anos (SC 2021 P11; SC 2022 P11), uma planta na época seca em 2021 (SC 2021 P17), quatro plantas na época seca em 2022 (SC 2022 P3, SC 2022 P10, SC 2022 P7, SC 2022 P18), três plantas na época chuvosa coletada no ano de 2022 (CV 2022 P1, CV 2022 P3, CV 2022 P7) (Figura 15).

O cluster IV (roxo) agrupou duas plantas coletadas na época chuvosa em 2021 (CV 2021 P3, CV 2021 P5) e cinco plantas coletadas na época chuvosa no ano de 2022 (CV 2022 P13, CV 2022 P12, CV 2022 P15, CV 2022 P17, CV 2022 P18) (Figura 15).

No cluster V (azul claro) foram agrupadas dez plantas coletadas na época seca no ano de 2022 (SC 2022 P2, SC 2022 P20, SC 2022 P14, SC 2022 P13, SC 2022 P15, SC 2022 P9, SC 2022 P16, SC 2022 P19, SC 2022 P12, SC 2022 P17) (Figura 15).

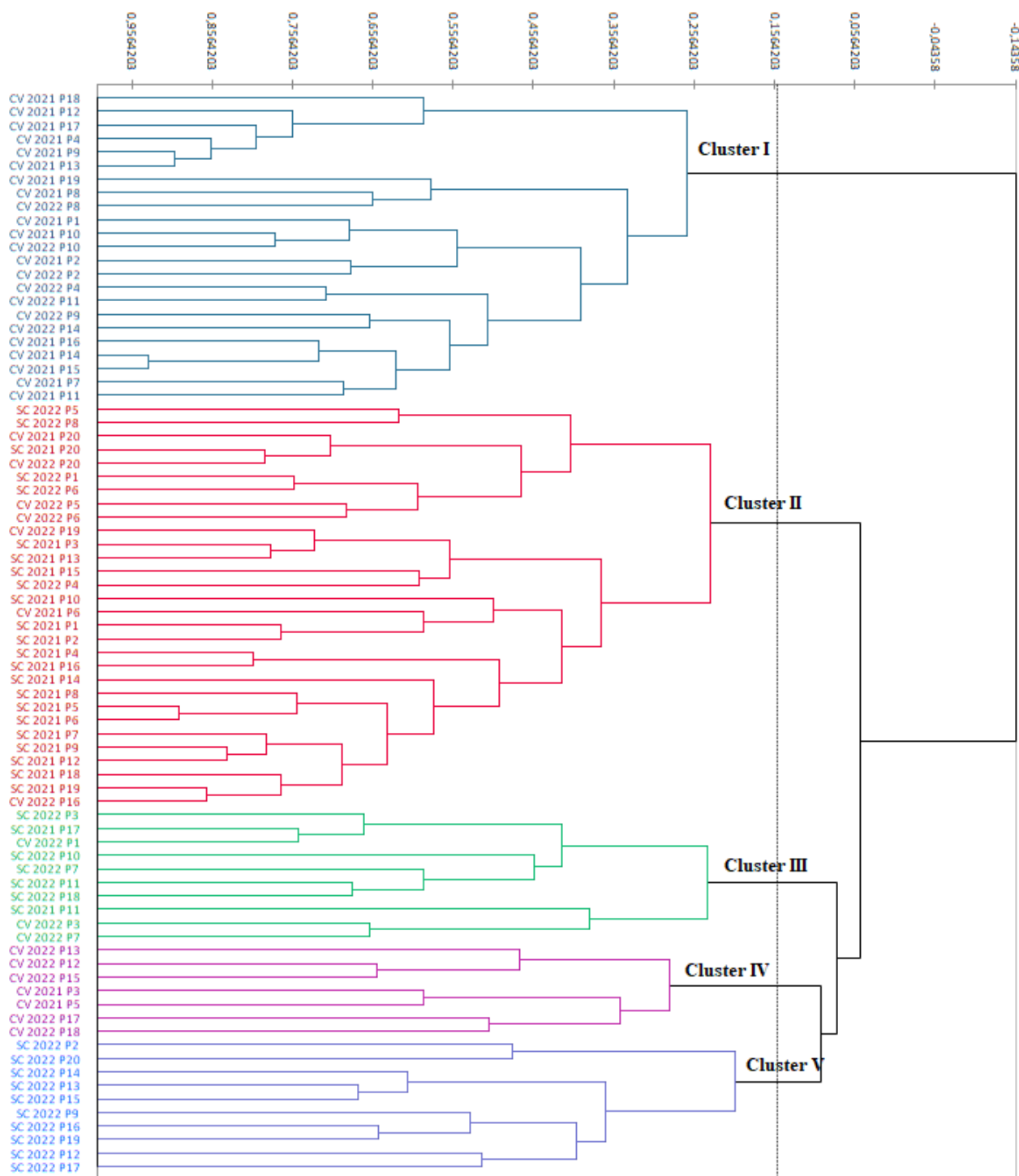


Figura 15. Dendrograma de similaridade (correlação de Spermán) com base em 44 substâncias constituintes do óleo essencial de 20 plantas (P) de *Xylopiya aromatica*, na época chuvosa (CV) e seca (SC), coletadas em 2021 e reamostradas em 2022.

A análise de variância (Figura 16) mostrou que existem algumas substâncias que podem ser responsáveis por explicar a separação dos clusters no dendrograma (Figura 105). Pode-se observar que as substâncias *thuja-2,4(10)-diene*, *camphenol*, *carvone* e *mirtenal* foram as principais responsáveis pelo agrupamento das plantas coletadas na época chuvosa, no ano de

2021 no Cluster I (Figura 10). As substâncias *trans*-pinocarveol e pinocarvone podem ter sido responsáveis pelo agrupamento das plantas coletadas na época chuvosa no ano de 2021 e 2022 (Figura 11). Germacreno D foi responsável por agrupar as plantas coletadas na época seca nos dois anos, principalmente no ano de 2022 (Figura 11). Camphene foi responsável principalmente pelo agrupamento das plantas na época seca de 2021 (Figura 11). Bicyclgermacreno destaca-se na época seca de 2022 (Figura 11). Cryptone foi encontrado principalmente na época seca no ano de 2022 (Figura 11). O myrcene esteve presente principalmente na época chuvosa no ano de 2022 e na época seca nos dois anos de coleta (Figura 11). Esses resultados podem ser confirmados no mapa de calor exibido na figura 12.

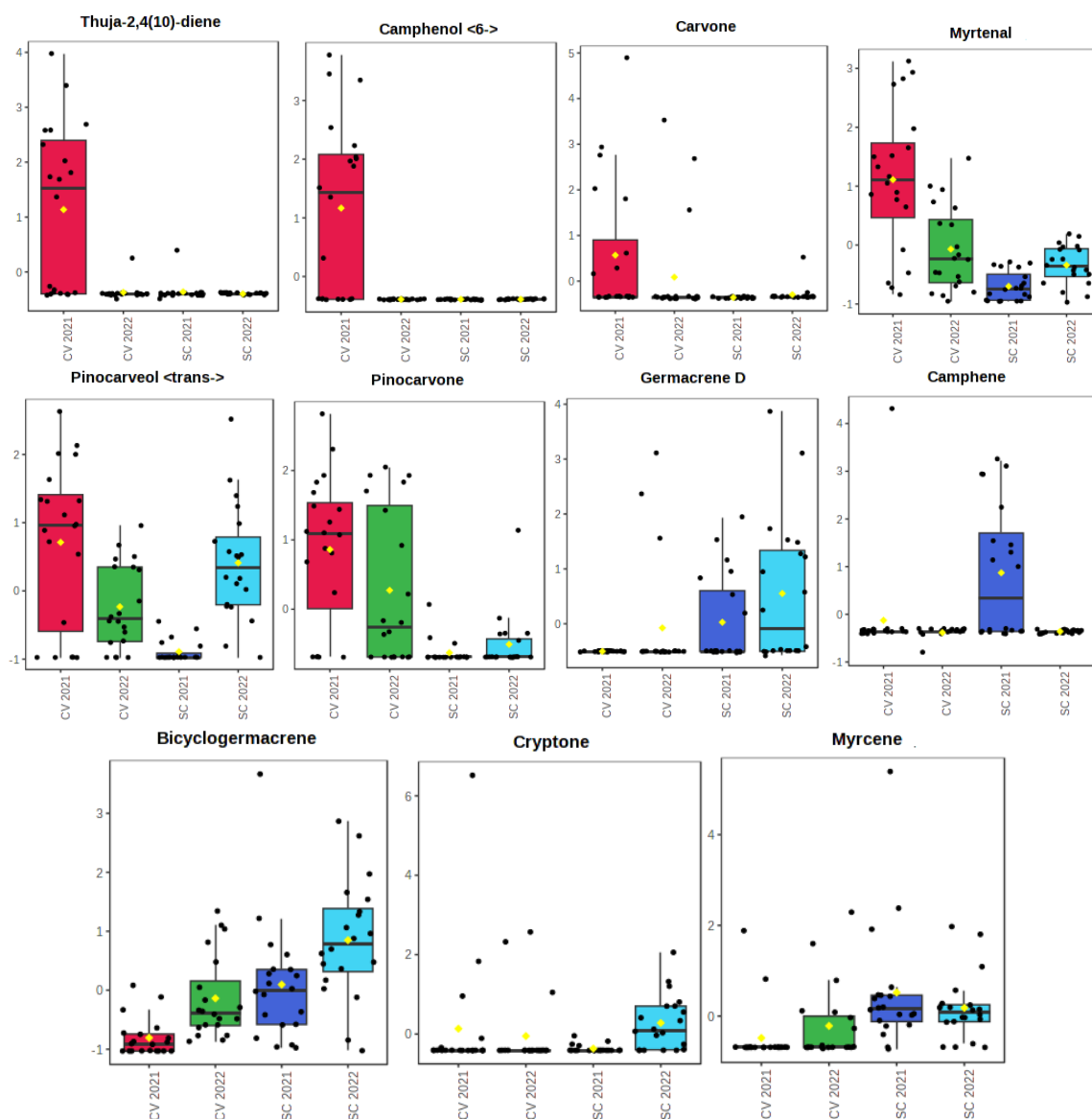


Figura 16. Análise de variância (ANOVA) com base em 44 substâncias constituintes do óleo essencial de 20 plantas (P) de *Xylopiia aromatica*, na época chuvosa (CV) e seca (SC), coletadas em 2021 e reamostradas em 2022.

No mapa de calor (Figura 17), as substâncias cymene <o>, thuja-2,4(10)-diene, camphenol <6->, agruparam principalmente plantas coletadas na época chuvosa no ano de 2021. Na época seca no ano de 2021, as substâncias que se destacaram foram pinene , limonene, thujene <a> e camphene. Na época chuvosa em 2022, destacam-se as substâncias terpinen-4-ol e NI/6. Na época seca no ano de 2022, as substâncias copaene <a>, cineole <1,8->, bornyl acetate, NI/7, NI/8 e NI/9 se destacaram.

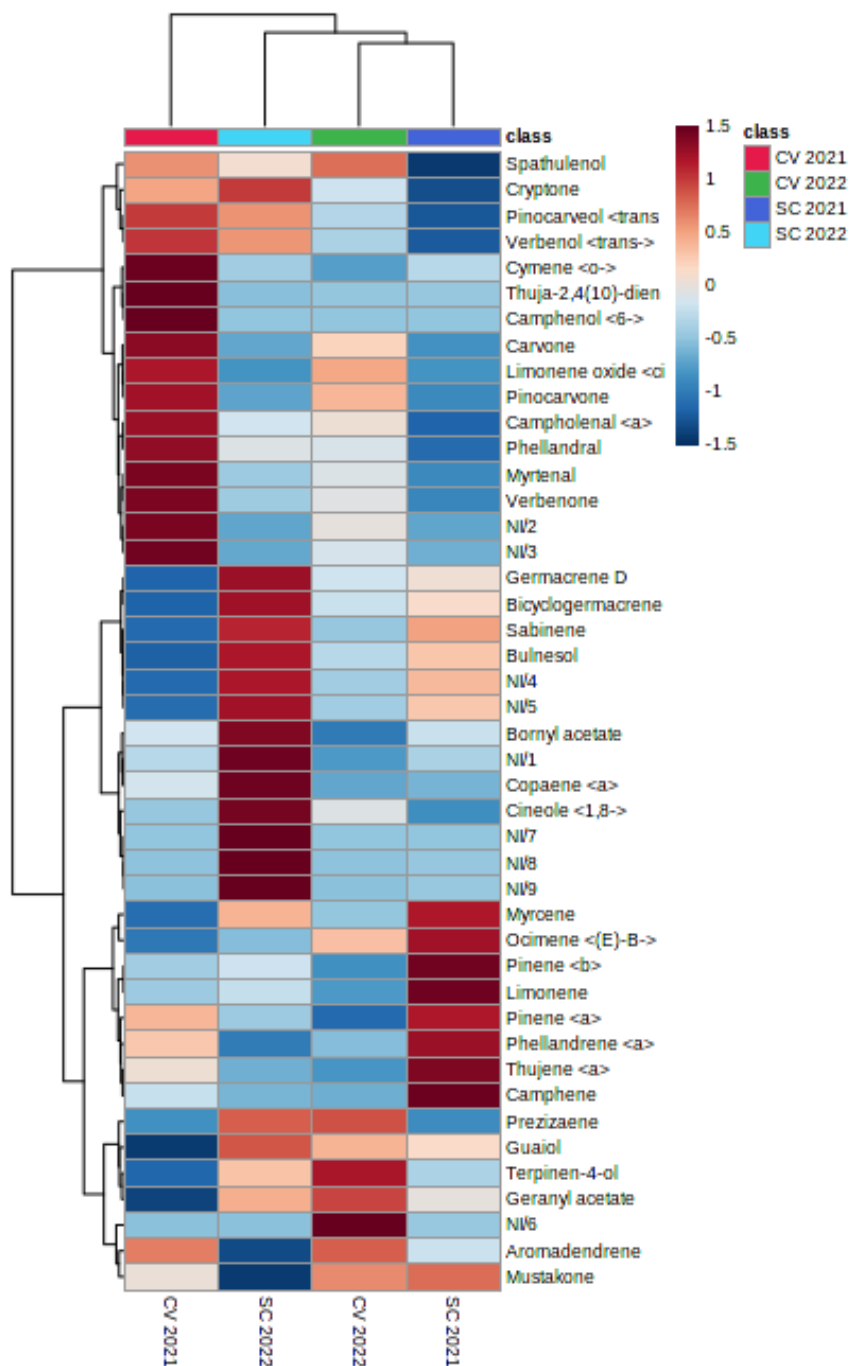


Figura 17. Mapa de calor (distância euclidiana) com a porcentagem relativa das substâncias do óleo essencial de *Xylopia aromatica* avaliadas na época chuvosa e época seca, no ano de 2021 e reamostras no ano de 2022.

Extração, quantificação e perfil dos alcaloides benzilisoquinolínicos

A concentração de alcaloides totais em folhas de *Xylopia aromatica* foi superior em plantas coletadas na época chuvosa no ano de 2022 e na época seca no ano de 2021 (Figura 18).

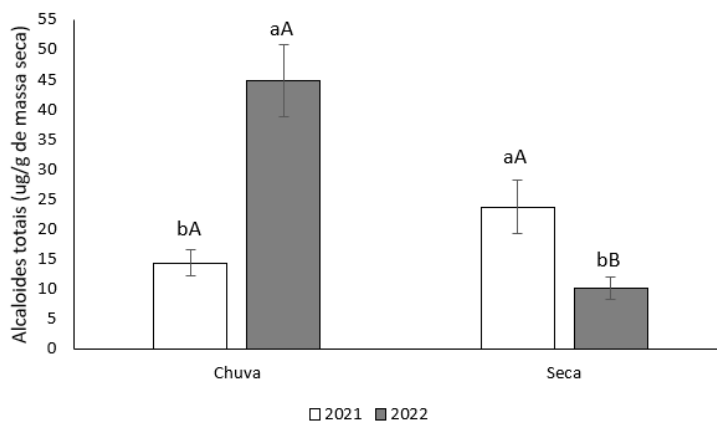


Figura 18. Concentração de alcaloides totais em folhas de *Xylopia aromatica*, na época chuvosa e seca, coletadas em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam época de coleta (seca e chuva) e letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

4. DISCUSSÃO

Plantas coletadas na época seca no ano de 2021 apresentaram menor eficiência quântica potencial adaptada a luz (F_v'/F_m'), menor dissipação de energia do centro de reação do fotossistema II (Ex) e maior dissipação de energia na forma de calor no complexo antena (D), indicando que essas plantas podem ter acionado mecanismos de fotoproteção, uma vez que, não houve acúmulo de energia nos fotossistemas, possibilitando maior eficiência quântica efetiva (Φ_{PSII}), e taxa de transporte de elétrons (ETR) no ano de 2021 (KROMDIJK et al., 2016; FLEXAS et al., 2014; NIYOGI et al., 1999).

Além disso, na época seca houve menor quenching fotoquímico (qP), responsável pela menor taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência quântica efetiva (Φ_{PSII}), indicando que apesar da fotoproteção, a produção de agentes redutores foi menor nessa época.

No ano de 2022, as plantas coletadas na época seca apresentaram maior eficiência quântica potencial adaptada a luz (F_v'/F_m'), maior dissipação de energia do centro de reação do fotossistema II (Ex), menor dissipação de energia na forma de calor no complexo antena (D) e menor quenching fotoquímico (qP), o que pode sugerir potencial dano nos fotossistemas, visto

que, observou-se maior acúmulo de energia, resultando em menores taxas de transporte de elétrons e produção de agentes redutores (NADPH₂) (DEMING-ADAMS et al., 2006; RUBAN et al., 2009; WALTERS, 2005).

Em relação as trocas gasosas, plantas coletadas na época seca em 2022 apresentaram maior eficiência do uso da água (EUA). Vale destacar que, quando comparadas ao ano de 2021, plantas coletadas em 2022 revelaram condutância estomática (gs) aproximadamente 1,3 vezes menor e transpiração (E), aproximadamente, três vezes menor, fato que pode ser explicado pelo menor déficit de pressão de vapor foliar, associado a menores temperaturas ambiental e foliar, permitindo maior aproveitamento do recurso hídrico conforme observado em estudos prévios (FLEXAS et al., 2012; ZHAO et al., 2020). Deve ser ressaltado que a figura 3, revela precipitação um pouco maior na seca de 2022 e esse fato pode não ter influenciado disponibilidade hídrica do solo. No entanto, houve menor eficiência de carboxilação da RuBisCO (*Anet/Ci*) (Ribulose 1,5-difosfato carboxilase/oxigenase), o que pode ser justificado pela menor produção de agentes redutores na fase fotoquímica e maior acúmulo de energia no fotossistema II, limitando assim, a atividade da enzima RuBisCO e contribuindo com maior acúmulo de carbono interno (Ci) (FLEXAS et al., 2012). Esses resultados podem estar relacionados com a temperatura mais baixa na coleta na época seca em 2022, condição que não é habitual nessa região, que apresenta em média temperaturas mais elevadas. Deve ser registrado que as características químicas e físicas do solo não apresentaram variações nos anos e épocas de coleta avaliadas (Tabela 2).

O acúmulo de amido foi maior no ano de 2022, independente da época de coleta. Esse resultado sugere que no ano de 2022 as plantas foram capazes de otimizar a utilização dos recursos disponíveis, como água e luz, para uma maior eficiência fotossintética e produção de açúcares, resultando em maior acúmulo de amido. No ano de 2022, na época chuvosa, a eficiência de carboxilação da enzima RuBisCO foi maior que 2021 na época seca, o que pode ter contribuído com os resultados acima mencionados. O amido desempenha um papel crucial como reserva de carboidratos nas plantas, sendo sua síntese e metabolismo mais bem compreendidos nas folhas. Durante o dia, ele é produzido ativamente por meio da fotossíntese, enquanto durante a noite, é mobilizado para fornecer um suprimento contínuo de carbono e energia quando a fotossíntese não é possível. Esse ciclo de síntese e mobilização do amido nas folhas garante uma reserva vital de energia para as plantas, permitindo-lhes enfrentar períodos de escassez de água e manter seu metabolismo energético funcionando de forma eficiente (STITT; ZEEMAN, 2012; THALMANN; SANTELIA, 2017).

O teor de proteínas solúveis totais menor na época chuvosa em 2021 pode sugerir menor necessidade de síntese de proteínas de defesa e reparo, possivelmente devido a condições menos

estressantes em comparação com a época seca. As proteínas solúveis totais desempenham uma variedade de funções vitais nas células vegetais, incluindo enzimas antioxidantes, proteínas estruturais e proteínas envolvidas na sinalização celular. Durante condições de estresse, as plantas frequentemente reorganizam sua expressão gênica e sintetizam proteínas específicas para se aclimatarem às novas condições ambientais (OLIVEIRA, 2015).

A maior atividade da superóxido dismutase (SOD) em 2021 e na época chuvosa sugere uma resposta de aclimação das plantas para o enfrentamento ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio durante esse período, uma vez que, a SOD é uma enzima antioxidante chave envolvida na defesa contra as ERO (ALSHER et al., 2002), responsável por dismutar o superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no cloroplasto, mitocôndria, citoplasma e peroxissomo (HABIB et al., 2016; SCANDALIOS, 1993; WANG et al., 2009).

O aumento da enzima peroxidase (POD) na época chuvosa em 2021 também pode contribuir com aclimação das plantas para enfrentar estresse oxidativo na época e ano de coleta, uma vez que, essa enzima está envolvida na neutralização do peróxido de hidrogênio gerado pelas ERO e podem ter contribuído para o desempenho fotossintético dessas plantas. A lipoperoxidação observada nessas plantas revelam, de fato, estresse durante essa época, ao contrário do esperado. Talvez a espécie esteja aclimatada para o enfrentamento das condições mais secas, verificadas habitualmente na região de cerrado em que a espécie foi estudada. As PODs utilizam compostos de natureza fenólica como doadores de elétrons para catalisar as reações de dismutação do H_2O_2 e localizam-se principalmente na parede celular e no vacúolo (LOCATO et al., 2011).

Maior peroxidação lipídica na época chuvosa nos dois anos e na época seca em 2021, pode ser uma consequência da ação das ERO a maior estresse oxidativo. Quando células eucarióticas são expostas a estresses, sejam eles bióticos ou abióticos, a primeira reação bioquímica que ocorre é a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), resultando no que é conhecido como estresse oxidativo nas plantas. Essas ERO têm o potencial de causar danos às membranas celulares, ao DNA e às proteínas, cuja extensão pode ser avaliada pela peroxidação lipídica, sendo o ácido malondialdeído (MDA) um indicador desse dano (APEL; HIRT, 2004; MOLLER et al., 2007).

Outro fator que está relacionado ao estresse oxidativo enfrentado pelas plantas coletadas no ano de 2021 e na época chuvosa é o aumento do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 desempenha papéis como mensageiro de estresse e regulador do metabolismo celular. Durante condições de estresse, como períodos de chuva intensa, as plantas podem ser expostas a uma série de fatores ambientais adversos, como aumento da umidade, baixa luminosidade e aumento da temperatura, que podem desencadear a produção excessiva de ERO, incluindo o H_2O_2 . O

H₂O₂ pode causar danos às células das plantas por meio da oxidação de moléculas biológicas, como proteínas, lipídios e DNA, levando a uma variedade de efeitos adversos, como peroxidação lipídica, inativação de enzimas e danos ao material genético (BARBOSA et al., 2014; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). Portanto, o aumento do H₂O₂ observado nas plantas coletadas no ano de 2021 e na época chuvosa pode indicar uma resposta de aclimação das plantas a essas condições. Talvez a espécie esteja aclimatada para o enfrentamento das condições mais secas, verificadas habitualmente na região, conforme acima citado. A figura 3 revela que no período chuvoso, compreendido entre janeiro e março de 2021 e 2022, a média de precipitação igual a 118 e 189 mm, respectivamente, deve ter sido um fator de estresse.

Para lidar com o estresse oxidativo induzido pelo aumento do H₂O₂, as plantas ativam mecanismos de defesa antioxidante, como a superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD), que trabalham em conjunto para neutralizar e eliminar o excesso de H₂O₂ e outras ERO, restaurando assim o equilíbrio redox e protegendo as células contra danos oxidativos. No entanto, em condições de estresse intenso ou prolongado, os mecanismos de defesa antioxidante podem ser sobrecarregados, levando a danos celulares significativos e comprometendo o crescimento e desenvolvimento das plantas (BARBOSA et al., 2014; LOCATO, 2010; MITTLER, 2002). No presente estudo, a atividade enzimática antioxidante da SOD e POD foram relevantes em 2021 e na época chuvosa, em acordo com a peroxidação lipídica.

Em resumo, os resultados indicam que as plantas de *Xylopia aromatica* apresentaram diferentes respostas fisiológicas e bioquímicas em função das variações nas condições ambientais ao longo dos anos e épocas de coleta. Essas respostas refletem a capacidade das plantas de se aclimatarem aos desafios impostos pelo ambiente, otimizando a eficiência do seu metabolismo fotossintético e desenvolvendo mecanismos de defesa antioxidante para mitigar os efeitos do estresse oxidativo.

O maior rendimento do óleo essencial na época seca em 2021 pode ser explicado pela maior eficiência de carboxilação da RuBisCO, que é responsável pela produção de esqueletos carbônicos utilizados na síntese de terpenos. Os terpenos são uma classe ampla de metabólitos especializados que desempenham funções importantes na defesa contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores e adaptação a condições ambientais adversas, incluindo falta de água. Eles são sintetizados a partir de precursores isoprenóides, que são produzidos na via do mevalonato ou da metileritritol-fosfato (MEP). A via do MEP é particularmente importante para a síntese de terpenos, uma vez que, fornece precursores para a síntese de isoprenoides plasmáticos e cloroplastídicos, como o fitol, que é o precursor da cadeia lateral do grupo heme nos complexos do fotossistema e da clorofila. A carboxilação da RuBisCO é uma etapa chave na fixação do carbono na fotossíntese, responsável por produzir triose-fosfato, um precursor

essencial na síntese de açúcares e outros metabólitos. A RuBisCO é uma enzima altamente regulada, cuja atividade pode ser afetada por fatores ambientais, como temperatura, umidade e disponibilidade de CO₂ e luz. Sendo assim, maior eficiência de carboxilação da RuBisCO pode fornecer mais precursores carbônicos para a síntese de terpenos, o que pode levar a um maior rendimento de óleo essencial em algumas espécies vegetais, conforme observado em outros estudos (YANG et al., 2012; GERSHENZON; DUDAREVA, 2007; SHARKEY; YEH, 2001).

O óleo essencial de *X. aromatica* sugere que as plantas coletadas na estação chuvosa apresentam composição similar em algumas substâncias, uma vez que, nessa época, seis plantas coletadas nos dois anos e dez plantas coletadas no ano de 2021 foram agrupadas (cluster I). Além disso, há a formação de outro cluster (cluster IV) com um indivíduo coletado na época chuvosa no ano de 2021 e cinco indivíduos coletados nessa mesma época no ano de 2022. Por outro lado, plantas coletadas na época seca também apresentaram composição similar em algumas substâncias, visto que, o cluster II agrupou cinco plantas coletadas na época seca nos dois anos e doze plantas na época seca em 2021. Além disso, o cluster V agrupou dez plantas coletadas na época seca no ano de 2022, com composição similar em algumas substâncias.

Certas substâncias químicas, como thuja-2,4(10)-diene, camphenol <6->, carvone, mirtenal, *trans*-pinocarveol, germacreno D, camphene, entre outras, foram responsáveis por agrupar as plantas em diferentes clusters, indicando que sua presença no perfil químico pode estar relacionada à época de coleta, conforme revela a análise de variância da figura 16. Esses resultados são importantes, pois podem ajudar a entender como as plantas respondem a diferentes condições ambientais e como isso pode afetar seu perfil químico. Nesse sentido, a presença de certos compostos pode estar relacionada a mecanismos de defesa contra estresses ambientais, como a seca. Além disso, a identificação de compostos específicos em determinadas épocas pode ser útil para fins medicinais, uma vez que, muitas plantas e compostos especializados são utilizados na produção de medicamentos devido a sua atividade biológica (VALAREZO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2014). Os resultados observados no presente estudo estão de acordo com observações de diferentes pesquisadores, em que componentes do óleo essencial estão relacionados com a época de coleta e sazonalidade (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). A época em que uma substância é coletada é fator de grande importância, uma vez que, muitas vezes, a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Há relatos de variações sazonais em quase todas as classes de metabólitos especializados, como óleos essenciais (SCHWOB; BESSIERE, 2004), flavonóides (BROOKS; FEENY, 2004), alcaloides (ROCA-PÉREZ et al., 2004), entre outros, o que justifica a realização do seu estudo.

Muitos compostos são geralmente sintetizados pelas plantas de acordo com as suas necessidades específicas, que incluem as condições ambientais, as interações com outras plantas e a proteção contra predadores (RAO; SAVITHRAMMA; SUHRULATHA, 2011). No presente estudo os terpenos alfa-pineno e beta-pineno apresentaram variação mas foram os componentes que apresentaram maior porcentagem relativa nas épocas chuvosa e seca nos dois anos. Esses resultados estão de acordo com aqueles observados em estudos que avaliaram óleos essenciais em folhas, flores e frutos de *X. aromatica* e α e β -pineno foram os compostos majoritários (LAGO et al., 2003; ANDRADE et al., 2004).

Assim como o rendimento dos óleos essenciais, a produção de alcaloides totais foi maior na época seca de 2021 e na época chuvosa no ano de 2022. Sabe-se que os metabólitos especializados são sintetizados como parte de uma rede bioquímica muito complexa, regulada pela expressão de genes aliado a modulação enzimática e apresentam propriedades funcionais diversas, oferecendo meio de comunicação entre as plantas, alelopatia, defesa a ataque de patógenos e herbívoros, atração de polinizadores e auxílio nas adaptações climáticas (HAGEL; FACCHINI, 2008; LAURSEN; MØLLER; BASSARD, 2015). Em plantas expostas a situações de estresse geralmente se acumulam concentrações mais elevadas de metabólitos especializados, isso acontece devido ao fato de que essas condições levam ao fechamento estomático e à absorção reduzida de CO₂ e como consequência, há diminuição considerável no consumo de NADPH + H⁺ para a fixação do CO₂ via ciclo de Calvin, gerando maior oferta e acúmulo desse equivalente redutor. Dessa forma, os processos metabólicos são direcionados para síntese de compostos altamente reduzidos como isoprenoides, fenóis e alcaloides com o emprego desses agentes redutores acumulados (SELMAR & KLEINWÄCHTER 2013).

Fotossíntese, comportamento estomatal, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento podem ser alterados de acordo com a disponibilidade hídrica, consequentemente, levando a alterações no metabolismo especializado. Na vegetação devem ser considerados o índice de chuva e sua distribuição pelo ano, assim como seu efeito na umidade e na capacidade de retenção de água do solo (FIGUEIREDO et al., 2008; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). O estresse hídrico frequentemente tem consequências significantes nas concentrações de metabólitos especializados em diferentes espécies vegetais e há relatos de que estas condições geralmente levam a um aumento na produção de vários tipos de metabólitos, como alguns terpenóides, antocianinas e alcalóides. Os resultados no presente estudo nas épocas seca e chuvosa em dois anos consecutivos, demonstram que o metabolismo especializado reagiu de modo semelhante aumentando a produção de terpenos e alcaloides quando o estresse ocorreu por elevada precipitação ou por seca, uma vez que, entre janeiro e março de 2021 e 2022 a

média de precipitação foi igual a 118 e 189 mm, respectivamente, enquanto entre abril e agosto de 2021 e 2022 foi igual a 9 e 29 mm, respectivamente (Figura 3).

Em resumo, plantas coletadas em épocas secas de 2021 e 2022 apresentaram diferenças em relação à eficiência quântica, dissipação de energia, quenching fotoquímico e trocas gasosas. Enquanto em 2021 houve indícios de acionamento de mecanismos de fotoproteção, em 2022, houve maior acúmulo de energia e menor produção de agentes redutores. Apesar disso, plantas coletadas em 2022 apresentaram maior eficiência no uso da água, indicando maior controle estomático, o que pode auxiliar o enfrentamento da falta de água. O rendimento do óleo essencial foi maior na época seca em 2021 e chuvosa em 2022, possivelmente devido à maior eficiência de carboxilação da RuBisCO com maior oferta de esqueletos carbônicos para síntese de terpenos nessa época e ano de coleta. A composição química do óleo essencial e a produção de alcaloides variaram de acordo com as épocas de coleta, refletindo a influência das condições ambientais na síntese de metabólitos especializados, como terpenos e alcaloides. O efeito da seca na concentração de metabólitos é, às vezes, dependente do grau de estresse e do período em que ocorre, sendo que efeitos a curto prazo parecem levar a uma produção aumentada, enquanto a longo prazo é observado um efeito oposto (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; NIINEMETS, 2010). Embora no presente estudo não tenham sido identificadas diferenças relevantes nas variáveis relacionadas ao clima e ao solo, exceto diferenças de precipitação nas épocas chuvosa e seca, os perfis químicos dos óleos essenciais dos diferentes indivíduos avaliados apresentaram alterações, que podem estar associadas a quantidade de água, em conjunto com outros fatores não avaliados.

Em suma, plantas de *Xylopiá aromática* demonstraram notável plasticidade fenotípica e capacidade de resposta às variações ambientais, ajustando seu metabolismo para maximizar a eficiência fotossintética, desenvolver mecanismos de proteção contra o estresse oxidativo e sintetizar compostos bioativos em resposta às condições específicas de cada época de coleta. Os resultados indicam aclimatação das plantas às condições ambientais e importância de fatores, como época seca e chuvosa, em estudos ecológicos, que podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias de conservação da espécie, uma vez que, nessas condições ocorreram alterações dos perfis fotossintético e químico de *Xylopiá aromática*.

5. CONCLUSÃO

Os resultados no presente estudo demonstram que o metabolismo especializado reagiu de modo semelhante para terpenos e alcaloides quando o estresse ocorreu devido a elevada precipitação ou por seca. Houve modulação do metabolismo primário para ajuste do

metabolismo especializado em função dos estresses de chuva e seca a que a espécie foi submetida.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.

ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001.

ALMEIDA, J. et al. Chemical composition of essential oils from *Croton conduplicatus* (Euphorbiaceae) in two different seasons. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 17, n. 6, p. 1137-1145, 2014.

ALVAREZ-CASTELLANOS, P. P.; BISHOP, C. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Antifungal activity of the essential oil of flowerheads of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens. **Phytochemistry**, v. 57, n. 1, p. 99–102, 2001.

ANDRADE, E. H. A. et al. Essential oil composition from leaf, fruit and flower of *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 7, n. 2, p. 151–154, 2004.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.373–99, 2004.

ARIMURA, G. I.; MATSUI, K.; TAKABAYASHI, J. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: Proximate factors and their ultimate functions. **Plant and Cell Physiology**, v. 50, n. 5, p. 911–923, 2009.

BAJPAI, V. K.; RAHMAN, A.; KANG, S. C. Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. **Industrial Crops and Products**, v. 26, n. 1, p. 28–35, 2007.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical**

toxicology, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 3, p. 453–460, 2014.

BORGES, C. V. et al. Medicinal plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites. **Medicinal Plants and Environmental Challenges**, p. 259-277, 2017.

BROOKS, J. S.; FEENY, P. Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 9, p. 769-782, 2004.

CAO, B. L. et al. Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 194, p. 53–62, 2015.

CHEN, Y. et al. Composition and potential anticancer activities of essential oils obtained from myrrh and frankincense. **Oncology letters**, v. 6, n. 4, p. 1140-1146, 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.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS III, W. W. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. **New phytologist**, v. 172, n. 1, p. 11-21, 2006.

DE REZENDE, F. M. et al. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, p. 93, 2016.

DEWICK, P.M. Medicinal Natural Products – A biosynthetic approach. Third edition. **John Wiley and Sons**. West Sussex, UK, 2009.

DO NASCIMENTO, M. N. G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Xylopi*a *aromatica* (Annonaceae) flowers and leaves. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, p. 1578–1590, 2018.

ERINLE, K. O. et al. Exogenous calcium induces tolerance to atrazine stress in Pennisetum seedlings and promotes photosynthetic activity, antioxidant enzymes and psbA gene transcripts. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 132, p. 403-412, 2016.

FAGUNDES, N. C. A. et al. **Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre**, Claro dos Poções–Minas Gerais. 2017.

FENG, T. et al. LUAD transcriptomic profile analysis of d-limonene and potential lncRNA chemopreventive target. **Food & function**, v. 11, n. 8, p. 7255-7265, 2020.

FERRAZ, R. P. C. et al. Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopi*a *frutescens* Aubl. (Annonaceae). **Food chemistry**, v. 141, n. 1, p. 196-200, 2013.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance journal**, v. 23, n. 4, p. 213-226, 2008.

FLEXAS, J. et al. Photosynthetic limitations in Mediterranean plants: a review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 12-23, 2014.

FLEXAS, J. et al. Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency. **Photosynthesis research**, v. 117, p. 45-59, 2013.

FOURNIER, G. et al. Chemical and Biological Studies of *Xylopi*a *aromatica* Stem Bark and Leaf Oils1. **Planta medica**, v. 60, n. 03, p. 283-284, 1994.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature chemical biology**, v. 3, n. 7, p. 408-414, 2007.

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.

- GONÇALVEZ, A.; GUAZZELLI, M. J. **Agrofloresta e óleos essenciais**. 2014.
- HABIB, S. H. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.
- 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.
- HAN, Y.; CHEN, W.; SUN, Z. Antimicrobial activity and mechanism of limonene against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Safety**, v. 41, n. 5, p. e12918, 2021.
- JUNQUEIRA, J. G. M et al. In vivo and in vitro Volatile Constituents of the Flowers of *Xylopia aromatica* by HS-SPME/GC-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 1111-1119, 2021.
- JESUS, F.P.A. DE, MUNIZ, C.C., CARNIELLO, M.A. Saberes da medicina popular sobre recursos vegetais em três municípios ao longo do rio Paraguai, Mato Grosso, Brasil. **GAIA Science**, v. 14, p. 130–144, 2020.
- KARUPPANAPANDIAN, T. et al. Reactive oxygen species in plants: Their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709–725, 2011.
- KROMDIJK, J. et al. Melhorando a fotossíntese e a produtividade das culturas acelerando a recuperação da fotoproteção. **Ciência**, v. 354, n. 6314, p. 857-861, 2016.
- LAGO, J. H. G. et al. Analysis, comparison and variation on the chemical composition from the leaf volatile oil of *Xylopia aromatica* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 6, n. 31, p. 669-672, 2003.
- 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.

LEITE, A. M. et al. Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 121–126, 2007.

LI, Yao-Lan et al. Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Schefflera heptaphylla*. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 23, n. 1, p. 140-142, 2009.

LOPES, S. F. et al. Caracterização ecológica e distribuição diamétrica da vegetação arbórea em um remanescente de floresta estacional semidecidual na Fazenda Experimental do Glória, Uberlândia, MG. **Bioscience Journal**, v. 27, p. 322-335, 2011.

LU, X. G. et al. D-limonene induces apoptosis of gastric cancer cells. **Zhonghua Zhong Liu Za Zhi [Chinese Journal of Oncology]**, v. 25, n. 4, p. 325-327, 2003.

MACHADO, F. et al. Photosynthetic performance and volatile organic compounds profile in *Eucalyptus globulus* after UVB radiation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 140, p. 141-149, 2017.

MAIA, J. G. S. et al. Leaf volatile oils from four Brazilian *Xylopi*a species. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 5, p. 474–477, 2005.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

MOLLER I.M., JENSEN P.E., HANSSON A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual review of plant biology**, v. 58, p. 459–81, 2007.

MOREIRA, I. C.; LAGO, J. G.; ROQUE, N. F. Alkaloid, flavonoids and terpenoids from leaves and fruits of *Xylopi*a *emarginata* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 5, n. 31, p. 535-537, 2003.

MORRIS, D.L. Quantitative Determination of Carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. **Science (Washington)**, v. 107, p. 254–255, 1948.

NIINEMETS, Ü. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. **Forest Ecology and management**, v. 260, n. 10, p. 1623-1639, 2010.

NIYOGI, Krishna K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. **Annual review of plant biology**, v. 50, n. 1, p. 333-359, 1999.

PASTORE, M.N. da S.R.F., 2011. **Plantas da Amazônia: 450 espécies de uso geral**.

RAO, M. L.; SAVITHRAMMA, N.; SUHRULATHA, D. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 8, n. 3, p. 579–584, 2011.

ROCA-PÉREZ, Luis et al. Seasonal cardenolide production and Dop5 β r gene expression in natural populations of *Digitalis obscura*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1869-1878, 2004.

RUBAN, A. V.; JOHNSON, M. P. Dynamics of higher plant photosystem cross-section associated with state transitions. **Photosynthesis Research**, v. 99, p. 173-183, 2009.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v. 101, p. 7- 12, 1993.

SCHWOB, I.; BESSIERE, J. M. Changes in essential oil composition in saint john, s wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochem Syst Ecol**, v. 32, p. 735-45, 2004.

SHARKEY, T. D.; YEH, S. Isoprene emission from plants. **Annual review of plant biology**, v. 52, n. 1, p. 407-436, 2001.

SILVA, L. E. et al. Plantas do gênero *Xylopi*a: composição química e potencial farmacológico. **Revista Brasileira de Plantas Medicin**ais, v. 17, p. 814-826, 2015.

SPYCHALLA, J. P.; DESBOROUGH, S. L. Superoxide dismutase, catalase, and α -tocopherol content of stored potato tubers. **Plant Physiology**, v. 94, n. 3, p. 1214-1218, 1990.

STITT, M.; ZEEMAN, S. C. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. **Current opinion in plant biology**, v. 15, n. 3, p. 282-292, 2012.

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

THALMANN, M.; SANTELIA, D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. **New Phytologist**, v. 214, n. 3, p. 943-951, 2017.

VALAREZO, E. et al. Chemical composition of essential oils of two species of the Lamiaceae family: *Scutellaria volubilis* and *Lepechinia paniculata* from Loja, Ecuador. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 1, p. 31-37, 2012.

VANDENDOOL, H.; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, v. 11, n. 3, p. 463–71, 1963.

VIDAL, C. S. et al. Chemical composition, antibacterial and modulatory action of the essential oil of *Croton rhamnifolioides* leaves Pax and Hoffman. **Biosci. j. (Online)**, p. 1632-1643, 2016.

VRANOVA, E.; INZE, D.; BREUSEGEM, F. V. **Signal trans Oxid Stress**, v. 53, n. 372, p. 1227–1236, 2002.

ZHAO, W. et al. Effects of water stress on photosynthesis, yield, and water use efficiency in winter wheat. **Water**, v. 12, n. 8, p. 2127, 2020.

WALTERS, R. G. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. **Journal of experimental botany**, v. 56, n. 411, p. 435-447, 2005.

WANG, W.B.; KIM, Y.H.; LEE, H.S.; KIM, K.Y.; DENG, X.P.; KWAK, S. S. Analyses of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, 47: 570-577, 2009.

YANG, Chang-Qing et al. Transcriptional regulation of plant secondary metabolism. **Journal of integrative plant biology**, v. 54, n. 10, p. 703-712, 2012.

YEMM, E.W., WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical journal**, v. 57, n. 3, p. 508–514, 1954.

**CAPÍTULO II: Terpenos e alcaloides de *Xylopiá aromática* (Lam.) Mart. com potencial
atividade biológica**

Resumo

Os metabólitos especializados contribuem para manutenção e sobrevivência vegetal, exibindo respostas de defesa a estresse biótico e abiótico. Quimicamente são divididos em terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. O metabolismo especializado é específico e sua biossíntese pode ser influenciada por fatores como época de coleta do material vegetal, temperatura e precipitação. Nesse contexto, a abundância e diversidade de metabólitos especializados no gênero *Xylopia* sugere estudos para compreensão das suas relações fisiológicas, ecológicas e/ou evolutivas com o meio e representa importante alternativa na prospecção por compostos bioativos. Além disso, a bioprospecção por novos compostos bioativos é importante ferramenta na busca por espécies que apresentem maior tolerância a estresses bióticos e abióticos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os terpenos e alcaloides de *Xylopia aromatica* produzidos em diferentes épocas e identificar potencial atividade biológica. Quinze plantas de *X. aromatica* foram estudadas e avaliadas em remanescentes de Cerrado stricto sensu, localizados na região de Santa Fé do Sul, São Paulo, nas épocas seca e chuvosa, em dois anos de coleta. As variáveis analisadas foram extração, quantificação e caracterização da composição química do óleo essencial e de alcaloides de folhas de *X. aromatica*. As substâncias majoritárias, identificadas no óleo essencial de folhas de *X. aromatica* foram α -pineno, β -pineno, espatulenol, limoneno e biciclogermacreno. Biciclogermacreno foi maior em plantas coletadas no ano de 2022 e na época seca e o espatulenol foi maior em plantas coletadas na época chuvosa. A quantificação de liriodenina em folhas de *X. aromatica* foi maior na época chuvosa. Onze alcaloides foram identificados. Observou-se que, o metabolismo especializado pode variar dependendo de fatores como disponibilidade hídrica e época de coleta, ficando evidente a importância de estudos que visem detectar as condições e épocas para coleta que conduzam a matéria-prima vegetal com concentrações desejáveis de compostos de interesse. A análise das substâncias identificadas no presente estudo revela variedade de compostos com potencial biológico significativo encontradas no óleo essencial e alcaloides de *X. aromatica*.

Palavras-chave: compostos bioativos, metabolismo especializado, liriodenina, alfa pineno, beta pineno

Abstract

Metabolites specialized for plant maintenance and survival, exhibiting defense responses to biotic and abiotic stress. Chemically, they are divided into terpenes, phenolic compounds and nitrogenous compounds. Specialized metabolism is specific and its biosynthesis can be influenced by factors such as the time of collection of plant material, temperature and selection. In this context, the abundance and diversity of metabolites specialized in the genus *Xylopia* suggests studies to understand their physiological, ecological and/or evolutionary relationships with the environment and represents an important alternative in the prospection for bioactive substances. Furthermore, bioprospecting for new bioactive substances is an important tool in the search for species that have greater tolerance to biotic and abiotic stresses. Therefore, the objective of this work was to evaluate some terpenes and alkaloids from *Xylopia aromatica* produced at different times and identify potential biological activity. Fifteen *X. aromatica* plants were studied and evaluated in remnants of the Cerrado stricto sensu, located in the region of Santa Fé do Sul, São Paulo, in the dry and rainy seasons, in two years of collection. The variations verified were removal, quantification and characterization of the chemical composition of the essential oil and alkaloids from *X. aromatica* leaves. The main substances identified in the essential oil of *X. aromatica* were α -pinene, β -pinene, spatulenol, limonene and bicyclogermacrene. Bicyclogermacrene was higher in plants collected in 2022 and in the dry season and spatulenol was higher in plants collected in the rainy season. The amount of lirioidenin in *X. aromatica* leaves was higher in the rainy season. Eleven alkaloids have been identified. It should be noted that specialized metabolism can vary depending on factors such as water availability and collection time, making evident the importance of studies that aim to detect the conditions and times for collection that lead to plant raw material with desirable concentrations of active ingredients of collects interest. The detailed analysis of the substances identified in the present study reveals a variety of compounds with significant biological potential found in the essential oil and alkaloids of *X. aromatica*.

Keywords: bioactive compounds, specialized metabolism, lirioidenin, alpha pinene, beta pinene

1. INTRODUÇÃO

A diversidade de organismos vegetais no ambiente terrestre e as características próprias de cada espécie possui forte influência no metabolismo especializado das plantas. Os metabólitos especializados contribuem para manutenção e sobrevivência do vegetal, com respostas de defesa a estresse biótico e abiótico e como atrativos ou repelentes a insetos (WINK, 2008). Diferente do metabolismo primário que é comum aos vegetais, o metabolismo especializado é específico a determinados grupos de plantas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; WINK, 2008).

Devido a grande diversidade de metabólitos especializados, estudos com espécies pertencentes à família Annonaceae estão sendo desenvolvidos. Dentre estas espécies, podemos encontrar potenciais voltados para gastronomia, farmacologia, utilizando os extratos das folhas, flores, frutos, raízes e sementes (KRINSKI et al., 2014). Quimicamente, os metabólitos especializados podem ser divididos em terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (alcaloides) (TAIZ et al., 2017), sendo que o primeiro compreende a maior classe dos metabólitos especializados, com mais de 30.000 moléculas identificadas, seguido pelos compostos nitrogenados com mais de 20.000 substâncias (MATSUURA et al., 2018).

Diversos compostos encontrados nos óleos essenciais derivados de diferentes espécies, incluindo anonáceas, como por exemplo, α -pineno, β -pineno, α -felandreno e β -felandreno demonstraram atividade biológica em testes contra bactérias e fungos (APARICIO-ZAMBRANO et al., 2019; BAJPAI et al., 2007; ERAZO et al., 2006; PEÑA et al., 2012; SONBOLI et al., 2006). Além disso, na família Annonaceae, um dos principais grupos de metabólitos encontrados é o dos alcaloides, com relatos de cerca de 934 alcaloides, dos quais aproximadamente 99 apresentam atividades biológicas (DE-LA-CRUZ-CHACÓN et al., 2019; LEVORATO VINCHE et al., 2020; LÚCIO et al., 2015).

No Cerrado são encontrados 10 gêneros de Annonaceae, nenhum endêmico, porém algumas das espécies identificadas são de ampla distribuição e popularmente conhecidas como, *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart., uma das espécies mais representativas do gênero *Xylopia* no Brasil, uma vez que, sua ocorrência foi registrada nos estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Bahia, Piauí, Maranhão, Rondônia, Tocantins, Amazonas, Pará, Amapá e Roraima (BARBOSA, 2008; CNCFlora, 2012; DIAS et al., 1998). Em cada região a espécie é conhecida popularmente por diferentes nomes dentre os quais, pimenta-de-macaco, pindaíba, pindaíba-de-macaco, pindaíba-do-campo, bananinha, begerecum, cedro- do-campo, imbiriba e pimenteira (LORENZI, 2016; DURIGAN, 2004).

Existem diversos fatores capazes de influenciar a biossíntese de metabólitos especializados, podendo interferir na sua natureza e quantidade (TRAPP; CROTEAU, 2001; SHAO et al., 2011). Dentre eles, pode-se citar a época de coleta do material vegetal e fatores climáticos, como temperatura e precipitação, considerados fatores de grande importância, uma vez que, a quantidade e, até mesmo a natureza das substâncias, não são constantes durante o ano, podendo alterar conseqüentemente, a atividade biológica desses compostos (GOBBONETO; LOPES, 2007; BOTREL, 2010). Deve-se enfatizar que o efeito biológico dos metabólitos especializados é determinado pela sua composição química e pela interação dos seus elementos químicos, que podem interagir entre si para produzir atividade sinérgica, aditiva ou antagônica (NIKOLIĆ et al., 2017; NZOGONG et al., 2018; PERIĆ et al., 2019).

Nesse contexto, a abundância e diversidade de metabólitos especializados no gênero *Xylopi* sugere estudos para a compreensão das suas relações ecofisiológicas e/ou evolutivas com o meio e representa importante alternativa na prospecção por compostos bioativos, tanto de interesse medicinal como agrônômico (LOPES & SILVA, 2014; LEVORATO VINCHE et al., 2020). Além disso, a bioprospecção por novos compostos bioativos é importante ferramenta na busca por espécies que apresentem maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014).

De acordo com o acima exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os terpenos e alcaloides de *Xylopi aromatica* produzidos em diferentes épocas e identificar potencial atividade biológica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Quinze plantas de *Xylopi aromatica* (Lam.) Mart foram estudadas e avaliadas em remanescentes de Cerrado stricto sensu, localizados na região de Santa Fé do Sul, São Paulo, ao longo da Rodovia dos Barrageiros, coordenadas 20°12'57.6"S, 50°54'28.8"W. As coletas foram realizadas nos dias 11 e 12 de março de 2021, 25 e 26 de agosto de 2021, 23 e 24 de março de 2022, e 24 e 25 de agosto de 2022. Os 15 indivíduos foram avaliados em duas épocas distintas: seca e fria, e chuvosa e quente, totalizando quatro coletas (duas durante a época seca e duas durante a época chuvosa). Amostras de folhas foram coletadas e analisadas nos laboratórios do Departamento de Biodiversidade e Bioestatística, no setor de Biologia Vegetal do Instituto de Biociências (IBB), e no Instituto Agrônômico de Campinas (IAC).

Óleo essencial

Secagem das folhas e extração de óleo essencial

Ramos de diferentes posições dos 15 indivíduos de *Xylopiia aromatica* foram coletados. As folhas foram separadas dos ramos e secas em temperatura ambiente por 15 dias, tempo suficiente para secagem e facilidade de seu acondicionamento no aparato tipo Clevenger.

Os óleos essenciais das folhas foram extraídos por hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, durante 2 horas, sendo, a seguir, armazenados em frascos de vidro (Vial, 5 mL) e mantidos no freezer até a análise da composição química.

Caracterização da composição química do óleo essencial

A análise qualitativa dos óleos essenciais foi conduzida em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM - Shimadzu, QP-5000), operando a 70 eV, dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste (1,0 mL/min), injetor a 220°C, detector a 230°C. Foi utilizado o programa de temperatura de 60°C-240°C, 3°C/min, efetuando-se as alterações de acordo com a eficiência de separação dos componentes da mistura.

A identificação das substâncias foi realizada pela comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema (CG-EM); índices de Retenção (IR) e dados de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos, pela análise nas mesmas condições operacionais das amostras de uma mistura de n-alcenos (C9-C40 - Sigma Aldrich 99%) e aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

A análise quantitativa dos óleos essenciais para estudo da sua composição química foi conduzida por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (GC-DIC), empregando-se as mesmas condições operacionais das análises por CG-EM.

Extração, quantificação e perfil dos alcaloides benzilisoquinolínicos

A avaliação dos alcaloides totais foi realizada em amostras foliares de 15 plantas de *Xylopiia aromatica* por meio de extração seletiva ácido-base em material seco e moído. Foram utilizados 5g por amostra, impregnada com 30 mL de solução de Na₂CO₃ e seca por 48h em temperatura ambiente. Após a secagem os alcaloides foram extraídos com 100 mL de CHCl₃ sob agitação constante durante 1h e a seguir, as amostras foram filtradas e lavadas com água deionizada. A separação da fase clorofórmio foi realizada com 60 mL de solução saturada 1 N de HCl e a fase ácida foi preservada e alcalinizada com solução saturada de Na₂CO₃ até atingir pH 7. Nova extração foi realizada com CHCl₃ e as amostras foram secas com Na₂SO₄ anidro.

Finalmente as amostras foram filtradas e evaporadas em um evaporador rotativo a baixa temperatura, obtendo-se os extratos de alcaloides totais (GONZÁLEZ-ESQUINCA, 2011).

Os extratos foram analisados, os perfis obtidos foram comparados com padrões pré existentes e a liriodenina foi quantificada utilizando cromatógrafo líquido ultra-alto desempenho (UHPLC - Thermo Fisher-Scientific ®) com bomba de gradiente e detector UV-Vis com o uso de coluna de fase reversa C 18 (150 × 4,6 mm e 5 µm de diâmetro de partícula). A fase móvel utilizada foi água (pH 3,5 com ácido acético) e 30:70 isometanol crático, com taxa de fluxo de 1mL / min, mantendo a temperatura da coluna a 30 ° C.

Forma de análise dos resultados

As substâncias majoritárias encontradas no óleo essencial e liriodenina foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (ZAR, 2010).

3. RESULTADOS

As substâncias majoritárias, com maiores porcentagens relativas, identificadas no óleo essencial de *Xylopia aromatica* foram α -pineno, β -pineno, espatulenol, limoneno e biciclogermacreno e estão representadas na figura 1.

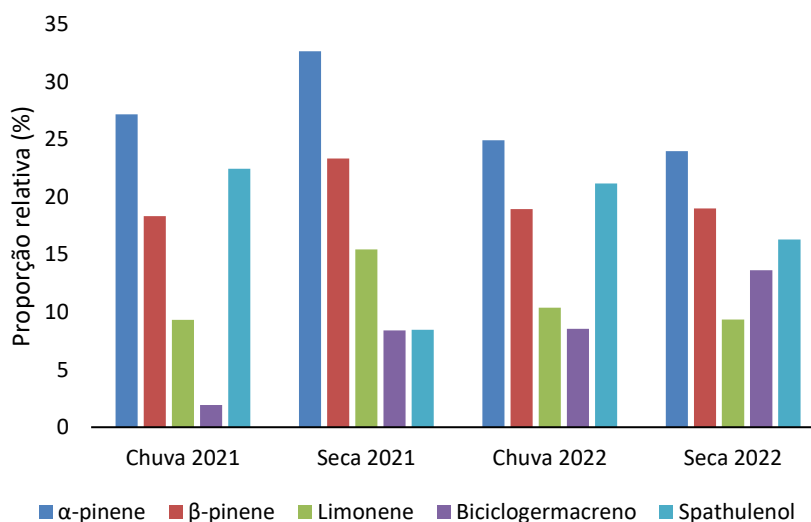


Figura 1. Proporção relativa (%) de cinco substâncias majoritárias identificadas no óleo essencial de *Xylopia aromatica*, coletadas na época chuvosa e na época seca no ano de 2021 e reamostradas em 2022. Média de 15 plantas.

As substâncias α -pineno, β -pineno e limoneno encontradas no óleo essencial de *Xylopiya aromatica* não apresentaram diferenças significativas quanto a época e ano de coleta. A porcentagem relativa do biciclogermacreno foi maior em plantas coletadas no ano de 2022 e na época seca. O espatulenol foi maior em plantas coletadas na época chuvosa, independente do ano de coleta (Tabela 1).

Tabela 1. Máximo, mínimo e porcentagem relativa das substâncias majoritárias encontradas no óleo essencial de *Xylopiya aromatica*, coletadas na época chuvosa e na época seca no ano de 2021 e reamostradas em 2022.

	Ano de coleta	Chuva			Seca			Média ano	p<F
		Min	Max	Média	Min	Max	Média		
α-pineno	2021	9,48	39,04	27,16 ^{ns}	0,73	46,16	32,63 ^{ns}	29,85	0,24
	2022	10,05	44,77	24,90 ^{ns}	12,70	41,49	23,96 ^{ns}		
Média época		26,03			28,29				
β-pineno	2021	3,86	27,93	18,34 ^{ns}	0,04	35,33	23,33 ^{ns}	20,83	0,29
	2022	1,88	33,15	18,95 ^{ns}	9,41	25,32	19,00 ^{ns}		
Média época		18,64			21,17				
Limoneno	2021	0,04	32,46	9,32 ^{ns}	0,04	72,26	15,44 ^{ns}	12,38	0,35
	2022	0,04	38,64	10,39 ^{ns}	0,17	29,73	9,35 ^{ns}		
Média época		9,85			12,39				
Biciclogermacreno	2021	0,04	5,59	1,93	2,72	28,51	8,40	5,16 B	0,0001
	2022	1,62	24,50	8,55	5,56	23,66	13,62		
Média época		5,24 b			11,01 a				
Espatulenol	2021	6,66	45,49	22,44	1,34	38,99	8,46	15,45	0,0006
	2022	6,54	46,97	21,17	5,12	37,48	16,30		
Média época		21,80 a			12,38 b				

Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam médias na coluna (anos) e letras maiúsculas comparam médias na linha (épocas). Tukey (p<0,05). N = 15.

Entre os alcaloides totais, a concentração de liriodenina foi maior na época chuvosa, não havendo interação entre os fatores época e ano (Figura 2).

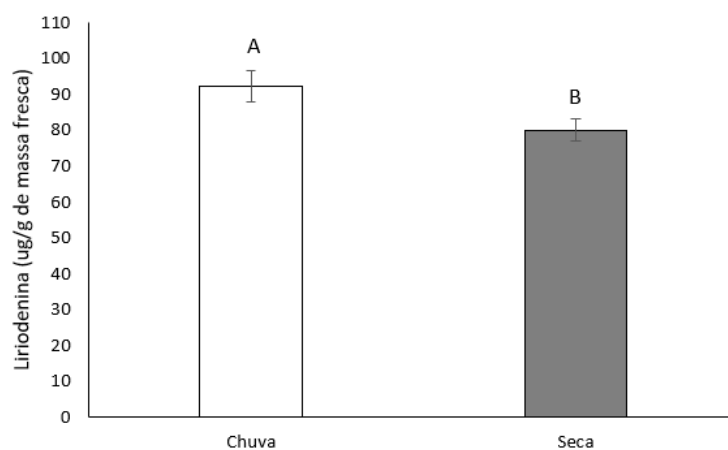


Figura 2. Concentração de liriodenina em folhas de *Xylopiya aromatica*, na época chuvosa e seca, coletadas em 2021 e reamostradas em 2022. Médias seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de significância. Letras maiúsculas comparam ano de coleta (2021 e 2022).

Onze alcaloides foram identificados nas folhas a partir dos padrões utilizados, sendo que oito deles estão presentes em todos os tratamentos, ou seja, na época chuvosa e seca, no ano de 2021 e 2022 (Tabela 4).

Tabela 2. Presença (x) e ausência (-) de alcaloides em folhas de *Xylopiya aromatica*, coletadas na época chuvosa e seca, no ano de 2021 e reamostradas no ano de 2022, Santa Fé do Sul, São Paulo, Brasil.

Substâncias	Chuva/2021	Seca/2021	Chuva/2022	Seca/2022
Reticulina	-	-	X	X
N-Metil-Laurotetanina	X	X	X	X
Norglaucina	X	X	X	X
Discretina	-	X	-	-
Xilopinina	X	X	-	-
Xilopina	X	X	X	X
Assimilobina	X	X	X	X
Laurotetanina	X	X	X	X
Liriodenina	X	X	X	X
Oxoglaucina	X	X	X	X
Lanulinosina	X	X	X	X

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, as substâncias majoritárias identificadas no óleo essencial de *Xylopiya aromatica* foram α -pineno, β -pineno, espatulenol, limoneno e biciclogermacreno, sendo que, α -pineno, β -pineno e limoneno não apresentaram diferenças significativas quanto a

época e ano de coleta. A porcentagem relativa do biciclogermacreno foi maior em plantas coletadas no ano de 2022 e na época seca e o espatulenol foi maior em plantas coletadas na época chuvosa, independente do ano de coleta.

Pode-se observar que, apesar de não apresentarem diferenças estatísticas, os terpenos alfa e beta-pineno devem ser destacados como componentes importantes com porcentagens relativas entre 24,43 e 29,85 para alfa-pineno e 18,34 e 21,17 para beta-pineno, nas épocas chuvosa e seca em ambos os anos. Esses resultados estão de acordo com aqueles observados em estudos que avaliaram óleos essenciais em folhas, flores e frutos de *X. aromatica* e α e β -pineno foram os principais compostos majoritários (VIEIRA et al., 2023; LAGO et al., 2003; ANDRADE et al., 2004). Atividades antifúngicas e antibacterianas já foram observadas e relacionadas a estes compostos por alguns autores (VEIRA et al., 2023; BAJPAI; RAHMAN; KANG, 2007; LEITE et al., 2007; LIMA et al., 2005).

O espatulenol, outro composto majoritário observado no óleo essencial e encontrado em maior quantidade na época chuvosa, também pode ter atividade biológica, como antioxidante, anti-inflamatório, propriedades antimicobacterianas, entre outras (DO NASCIMENTO et al., 2018). Atividade anticancerígena relacionada ao sesquiterpeno espatulenol foi identificada em óleos essenciais de várias espécies vegetais, como *Croton rhamnifolioides*, *Boswellia carterii* e *Commiphora pyracanthoides* (CHEN et al., 2013; VIDAL et al., 2016).

O limoneno, outro componente majoritário encontrado no óleo essencial de *X. aromatica*, possui atividades biológicas comprovadas por alguns autores, como responsável por prevenir e inibir adenocarcinoma pulmonar e o crescimento de células de câncer gástrico in vitro (LU et al., 2020; LU et al., 2003). Em estudo recente, o limoneno inibiu efetivamente o crescimento bacteriano em uma concentração inibitória mínima (MIC) de 20 ml/L (HAN; CHEN; SUN, 2021).

A composição química do óleo essencial foliar de *X. aromatica* coletada no estado de Goiás, Brasil, continha biciclogermacreno, α -pineno e β -pineno como principais constituintes, enquanto α -pineno, β -felandreno e β -pineno foram os principais componentes do óleo de seu fruto (PERES et al., 2020). O óleo das flores de *X. aromatica* cultivada no Catalão (GO), Brasil, apresentou como majoritários biciclogermacreno, 7-epi- α -eudesmol e khusinol, enquanto no óleo das folhas foram caracterizadas grandes quantidades de espatulenol, khusinol e biciclogermacreno (NASCIMENTO et al., 2018). O óleo coletado de folhas de *X. aromatica* no Pará, Brasil, apresentou-se majoritário em biciclogermacreno, espatulenol e limoneno (MAIA et al., 2005). Óleo essencial das folhas de *X. aromatica* coletadas em Cuba continha espatulenol como majoritário (PINO et al., 2000). Os resultados do presente estudo revelam

óleo essencial com os mesmos componentes majoritários encontrados em estudos realizados em diversas regiões do Brasil e do exterior.

Vieira et al., 2023 avaliaram a composição química e atividade antifúngica de *X. aromatica* dos óleos essenciais de folhas, coletadas em quatro localidades diferentes no estado de São Paulo, Brasil, e observaram que além do ambiente ter alterado o efeito biológico do óleo, houve interação entre os componentes na atividade biológica. Nesse mesmo estudo, os óleos essenciais compostos em sua maioria por β -felandreno, α e β -pineno e biciclogermacreno, na dosagem de $125 \mu\text{g mL}^{-1}$, apresentou atividade antifúngica contra a cepa *Candida krusei*, enquanto na dose de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ demonstrou atividade antifúngica contra isolados de *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*. Já o óleo essencial que exibiu biciclogermacreno e espatulenol como majoritários, na dose de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$, revelou atividade antifúngica contra isolados de *C. neoformans* e *C. gattii*. Os padrões de α e β -pineno demonstraram atividade in vitro contra *C. krusei* (CIM= $16 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Ainda, óleos essenciais de flores e folhas de *X. aromatica* no Brasil apresentaram fortes efeitos antibacterianos contra *Streptococcus pyogenes* com valores de concentração inibitória mínima (CIM) iguais respectivamente a 200 e 100 $\mu\text{g/mL}$, enquanto esses óleos apresentaram valores de CIM de 400 $\mu\text{g/mL}$ contra *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os óleos de flores e folhas de *X. aromatica* apresentaram efeitos antifúngicos contra *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *Propionibacterium acnes*, com valores de CIM variando entre 400 e 2.000 $\mu\text{g/mL}$ (NASCIMENTO et al., 2018).

Li et al. (2009) e Vieira et al., (2023) destacaram que a atividade antiproliferativa também pode ser atribuída à ação sinérgica de efeitos de todos os terpenos que fazem parte da composição química dos óleos essenciais. Os autores ainda referem que outros compostos ativos em baixas concentrações nos óleos essenciais podem ser responsáveis por promissores efeitos antiproliferativos.

A concentração de liriodenina foi maior na época chuvosa, não havendo interação entre os fatores ano e época. Estudo realizado com *Annona emarginata* revelou que em condições de alagamento também houve aumento na concentração do alcaloide liriodenina (HONÓRIO, 2022). Enquanto que, estudo com raízes de *Annona lutescens* mostrou aumento significativo na concentração de liriodenina durante a estação seca e diminuição significativa ocorreu no início da estação chuvosa, indicando que a variação climática induziu alterações fenológicas e fisiológicas nesta espécie (CASTRO-MORENO et al., 2013).

Onze alcaloides foram identificados nas folhas a partir dos padrões utilizados sendo que, oito deles estiveram presentes na época chuvosa e seca, em ambos os anos. A reticulina só foi encontrada no ano de 2021 e a xilopinina em 2022. Sabe-se que, processos fisiológicos, como

fotossíntese, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento, podem ser alterados de diversas maneiras em decorrência da disponibilidade hídrica e, conseqüentemente, levar a alterações no metabolismo especializado (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Nesse sentido, no presente estudo, de acordo com dados registrados em localidade próxima ao campo de coleta, entre janeiro e março de 2021 e 2022 a média de precipitação foi igual a 118 e 189 mm, respectivamente, enquanto entre abril e agosto de 2021 e 2022 foi igual a 9 e 29 mm, respectivamente, revelando alterações pluviométricas consideráveis nas diferentes épocas de coleta.

Dentre os alcaloides identificados, podemos citar a xilopina e a liriodenina que são encontrados em diversas famílias vegetais e, principalmente, em plantas da família Annonaceae, os quais apresentam atividades biológicas já comprovadas.

Em plantas de *Guatteria* spp., a xilopina, alcaloide aporfínico, apresentou atividade leishmanicida (MONTENEGRO et al., 2003). Em plantas de *Stephania pierrei*, a xilopina apresentou correlação com a citotoxicidade (LIU et al., 2013). Em *Xylophia laevigata*, a xilopina apresentou potente atividade citotóxica com valores de CI50 (concentração inibitória de 50%) iguais a 3,77, 1,87, 1,87 e 3,12 µg/mL para diferentes linhagens de células cancerígenas (SANTOS, 2018).

Entre as atividades biológicas da liriodenina podemos citar a ação antimicrobiana, antifúngica (DE LA CRUZ-CHACÓN et al., 2011; MOLLATAGHI et al., 2012; LEVORATO VINCHE et al., 2020; HARAHAHAP et al., 2022), neurotóxica e citotóxicas (MAJRASHI et al., 2021; WU et al., 1993), antiprotozoaria (COSTA et al., 2013), entre outras (CHU et al., 2015; MOLLATAGHI et al., 2012).

Outros alcaloides identificados no presente estudo também apresentam atividades biológicas comprovadas na literatura. A assimilobina apresentou efeitos biológicos antimicrobianos (COSTA et al., 2013), além de ser considerada anti-depressiva (HASRAT et al., 1997). A reticulina apresentou atividades antimicrobianas (*Candida albicans*, *C. dubliniensis* e *C. parapsilosis*) (COSTA et al., 2013) e antiagregante plaquetária (CHEN et al., 2000). Extratos alcaloidais de raízes de *Annona emarginata* contendo os alcaloides assimilobina, liriodenina, reticulina, entre outros, exibiram resposta contra os fungos *Colletotrichum fructicola* e *C. theobromicola*. Extratos de alcaloides de raízes de *Annona purpurea* contendo os alcaloides liriodenina, reticulina e xylopina foram testados contra fungos vegetais, como *Colletotrichum gloesporioides*, *Curvularia lunata* e *Fusarium oxysporum* e apresentaram resultados promissores (DE-LA-CRUZ-CHACÓN et al., 2019).

No presente estudo, destaca-se a presença dos terpenos α -pineno, β -pineno, espatulenol, limoneno e biciclogermacreno como majoritários no óleo essencial de *X. aromatica*, os quais

têm sido associados a diversas atividades biológicas, incluindo propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas. Essa diversidade de compostos presentes no óleo essencial sugere a continuidade dos estudos visando potencial atividade biológica.

Em relação aos alcaloides presentes nas folhas de *X. aromatica*, a concentração desses compostos em diferentes épocas e anos revelou resposta ao ambiente, especialmente à disponibilidade hídrica. A presença de alcaloides como xilopina e liriodenina pode estar associada a atividades biológicas, antimicrobianas, antifúngicas, citotóxicas e antiprotozoárias, de acordo com resultados da literatura. Vale ressaltar que, a interação entre os outros compostos identificados também pode desempenhar um papel sinérgico nas atividades biológicas.

Conforme observado, o metabolismo especializado e conseqüentemente, sua atividade biológica podem variar consideravelmente dependendo de vários fatores, entre eles disponibilidade hídrica e época de coleta do material vegetal, ficando evidente a importância de estudos que visem detectar as condições e épocas para cultivo e/ou coleta que conduzam a uma matéria-prima vegetal com concentrações desejáveis de substâncias químicas de interesse. Além disso, o reconhecimento e a compreensão dessas variações poderão auxiliar na ampliação dos conhecimentos sobre interações ecológicas do vegetal com seu ambiente.

5. CONCLUSÃO

A avaliação das substâncias identificadas no presente estudo revela uma variedade de compostos no óleo essencial e alcaloides de *Xylopiya aromatica* com potencial biológico.

Os resultados apresentados neste estudo fornecem base para investigações futuras sobre as aplicações biológicas de *X. aromatica*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, E. H. A. et al. Essential oil composition from leaf, fruit and flower of *Xylopiya aromatica* (Lam.) Mart. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 7, n. 2, p. 151-154, 2004.

APARICIO-ZAMBRANO, R. et al. Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae). **Revista peruana de biología**, v. 26, n. 1, p. 95-100, 2019.

BAJPAI, V. K.; RAHMAN, A.; KANG, S. C. Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. **Industrial Crops and Products**, v. 26, n. 1, p. 28-35, 2007.

BARBOSA, R. I.; LIMA, C. G. B. Notas sobre a diversidade de plantas e fitofisionomias em Roraima através do Banco de Dados do Herbário INPA. 2008.

CASTRO-MORENO, M. et al. Influence of seasonal variation on the phenology and liriodenine content of *Annona lutescens* (Annonaceae). *Journal of Plant Research*, v. 126, p. 529-537, 2013.

CNC FLORA. **Lista Vermelha da flora brasileira**. 2018.

COSTA, E. V. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of aporphinoids and other alkaloids from the bark of *Annona salzmannii* A. DC.(Annonaceae). **Natural product research**, v. 27, n. 11, p. 1002-1006, 2013.

CHEN, J. et al. Anti-platelet aggregation alkaloids and lignans from *Hernandia nymphaeifolia*. **Planta medica**, v. 66, n. 03, p. 251-256, 2000.

CHEN, J. et al. Aporphine alkaloids: a kind of alkaloids' extract source, chemical constitution and pharmacological actions in different botany: a review. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 18, p. 10015-10027, 2013.

CHEN, Y. et al. Composition and potential anticancer activities of essential oils obtained from myrrh and frankincense. **Oncology letters**, v. 6, n. 4, p. 1140-1146, 2013.

CHU, C. et al. Biofunctional constituents from *Michelia compressa* var. lanyuensis with anti-melanogenic properties. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 12166-12174, 2015.

DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I. et al. Spatio-Temporal Variation of Alkaloids in *Annona purpurea* and the Associated Influence on Their Antifungal Activity. **Chemistry & Biodiversity**, v. 16, n. 2, p. e1800284, 2019.

DIAS, M. C. et al. Hipanto e tubo estaminal em *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 21, p. 81-88, 1998.

DO NASCIMENTO, M. N. G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Xylopia aromatica* (Annonaceae) flowers and leaves. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, p. 1578–1590, 2018.

ERAZO, S. et al. Constituents and biological activities of *Schinus polygamus*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 107, n. 3, p. 395-400, 2006.

FENG, T. et al. LUAD transcriptomic profile analysis of d-limonene and potential lncRNA chemopreventive target. **Food & function**, v. 11, n. 8, p. 7255-7265, 2020.

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.

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

HAN, Y.; CHEN, W.; SUN, Z. Antimicrobial activity and mechanism of limonene against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Safety**, v. 41, n. 5, p. e12918, 2021.

HARAHAP, D. et al. Antibacterial activities of seven ethnomedicinal plants from family Annonaceae. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 13, n. 3, p. 148-153, 2022.

HASRAT, J. A. et al. Isoquinoline derivatives isolated from the fruit of *Annona muricata* as 5-HT_{1A} receptor agonists in rats: unexploited antidepressive (lead) products. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 49, n. 11, p. 1145-1149, 1997.

HONÓRIO, A. B. M. **Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.** 2022.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. Principais doenças de anonáceas no Brasil: descrição e controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 55-64, 2014.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 225-242, 2014.

LAGO, J. H. G. et al. Analysis, comparison and variation on the chemical composition from the leaf volatile oil of *Xylopiya aromatica* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n. 6, p. 669-672, 2003.

LEITE, A. M. et al. Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 121-126, 2007.

LEVORATO VINCHE, A. D. et al. Antifungal activity of liriodenine on agents of systemic mycoses, with emphasis on the genus *Paracoccidioides*. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 26, p. e20200023, 2020.

LI, Yao-Lan et al. Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Schefflera heptaphylla*. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 23, n. 1, p. 140-142, 2009.

LIMA, I. O. et al. Inhibitory effect of some phytochemicals in the growth of yeasts potentially causing opportunistic infections. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, p. 199-203, 2005.

LIU, Ann-Jeng et al. Evodiamine, a plant alkaloid, induces calcium/JNK-mediated autophagy and calcium/mitochondria-mediated apoptosis in human glioblastoma cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 205, n. 1, p. 20-28, 2013.

LU, X. G. et al. D-limonene induces apoptosis of gastric cancer cells. **Zhonghua Zhong Liu Za Zhi [Chinese Journal of Oncology]**, v. 25, n. 4, p. 325-327, 2003.

LÚCIO, A. S. S. C. et al. Alkaloids of the Annonaceae: occurrence and a compilation of their biological activities. **The alkaloids: chemistry and biology**, v. 74, p. 233-409, 2015.

MAIA, J. G. S. et al. Leaf volatile oils from four Brazilian *Xylopia* species. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 5, p. 474-477, 2005.

MAJRASHI, T. A. et al. In vitro cytotoxicity and neurotoxicity assessment of the alkaloidal constituents derived from *Asimina triloba* twigs. **South African Journal of Botany**, v. 140, p. 204-209, 2021.

MATSUURA, H. N. et al. Specialized plant metabolism characteristics and impact on target molecule biotechnological production. **Molecular biotechnology**, v. 60, p. 169-183, 2018.

MOLLATAGHI, A. et al. Anti-acetylcholinesterase, anti- α -glucosidase, anti-leishmanial and anti-fungal activities of chemical constituents of *Beilschmiedia* species. **Fitoterapia**, v. 83, n. 2, p. 298-302, 2012.

MONTENEGRO, H. et al. Aporphine alkaloids from *Guatteria* spp. with leishmanicidal activity. **Planta medica**, v. 69, n. 07, p. 677-679, 2003.

NASCIMENTO, M. N. G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Xylopia aromatica* (Annonaceae) flowers and leaves. **Rev. Virtual Quim**, v. 10, p. 1578-1590, 2018.

NIKOLIĆ, M. M. et al. Antimicrobial synergism and cytotoxic properties of *Citrus limon* L., *Piper nigrum* L. and *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel essential oils. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, n. 11, p. 1606-1614, 2017.

NZOGONG, R. T. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of triterpenoid and phenolic derivatives from two Cameroonian Melastomataceae plants: *Dissotis senegambiensis* and *Amphiblemma monticola*. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 18, n. 1, p. 1-11, 2018.

PEÑA, A. et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Espeletia nana*. **Natural product communications**, v. 7, n. 5, p. 1934578X1200700530, 2012.

PERES, M. C. et al. In natura and nanoencapsulated essential oils from *Xylopia aromatica* reduce oviposition of *Bemisia tabaci* in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Pest Science**, v. 93, p. 807-821, 2020.

PERIĆ, M. et al. Development and validation of mathematical models for testing antifungal activity of different essential oils against *Candida species*. **Archives of Oral Biology**, v. 98, p. 258-264, 2019.

PINO, J. A. et al. Leaf Oil of *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart, from Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 6, p. 751-752, 2000.

SANTOS, L. de S. et al. **Estudo do potencial citotóxico do alcaloide aporfínico xilopina**. 2018. Tese de Doutorado. Instituto Gonçalo Moniz.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TRAPP, S. C.; CROTEAU, R. B. **Genomic Organization of Plant Terpene Synthases**, 2001.

SONBOLI, A.; BABAKHANI, B.; MEHRABIAN, A. R. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 61, n. 3-4, p. 160-164, 2006.

SHAO, H. B. et al. Understanding molecular mechanism of higher plant plasticity under abiotic stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 54, n. 1, p. 37–45, 2007.

VIDAL, C. S. et al. Chemical composition, antibacterial and modulatory action of the essential oil of *Croton rhamnifolioides* leaves Pax and Hoffman. **Biosci. j. (Online)**, p. 1632-1643, 2016.

VIEIRA, M. A. R. et al. Geographical influences on the chemical composition and antifungal activity of *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. leaf essential oil. **South African Journal of Botany**, v. 160, p. 209-218, 2023.

WINK, M. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. **Natural Product Communications**, v. 3, n. 8, p. 1934578X0800300801, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo revela que *Xylopiya aromatica* demonstra importante capacidade de aclimação às variações ambientais, especialmente entre épocas secas e chuvosas em dois anos sucessivos. A plasticidade fenotípica observada nas plantas revela a capacidade de ajuste de seu metabolismo para otimizar a eficiência fotossintética, desenvolver mecanismos de proteção contra o estresse oxidativo e sintetizar compostos bioativos em resposta às condições específicas de cada período de coleta.

A análise detalhada do óleo essencial e dos alcaloides presentes em *X. aromatica* revelou uma ampla variedade de compostos com potencial biológico, destacando-se a presença de terpenos como α -pineno, β -pineno, espatulenol, limoneno e biciclogermacreno, bem como alcaloides como xilopina e liriodenina.

Portanto, os resultados deste estudo fornecem conhecimento para investigações futuras sobre as aplicações biológicas de *X. aromatica*. Além disso, ressalta-se a importância da conservação dessas plantas e de seu habitat natural, considerando seu potencial valor na biodiversidade.