



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



**Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer**

Ana Beatriz Marques Honório

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica).

**BOTUCATU – SP**

2022



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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer**

Ana Beatriz Marques Honório

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gisela Ferreira

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica).

**BOTUCATU – SP**

2022

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

Honório, Ana Beatriz Marques.

Efeitos do estresse hídrico no metabolismo fotossintético e produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer / Ana Beatriz Marques Honório. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: Gisela Ferreira  
Capes: 20303009

1. Açúcares. 2. Alcaloides. 3. Anonacea. 4. Enzimas.  
5. Fotossíntese.

Palavras-chave: Açúcares foliares; Alcaloides; Annonaceae;  
Enzimas antioxidantes; Fotossíntese.

*Toda mulher é forte, basta acreditar! Então menina, engole o choro ergue a cabeça e siga em frente, sempre!*

## Agradecimentos

À **Deus** pela oportunidade, força, sabedoria e resiliência para conclusão desse trabalho.

À **Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** – pelo auxílio financeiro para a realização do trabalho (código de Financiamento 001).

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, Campus de Botucatu, e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), pela estrutura e oportunidade.

À **Profa. Dra. Gisela Ferreira** pela oportunidade, orientação, auxílio, ensinamentos, confiança, paciência e dedicação durante este período.

À **minha família (em especial minha mãe, Simone Neves)** por todo exemplo de força, determinismo e por sempre me incentivarem a buscar meus objetivos.

Aos amigos do **Laboratório de Germinação e Laboratório de Crescimento e Fisiologia Vegetal - UNESP Botucatu** pelas exaustivas horas de bancada, auxílio nos experimentos, pelos momentos de descontração e parceria.

Aos amigos do viveiro de mudas do **Departamento de Ciência Florestal e Solos**, por toda vivência, aprendizado e apoio técnico na condução dos experimentos.

Aos amigos de Botucatu, que se tornaram uma grande família ao longo dos anos, que muitas vezes presenciaram as agonias, mas também, as pequenas alegrias.

Aos grandes amigos do Tocantins, uma família que levo sempre comigo, crescemos juntos e assim continuaremos.

Aos demais amigos de Goiás, Santa Catarina, muito obrigada por me acompanharem nessa caminhada.

Esse trabalho é fruto do apoio de cada um de vocês.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO:

Resumo .....	1
Introdução Geral.....	3
Objetivos .....	5
Objetivo Geral .....	5
Objetivos Específicos.....	5
Referências.....	6
<b>CAPÍTULO 1: Revisão - AVANÇOS SOBRE O IMPACTO DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO PRIMÁRIO, PRODUÇÃO DE ALCALOIDES E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO EM ANNONACEAE.....</b>	<b>8</b>
1. Estresse hídrico vegetal.....	8
2. Trocas gasosas.....	10
3. Fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	13
4. Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e Enzimas Antioxidantes .....	14
5. Carboidratos Foliaves .....	17
6. Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA).....	19
7. Alcaloides.....	20
8. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (Near-Infrared Spectroscopy – NIRS) .....	21
8.1. <i>Reflectância Foliar</i> .....	23
9. Família Annonaceae Juss.....	24
10. Gênero <i>Annona</i> L. ....	26
11. <i>Annona crassiflora</i> Mart. ....	26
12. <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H. Rainer. ....	29
Referências.....	32
<b>CAPÍTULO 2: IMPACTO DA SECA E ALAGAMENTO NA PRODUÇÃO DE ALCALOIDES DE <i>Annona crassiflora</i> Mart.....</b>	<b>51</b>
Resumo .....	51
1. Introdução.....	52
2. Material e Métodos.....	53
3. Resultados .....	57
4. Discussão .....	62
5. Conclusão .....	67
Referências .....	68
<b>CAPÍTULO 3. PRODUÇÃO DE ALCALOIDES, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E REFLECTÂNCIA FOLIAR EM PLANTAS DE <i>Annona emarginata</i> (SCHLTDL.) H. RAINER SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO .....</b>	<b>78</b>

<b>Resumo .....</b>	<b>78</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>79</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>81</b>
<b>3. Resultados .....</b>	<b>87</b>
<b>4. Discussão .....</b>	<b>97</b>
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>102</b>
<b>Referências .....</b>	<b>103</b>
<b>6. Material Suplementar .....</b>	<b>110</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>115</b>

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. 122P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

**Resumo** - A água juntamente com a temperatura é o recurso determinante para um bom funcionamento e crescimento das plantas, ao mesmo tempo em que é considerada também como um recurso limitante, uma vez que constitui a matriz e o meio onde ocorrem a maioria dos processos bioquímicos essenciais à vida dos vegetais e, para suprir as necessidades intrínsecas ao metabolismo vegetal, as plantas precisam renovar a água que foi transferida para a atmosfera, com o intuito de manter a turgescência das suas folhas e raízes. No entanto, nas últimas décadas o estresse hídrico causado pelas mudanças climáticas, especialmente no regime de chuvas, impactaram a produção vegetal em muitas áreas, afetando a segurança alimentar em ambientes vulneráveis, além disso, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> observada na atmosfera nos últimos 150 anos se tornou uma preocupação recorrente, pois, embora tenha sido acompanhado por uma maior assimilação e armazenamento de CO<sub>2</sub> em ecossistemas terrestres, há evidências de que este aumento provoca altas temperaturas e intensifica os efeitos causados pelo estresse hídrico, principalmente seca, limitando a capacidade de futuros ecossistemas terrestres de se protegerem das emissões atmosféricas. O estresse hídrico que pode ser conceituado na falta ou excesso de água no solo para a demanda, interfere em processos do metabolismo primário como afeta também o metabolismo especializado das plantas, alterando a produção de compostos químicos que apresentam propriedades funcionais diversificadas com inúmeras atividades biológicas envolvidas nas relações entre as plantas e o ambiente auxiliando na adaptação a mudanças climáticas, além de oferecer proteção a ataque de patógenos e herbívoros, alelopatia, assim como atração de polinizadores. Nesse sentido, para as espécies da família Annonaceae que apresentam produção de diversos metabólitos especializados de interesse, como os alcaloides e que pode ser afetada nos diferentes estádios fenológicos e por variações ambientais como radiação solar, temperatura e umidade se torna indispensável obter informações que visem avaliar o desempenho desse grupo de plantas, em especial *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. em condições diversas de disponibilidade hídrica, para que haja entendimento do efeito da seca como do alagamento na produção e adaptação mediante estresse hídrico.

**Palavras-chave:** Annonaceae; fotossíntese; enzimas antioxidantes; açúcares foliares; alcaloides.

HONÓRIO, A. B. M. **EFFECTS OF WATER STRESS ON PHOTOSYNTHETIC METABOLISM AND ALKALOID PRODUCTION IN *Annona crassiflora* Mart. E *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer** 2022. 123P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

**Abstract** - Water, together with temperature, is the determining resource for the proper functioning and growth of plants, while it is also considered a limiting resource, as it constitutes the matrix and medium where most of the essential biochemical processes occur. plant life and, to meet the intrinsic needs of plant metabolism, plants need to renew the water that has been transferred to the atmosphere in order to maintain the turgidity of their leaves and roots. However, in recent decades, water restrictions caused by climate change, especially in the rainfall regime, have impacted plant production in several areas, affecting food security in vulnerable environments, in addition to the increase in CO<sub>2</sub> concentration observed in the atmosphere in recent years 150 years has become a recurring concern, as, although it has been accompanied by greater assimilation and storage of CO<sub>2</sub> in terrestrial ecosystems, there is evidence that this increase causes high temperatures and intensifies the effects caused by water stress, especially drought, limiting the ability of future terrestrial ecosystems to protect themselves from atmospheric emissions. Water stress, which can be conceptualized in the lack or excess of water in the soil for the demand, interferes in the processes of primary metabolism, as well as affects the specialized metabolism of plants, altering the production of chemical compounds that have diversified functional properties with numerous properties. biological. activities involved. in the relationships between plants and the environment, helping to adapt to climate change, in addition to offering protection against attack by pathogens and herbivores, allelopathy, in addition to attracting pollinators. In this sense, for species of the Annonaceae family that produce several specialized metabolites of interest, such as alkaloids, which can be affected at different phenological stages and by environmental variations such as solar radiation, temperature and humidity, it is essential to obtain information aimed at evaluating the performance of this species. group of plants, especially *Annona crassiflora* Mart. and *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. under different conditions of water availability, so that there is an understanding of the effect of drought and floods on production and adaptation under water stress.

**Key words:** Annonaceae, photosynthesis, antioxidant enzymes, leaf sugars, alkaloids.

## **Introdução Geral**

A água é um recurso de extrema importância para o desenvolvimento vegetal, considerada constituinte fundamental das plantas, pois compreende cerca de 90 a 95 % da biomassa verde, além de ter papel significativo na manutenção funcional de células, tecidos e organismos (CAMPOS et al., 2021; CHAVARRIA & SANTOS, 2012). Juntamente com a temperatura, a água é o recurso determinante para um bom funcionamento e crescimento das plantas, ao mesmo tempo em que pode ser considerada também como um recurso limitante, uma vez que constitui a matriz e o meio onde ocorrem a maioria dos processos bioquímicos essenciais à vida dos vegetais (LEHNINGER, 2006) e, para suprir as necessidades intrínsecas ao metabolismo vegetal, as plantas precisam renovar a água que foi transferida para a atmosfera, com o intuito de manter a turgescência das suas folhas e raízes (JÚNIOR et al., 2019).

No entanto, nas últimas décadas as restrições hídricas causadas pelas mudanças nas condições climáticas, especialmente no regime de chuvas, tendem a impactar a produção vegetal em muitas áreas, afetando a segurança alimentar em ambientes vulneráveis, como regiões áridas e semi-áridas, criando um nível de incerteza para sistemas de produção vegetal (DARYANTO et al., 2017) e mesmo em países com índice elevado de pluviosidade, como o Brasil, o padrão de precipitação vem mudando, indicando tendência de aumento na intensidade de chuvas mas, diminuição na frequência e como consequência podem ocorrer períodos de seca que variam de semanas a alguns meses, causando perda significativa no rendimento das plantas (CHEN & DAI, 2017; OYA et al., 2004).

Deste modo, a instabilidade hídrica é um desafio global que afeta todos os sistemas de produção de plantas em países desenvolvidos e em desenvolvimento estimando-se piora caso as mudanças climáticas persistam (ELLIOTT et al., 2018). Além disso, o aumento da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) observada na atmosfera nos últimos 150 anos é uma preocupação recorrente, pois, embora tenha sido acompanhado por uma maior assimilação e armazenamento de CO<sub>2</sub> em ecossistemas terrestres, há evidências de que este aumento provoca altas temperaturas e intensifica os efeitos causados pelo estresse hídrico, principalmente seca, limitando a capacidade de futuros ecossistemas terrestres de se protegerem das emissões atmosféricas (AINSWORTH et al., 2020; STUART CHAPIN & DÍAZ, 2020).

O estresse hídrico pode ser caracterizado na falta ou excesso de água no solo para a demanda, levando à redução da absorção de água e alguns nutrientes pelo sistema radicular e causando prejuízos, uma vez que, todas as plantas precisam de água para a germinação das sementes, desenvolvimento e produção, além de interferir em processos do metabolismo primário como a fotossíntese, que por sua vez produz energia necessária ao desenvolvimento vegetal, expansão radicular, como também, influência nos produtos gerados pelo metabolismo especializado pois, altera a produção dos compostos químicos gerados que apresentam propriedades funcionais diversificadas com inúmeras atividades biológicas envolvidas nas relações entre as plantas e o ambiente e, em casos extremos, o estresse hídrico pode levar a morte da planta (MARENCO & LOPES, 2009; LAURSEN; MØLLER; BASSARD, 2015).

Nesse sentido, as espécies da família Annonaceae apresentam produção de diversos metabólitos especializados de interesse, como os alcaloides (SURESH; SHIVAKUMAR; SHIVAKUMAR, 2012) que pode ser afetada nos diferentes estádios fenológicos e por variações ambientais como radiação solar, temperatura e umidade (CARVALHO et al., 2007; YANG et al., 2018), portanto, torna-se indispensável informações que visem avaliar o desempenho desse grupo de plantas em condições diversas de disponibilidade hídrica, para que haja entendimento pleno do efeito da seca como do alagamento na produção e adaptação mediante estresse hídrico e, compreender as respostas fisiológicas se torna fator essencial para avaliar e minimizar os problemas no desenvolvimento de plantas (CAMPOS et al., 2021).

Diante do exposto busca-se nesse estudo compreender como o estresse hídrico, tanto por seca como alagamento, afeta o metabolismo primário como também a produção de alcaloides em duas espécies importantes da família Annonaceae, *Annona crassiflora* MART. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

## **Objetivos**

### **Objetivo Geral**

Avaliar como o estresse hídrico impacta plantas jovens de *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

### **Objetivos Específicos**

Avaliar como o estresse hídrico impacta a produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart.

Avaliar como a seca e o alagamento afetam o metabolismo primário e a produção de alcaloides e se, através da espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) é possível detectar os sinais do estresse hídrico em plantas jovens de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

## Referências

- AINSWORTH, E. A.; LEMONNIER, P.; WEDOW, J. M. The influence of rising tropospheric carbon dioxide and ozone on plant productivity. **Plant Biology**, v. 22, n. S1, p. 5–11, 2020.
- CAMPOS, Anna Júlia de Moraes; SANTOS, Sarah Medeiros; NACARATH, Inaia Rhavene Freire Fagundes. Estresse hídrico em plantas : uma revisão. Water stress in plants : a review Estrés hídrico en las plantas : una revisión. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. 1–7, 2021.
- CARVALHO, Ana Paula F. *et al.* Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 1, p. 19–27, 2007.
- CHAVARRIA, Geraldo; DOS SANTOS, Henrique Pessoa. Plant Water Relations: Absorption, Transport and Control Mechanisms. **Advances in Selected Plant Physiology Aspects**, 2012.
- CHEN, Di; DAI, Aiguo. Dependence of estimated precipitation frequency and intensity on data resolution. **Climate Dynamics**, v. 50, n. 9–10, p. 3625–3647, 2017.
- DARYANTO, Stefani; WANG, Lixin; JACINTHE, Pierre André. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. **Agricultural Water Management**, v. 179, n. May, p. 18–33, 2017.
- ELLIOTT, Joshua *et al.* Characterizing agricultural impacts of recent large-scale US droughts and changing technology and management. **Agricultural Systems**, v. 159, n. October 2016, p. 275–281, 2018.
- JÚNIOR, George do Nascimento Araújo *et al.* Estresse hídrico em plantas forrageiras : Uma revisão Water stress in forage plants : A review Estrés hídrico en plantas forrajeras : Una revisión. **Pubvet Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 13, p. 1–10, 2019.
- LAURSEN, Tomas; MØLLER, Birger Lindberg; BASSARD, Jean Etienne. Plasticity of specialized metabolism as mediated by dynamic metabolons. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 1, p. 20–32, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.11.002>>.
- MARENCO, Ricardo A.; LOPES, Nei Fernandes. *Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. [S.l.: s.n.], 2009.
- OYA, Tetsuji *et al.* Drought tolerance characteristics of Brazilian soybean cultivars - Evaluation and characterization of drought tolerance of various Brazilian soybean cultivars in the field. **Plant Production Science**, v. 7, n. 2, p. 129–137, 2004.
- STUART CHAPIN, F.; DÍAZ, Sandra. Interactions between changing climate and biodiversity: Shaping humanity's future. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 12, p. 6295–6296, 2020.
- SURESH, H. M.; SHIVAKUMAR, B; SHIVAKUMAR, S. I. Phytochemical Potential of *Annona reticulata* Roots for Antiproliferative Activity on Human Cancer Cell Lines. **Advances in Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 1–4, 2012.

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

## **CAPÍTULO 1: Revisão - AVANÇOS SOBRE O IMPACTO DO ESTRESSE HÍDRICO NO METABOLISMO PRIMÁRIO, PRODUÇÃO DE ALCALOIDES E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO EM ANNONACEAE.**

A água é um recurso indispensável para o desenvolvimento vegetal, atuando em vários processos fisiológicos, dentre eles a fotossíntese, além de ser um fator restritivo para as plantas.

Nas últimas décadas, a instabilidade hídrica, causada em grande parte pelas mudanças climáticas, fez com que eventos de estresse hídrico se tornassem mais frequentes em diversas regiões do planeta, incluindo áreas de ocorrência e produção de espécies de Anonas.

Portanto, os efeitos causados pelo excesso como também a falta de água em processos biológicos, bioquímicos e reflectância foliar das plantas serão abordados nesse capítulo, com ênfase para *Annona crassiflora* Mart. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

### **1. Estresse hídrico vegetal**

As plantas são um componente integral no movimento da água do solo para a atmosfera, o qual é referido como “continuum” solo-planta (STEUDLE, 2001). Logo, o estado hídrico da planta é a soma da interação de vários fatores atmosféricos determinada pela umidade, vento, temperatura, a disponibilidade de água no solo, capacidade da raiz em absorver água e transportá-la para a folha e a resposta do estômato regulando a transpiração podem influenciar o estado hídrico da planta (SINGH; VAN DAM; FEDDES, 2006).

Como a frequência e intensidade de alguns eventos extremos de tempo e clima aumentaram em consequência do aquecimento global, ondas de calor, por exemplo, tornaram-se mais constantes e intensas devido às emissões antropogênicas de gases do efeito estufa na maioria das regiões terrestres, com isso, a intensidade da seca tem aumentado em territórios brasileiros, assim como na Patagônia, Mediterrâneo, grande parte da África e nordeste da China (IPCC, 2019).

O estresse que é a alteração das condições fisiológicas causadas por fatores que tendem a alterar o equilíbrio (HU et al., 2006) é provocado a partir de estímulos bióticos (quando atuam patógenos, alelopatia e herbivoria) ou abióticos (quando há alteração das condições ambientais a que o organismo se encontra aclimatado), que em geral, acontecem de forma brusca ou intensa e desencadeiam alterações no funcionamento

natural dos organismos, sendo assim, o estresse hídrico pode ser gerado pela falta ou excesso de água para as plantas (PALACIOS et al., 2013).

A seca é um dos estresses abióticos mais expressivos, podendo limitar a produtividade dos ecossistemas (LARCHER, 2000). A assimilação fotossintética faz parte dos processos fisiológicos que podem ser afetados pela condição de estresse por seca, isso se deve ao fato de que, nessa situação ocorrem variações na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> devido às mudanças na condutância estomática e capacidade fotossintética nas etapas fotoquímica e bioquímica (DITMAROVÁ et al., 2009; RODRIGUES et al., 2017).

Com a restrição no abastecimento de água, os efeitos nos organismos vegetais variam de níveis morfológicos a moleculares, sendo evidentes em todos os estádios fenológicos, isso por que, há uma redução do conteúdo de água dos tecidos vegetais, sendo assim, à medida que os solos ficam secos, as raízes detectam essa mudança e enviam sinais através do xilema para as folhas ocorrendo o fechamento estomático que resulta na redução da perda de água e conseqüentemente diminuição do crescimento foliar como também desenvolvimento da planta (SONI et al., 2017).

Em contrapartida, quando há saturação hídrica do solo, as espécies sensíveis desenvolvem sintomas, os quais resultam principalmente dos distúrbios causados pela hipoxia ou anoxia nas raízes, sendo os mais comuns, aumento da resistência estomática, redução da fotossíntese, alterações na taxa de transpiração, inibição do crescimento, murcha e/ou abscisão foliar entre outros (OLIVEIRA & GUALTIERI, 2017).

Essas alterações se devem ao fato de que, em imediato, há uma rápida diminuição nos níveis de O<sub>2</sub> disponíveis devido a problemas de difusão do oxigênio na água e a aeração deficiente das raízes, levando ao decréscimo de absorção de água pelas plantas (OLIVEIRA & GUALTIERI, 2017). Portanto, o alagamento do solo, causa um ambiente hipóxico que acabará afetando o metabolismo da planta por meio de mudanças nos parâmetros relacionados a fotossíntese, produção de energia e transporte de íons ou moléculas (COSTA et al., 2020; DUMONT e RIVOAL, 2019; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2018).

Ao se analisar o histórico de ocorrência de eventos climáticos extremos no Brasil observou-se que nos últimos 30 anos houve aumento na frequência de chuvas fortes durante o verão e inverno nas regiões Sul e Sudeste. No entanto, vale ressaltar que no ano de 2014 a região Sudeste enfrentou a pior seca dos últimos 80 anos (MARENGO, 2014).

Houve também grandes secas históricas na região Amazônica em 2005 e 2010, porém, nos anos de 2009, 2012 e 2014 ocorreram enchentes na mesma região Amazônica, sendo assim, as incertezas sobre o comportamento futuro do clima são especialmente significativas no que se refere ao que acontecerá com o ciclo hidrológico, principalmente no hemisfério sul (MARENGO, 2014).

O Brasil desponta no panorama mundial quando se analisa a produção e comercialização de espécies frutíferas, dentre elas as do gênero *Annona* que, em determinadas regiões brasileiras como o semiárido e Cerrado, representam umas das mais relevantes alternativas de produção, responsável por empregar mão de obra justamente em regiões com problemas relacionados à seca. Tais condições climáticas produzem estresse às plantas que respondem com uma série de adaptações que incluem além do fechamento estomático, proteção cerosa das folhas, abscisão foliar e sistema radicular profundo. Todavia, mesmo com todas essas adaptações o estresse hídrico promove uma redução na taxa de crescimento vegetativo das plantas (ARRUDA; PASTORE, 2019; LAMEIRA, 2017; PELOSO et al., 2017).

## **2. Trocas gasosas**

Com as intensas mudanças climáticas sofridas nas últimas décadas, condições de seca e alagamento, cada vez mais frequentes, tem alterado diversos parâmetros relacionados a fotossíntese, produção de energia, síntese e transporte de moléculas e íons, diminuindo a produção e longevidade das plantas e em condições de estresse prolongado podem levar a morte dos organismos vegetais (MARTINAZZO et al., 2013).

O volume celular pode ser visto como o maior determinante da atividade metabólica e sobrevivência foliar (SINCLAIR & LUDLOW, 1985). O conteúdo relativo de água na folha, que apresenta forte relação com o volume celular, é uma medida universal utilizada para estimar a quantidade de água na folha (STRABELI et al., 2020) e permite determinar a tolerância das plantas à seca e sua adaptação a ambientes favoráveis (ARNDT; IRAWAN; SANDERS, 2015).

Na literatura é amplamente reconhecido que o status de água na folha interage com a condutância estomática e transpiração, e em situações de estresse hídrico, geralmente por seca, observa-se uma boa correlação entre o potencial hídrico foliar e a condutância que é um dos recursos fisiológicos mais sensíveis às condições de estresse (ARAÚJO & DEMINICIS, 2009).

Nesse sentido, em geral, plantas em ambientes com estresse hídrico, tendem a evitar a perda excessiva de água regulando sua condutância estomática ou pelo menos maximizando a eficiência do uso da água (EUA), que é definida como a absorção de carbono por unidade de água perdida através da transpiração. Assim, a EUA ideal pode variar substancialmente de acordo com as condições ambientais que a planta está inserida (HESCHEL et al., 2002; YAN et al., 2010).

A inibição da fotossíntese em plantas sob condições de estresse hídrico se dá principalmente pela menor taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> devido as mudanças na condutância estomática (YAN et al., 2010). Diferenças específicas de espécies na capacidade de sobreviver a períodos de estresse influenciam na distribuição das mesmas (ENGELBRECHT; KURSAR; TYREE, 2005). A maioria das espécies de Annonaceae exibe naturalmente menor performance fotossintética e maior capacidade em conservação do uso da água (FU et al., 2012), no entanto, Mantoan et al. (2016) observaram que plantas de *Annona emarginata* apresentam equilíbrio entre a transpiração e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> otimizando a eficiência do uso da água, o que resulta em uma possível aclimação fotossintética ao déficit hídrico principalmente.

O fechamento estomático que como consequência reduz a concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) e transpiração ( $E$ ) permite identificar se a fotossíntese está sendo limitada por meio de restrições estomáticas ou por alterações quanto a morfologia dos estômatos e do mesófilo (JÚNIOR et al., 2019; MIELKE et al., 2005). Ao estudarem as alterações fisiológicas no crescimento inicial de *Annona squamosa* L. submetida ao estresse hídrico, Oliveira et al. (2019) observaram em um período de 6 dias de restrição hídrica, o fechamento estomático, como também o decréscimo na taxa de assimilação de carbono ( $A$ ) e transpiração ( $E$ ) e essas respostas rápidas à seca representam menor perda de água e portanto, maiores chances de sobrevivência.

Baron et al. (2014) estudando as trocas gasosas em diferentes espécies de anonáceas observaram que para atemoia (*Annona x atemoia* Mabb.) apesar de não ter sido detectada diferença na taxa de assimilação líquida ( $A$ ) e eficiência de carboxilação aparente ( $A/C_i$ ) houve tendência de diminuição quando estava na casa de vegetação, para espécie *Annona emarginata* morfotipo “araticum-de-terra-fria” as condições de viveiro proporcionaram maior  $A$ , porém a condutância estomática ( $g_s$ ) foi a mesma, sugerindo que a  $g_s$  não foi fator limitante mas sim sua eficiência de carboxilação aparente ( $A/C_i$ ).

Dessa maneira de acordo com a duração e intensidade do estresse hídrico pode haver decréscimo da atividade da rubisco, além da disponibilidade de CO<sub>2</sub> no cloroplasto e eficiência fotoquímica do fotosistema II (PSII) (XU et al., 2009). Se o carbono interno e a condutância estomática decaem simultaneamente, a assimilação é limitada pelos estômatos. Em contraste, se a condutância decresce, mas o carbono interno aumenta ou apresenta-se constante, o decréscimo da assimilação pode ser atribuído a fatores não estomáticos (YAN et al., 2010).

Em plantas submetidas a recuperação após o período de estresse hídrico, o ganho de carbono pode depender tanto do grau de recuperação fotossintética como do grau e velocidade de declínio da fotossíntese no período de estresse hídrico (XU et al., 2009). Um dos motivos pelos quais há interesse em estudar a recuperação reside no fato de que, em plantios ou florestas há flutuações na disponibilidade de água, tanto pela alternância de chuvas e períodos de seca ou como resultado da frequência de irrigação (FLEXAS et al., 2009; SAPETA et al., 2013).

Alguns autores como Flexas et al. (2004), Sofo et al. (2004) e Souza et al. (2004) defendem que as plantas submetidas ao estresse hídrico severo, recuperam somente 40 a 60% da taxa máxima fotossintética no dia após a reidratação, sendo que a recuperação acontece nos dias seguintes, porém, a taxa máxima de fotossíntese nunca se recupera.

Cerqueira et al. (2015) avaliando a fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação, observaram que a taxa de fotossíntese líquida respondeu positivamente a reidratação, embora as plantas não tenham se recuperado totalmente e ao fim de 6 dias as plantas apresentavam uma redução de 45-50% nas taxas fotossintéticas.

Ao analisar as respostas do estresse hídrico no crescimento e fisiologia em plantas de *Jatropha curcas* Sapeta et al. (2013) observaram que após 24 horas os parâmetros de fotossíntese líquida, condutância estomática, taxa de transporte de elétrons e eficiência operacional do fotosistema II apresentaram uma recuperação completa. Há também outros mecanismos que não podem ser descartados, tais como sinais químicos como citocininas ou pH da seiva xilemática (WILKINSON, 2004), sinais elétricos (GRAMS et al., 2007) ou a formação de oclusões estomáticas de natureza desconhecida que persistem por muito tempo após a reidratação (GALLÉ; HALDIMANN; FELLER, 2007).

### 3. Fluorescência da clorofila *a*

Os pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a* e *b* e carotenóides) localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos absorvem energia luminosa que é utilizada no processo fotossintético (CAMPOSTRINI, 2001) e a combinação de avaliação das trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* tem sido usada ao longo dos anos para investigar o efeito não estomático na limitação fotossintética sob estresse hídrico (ENNAHLI & EARL, 2005).

Nas plantas situações de estresse, em geral, leva a uma regulação negativa da capacidade fotossintética, pois reduz o consumo de ATP e NADPH no Ciclo de Calvin o que aumenta a demanda por dissipação de energia dentro do fotossistema II (PSII) além de se observar drenos alternativos de elétrons, e, o principal local de dano ao centro de reação do PSII é a proteína D1 que é facilmente danificado pelo excesso de luz (WILHELM & SELMAR, 2011).

Sob condições desfavoráveis as plantas desviam a luz absorvida para outros processos, como dissipação térmica, para proteger o aparato fotossintético (DEMMIG-ADAMS et al., 1996), ou seja, converte a energia luminosa absorvida dentro do PSII em calor. Ademais, como a energia luminosa absorvida pelo aparato fotossintético é muito maior do que a energia necessária para a fixação de CO<sub>2</sub>, grandes quantidades de energia devem ser dissipadas por meio de reações não fotoquímicas e reoxidação efetiva de NADPH + H<sup>+</sup>, por exemplo, através da fotorrespiração e do ciclo da xantofila.

Devido a ação desta maquinaria protetora, a capacidade de redução excedente não resulta em um aumento significativo na quantidade de radicais produzidos pela reação de Mehler, ou seja, a transferência de elétrons reduzindo o oxigênio molecular que leva à produção de radicais superóxidos. Em contraste com as condições normais em plantas que estão sob estresse, o fluxo energético é marcadamente modificado, assim uma parte muito maior de energia deve ser dissipada (SELMAR & KLEINWÄCHTER, 2013a).

O “quenching” não fotoquímico (NPQ) da energia de excitação representa um importante mecanismo de fotoproteção nas plantas. Uma grande proporção de energia é dissipada pelo NPQ que converte a energia luminosa absorvida em calor (NILKENS et al., 2010). Este processo é regulado por mudanças conformacionais induzidas pela luz nas proteínas PsbS e como consequência, a energia de excitação efetivamente é

transferida da clorofila para a zeaxantina, resultando em uma massiva dissipação de energia (SELMAR & KLEINWÄCHTER, 2013a).

O rendimento quântico máximo (FV/FM) é amplamente usado para detectar perturbações induzidas pelo estresse no aparato fotossintético (BAKER & ROSENQVIST, 2004; MAXWELL & JOHNSON, 2000) e o aumento dessa variável serve como um indicativo de que houve dano ao centro de reação do PSII, pois o efeito do estresse causa inibição do ciclo de reparo do PSII em especial a proteína D1 (NISHIYAMA; ALLAKHVERDIEV; MURATA, 2006).

O  $\phi$ PSII corresponde a fração de energia que é fotoquimicamente convertida no PSII, constituindo o rendimento quântico total de todos os processos de perda que é dividido em dois componentes distintos, o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II ( $\phi$ NO) que reflete a fração de energia que é passivamente dissipada na forma de calor e fluorescência, principalmente devido aos centros de reação do PSII fechados, e o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II ( $\phi$ NPQ) que corresponde a fração de energia dissipada na forma de calor por meio dos mecanismos de fotoproteção (NPQ) (KLUGHAMMER & SCHREIBER, 2008).

Ao estudar o ajuste fotossintético após a reidratação em plantas de *Annona emarginata*, Mantoan et al. (2016) observaram que não houve danos ao PSII, pois o excesso de energia luminosa foi dissipada na forma de calor (*D*) e com isso apresentaram baixos valores de *Ex* (energia não utilizada na etapa fotoquímica), o que pode indicar uma possível aclimatação fotossintética ao déficit hídrico e estudando também a fluorescência da clorofila *a* em *A. emarginata* Mantoan et al. (2015) submetidas ao estresse hídrico e posterior reidratação, puderam ver que essa espécie possui um aparato fotoquímico que é tolerante ao estresse hídrico por seca pois não houve diferença na taxa de transmissão de elétrons, além do que o NPQ foi maior que o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II ( $\phi$ NO) em todos os tratamentos.

#### **4. Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e Enzimas Antioxidantes**

O oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) surgiu na atmosfera terrestre há bilhões de anos e sua presença permite que os organismos aeróbios o utilizem como aceptor de elétron terminal durante a respiração celular, proporcionando um rendimento de energia superior ao da fermentação, e, embora necessário para o desempenho das funções celulares, o O<sub>2</sub> leva

inevitavelmente à formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) em eventos metabólicos que ocorrem, principalmente, nas mitocôndrias, peroxissomos e cloroplastos (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

As plantas desenvolveram mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos capazes de neutralizar a citotoxicidade das ERO, sendo assim, o sistema celular de defesa antioxidante começa com uma cascata enzimática, mas também pode envolver componentes não enzimáticos, dentre os quais se destacam o ascorbato (AsA), glutathiona (GSH),  $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -tocoferol (BARBOSA et al., 2014). Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011). No entanto, em situações de estresses bióticos e/ou abióticos o equilíbrio entre a produção e a neutralização pode ser alterado, aumentando significativamente os níveis intracelulares de ERO, ocasionando o estresse oxidativo (APEL & HIRT, 2004).

As ERO podem ser referidas como subprodutos de reações redox que se apresentam tanto como radicais livres, como na forma molecular de um não radical (BARBOSA et al., 2014; KOVALCHUK, 2010). Essas moléculas podem ser geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), ou de constantes adições de elétrons ao  $\text{O}_2$  reduzindo-o ao radical aniônico superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), radical hidroperoxila ( $\text{HO}_2^{\bullet}$ ) ou peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e radical hidroxila ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) (D'AUTRÉAUX & TOLEDANO, 2007).

O radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) é moderadamente reativo e considerado instável por possuir número ímpar de elétrons (13) na última camada eletrônica e, reduções univalentes subsequentes convertem o  $\text{O}_2$  em  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , em um processo chamado de redução tetravalente do oxigênio, uma vez protonado, o  $\text{O}_2^{\bullet-}$  forma o radical peroxila ( $\text{HO}_2^{\bullet}$ ), uma ERO mais reativa que o próprio  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . O  $\text{H}_2\text{O}_2$  é uma ERO moderadamente reativa e cujo pequeno tamanho lhe permite atravessar membranas celulares e migrar em diferentes compartimentos, dessa forma, difunde os danos e também atua como mensageiro da condição de estresse, além de ser capaz de inativar enzimas por oxidação de seus grupos tiol (BARBOSA et al., 2014; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

O radical  $\text{OH}^{\bullet}$  é considerado a mais oxidante dentre as ERO e sua alta reatividade resulta em reações rápidas e inespecíficas com distintos substratos, podendo potencialmente reagir com todos os tipos de moléculas biológicas, que pode ocasionar

modificações nas bases nitrogenadas levando à inativação ou mutação do DNA; desnaturar proteínas além de causar danos a moléculas de carboidratos e retirar átomos de hidrogênio de grupos metileno de ácidos graxos poli-insaturados, dando início à peroxidação lipídica (BARREIROS et al., 2006; BLOKHINA et al., 2003).

Os processos metabólicos dependentes do oxigênio, como a respiração aeróbica, fotossíntese e fotorrespiração, levam à produção de ERO em mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (BARBOSA et al., 2014). A geração peroxissomal de  $H_2O_2$  pode servir como um mecanismo de transferência de um sinal proveniente da fotossíntese para o resto da célula (FOYER et al., 2009). Nas mitocôndrias, cloroplastos e citosol, o  $H_2O_2$  é gerado a partir da dismutação do  $O_2^{\cdot-}$  pela superóxido dismutase (SOD). A  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos nos glioxissomos também gera  $H_2O_2$  (BARBOSA et al., 2014).

Para evitar os efeitos deletérios causados pelas ERO, as plantas podem acionar mecanismos de defesa através de um arcabouço enzimático antioxidante que estão presentes em diversos compartimentos celulares conferindo um estado de homeostase redox no sistema vegetal (BARBOSA et al., 2014). Nesse ponto, pode-se citar as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD). A SOD faz parte da linha de frente na defesa contra as ERO catalisando a dismutação entre dois radicais  $O_2^{\cdot-}$ , gerando  $H_2O_2$  e  $O_2$ , essa enzima participa então da modulação do nível de  $H_2O_2$  em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (BARBOSA et al., 2014; MITTLER, 2002).

A CAT é uma das principais enzimas na eliminação do  $H_2O_2$  gerado durante a fotorrespiração e a  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos convertendo duas moléculas de  $H_2O_2$  em água e oxigênio molecular, ademais, a atividade dessa enzima é efetiva principalmente em concentrações relativamente altas de  $H_2O_2$  por isso são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de ERO, especialmente em condições de estresse severo (DUBEY, 2011).

As peroxidases (POD) existem em muitas isoformas e estão envolvidas em uma série de processos celulares, sendo assim algumas PODs são constitutivamente expressas, enquanto outras são induzidas por estresses ambientais, como constatado em estudos em que baixas atividades mostram sintomas de estresse menos graves e as altas, sintomas mais graves. Isso ocorre porque elas utilizam o  $H_2O_2$  como oxidante e compostos de natureza fenólica como doadores de elétrons, sendo assim o  $H_2O_2$  formado pela ação da

SOD também pode ser eliminado pelas PODs, além da CAT (LOCATO, 2010; BARBOSA et al., 2014).

Cabe salientar que mediante situações de estresse hídrico em solos saturados há uma maior atividade da CAT o que parece ser uma tentativa de redução do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> garantindo tolerância a esse tipo de estresse, conforme relatos de Møller et al. (2007) e Hossain et al. (2009). Em relação a atividade das enzimas SOD e POD Ghorbanpour & Hatami (2013) observaram incremento significativo em plantas de *Hyoscyamus niger* submetidas a deficiência hídrica e Junior et al. (2017) verificaram aumento significativo na atividade da CAT e SOD em plântulas de *Helianthus annuus* L. submetidas a deficiência hídrica.

### **5. Carboidratos Foliares**

Sob efeito do estresse hídrico, principalmente por restrição hídrica, as plantas tentam manter os potenciais de água das células por meio do aumento da concentração de solutos, fenômeno conhecido como ajuste osmótico (GARCIA ET AL., 2006; KAMELI & LÖSEL, 1996). O ajuste osmótico consiste em capturar ou gerar solutos para aumentar sua concentração levando a maior entrada de água na célula, com isso, o turgor pode ser mantido mesmo em condições anormais de disponibilidade hídrica (SIMONNEAU et al., 2017). E esse acúmulo de solutos, dentre eles, os carboidratos, ocorre devido a reduzida taxa de crescimento, como também a translocação mais lenta de açúcares nas folhas e a hidrólise do amido (KAMELI & LÖSEL, 1996).

Quando os vegetais são expostos a diferentes estresses ambientais, como por exemplo a seca, há a síntese e acúmulo de solutos compatíveis que atuam como osmoprotetores, que são compatíveis com a função celular e servem para estabilizar proteínas e estruturas celulares e/ou manter a turgescência das células por meio de um equilíbrio na pressão osmótica, sem comprometer processos celulares (ALI; BANO; FAZAL, 2017). Em situações de alagamento o baixo percentual de O<sub>2</sub> pode ser associado a mudanças na expressão de genes relacionados ao metabolismo de carboidratos o que pode levar a redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes, diminuindo seu crescimento e suas atividades metabólicas, que passam a demandar menor quantidade de carboidratos, acumulando os fotoassimilados nas folhas (SILVEIRA et al., 2015).

Os vegetais apresentam diferentes tipos de carboidratos e/ou açúcares de reserva, solúveis e insolúveis, e a predominância destes nos tecidos, bem como a sua estrutura química, variam entre espécies, órgãos, tecidos e células, além de variar ao longo do dia e das diferentes estações do ano (LEWIS, 1984). Esses carboidratos são oriundos da redução do carbono na etapa bioquímica da fotossíntese e possuem diversas atribuições no metabolismo vegetal, dentre elas o armazenamento e translocação; e a proteção contra condições adversas, como a restrição ou excedente hídrico, alta salinidade e temperaturas extremas (NUGRAHA et al., 2019).

Dentre os açúcares, o amido é a principal forma de armazenamento de carboidratos nas plantas (ZEEMAN et al., 2010). Comumente associado a órgãos de armazenamento como raízes, tubérculos, rizomas, caules e sementes, o amido é sintetizado a partir da sacarose transportada, no entanto, em células fotossintéticas ele é sintetizado majoritariamente usando uma fração do carbono fixado em CO<sub>2</sub> e temporariamente armazenado nos cloroplastos. Este amido então pode ser chamado de “transitório”, pois é sintetizado e degradado em uma janela de 24 horas, contudo, a síntese e a degradação podem ocorrer em diferentes momentos do dia, e o amido pode servir a diferentes funções de acordo com o tipo de célula do qual é derivado e as condições ambientais externas (SIMONNEAU et al., 2017).

Cabe salientar que em condições de estresses abióticos, como por exemplo estresse hídrico por falta de água, as plantas geralmente remobilizam o amido para fornecer energia e carbono quando a fotossíntese pode ser potencialmente limitada. Com isso geralmente há uma diminuição do teor desse carboidrato nas folhas (SIMONNEAU et al., 2017).

Além do amido, carboidratos solúveis podem ser acumulados mediante a situações de estresse por falta de água, como por exemplo, sacarose e frutose (FILHO & CARVALHO, 2020). A sacarose é sintetizada nas folhas (fonte) sendo posteriormente translocada para outras partes da planta (dreno), constituída de dois monossacarídeos, D-glicose e D-frutose, que estão ligados entre si através dos seus carbonos anoméricos, e em plantas submetidas a estresse hídrico severo, geralmente há o acúmulo de frutose-2,6-bisfosfato, trioses-P, glicose, frutose (PIMENTEL, 2004).

Em algumas situações como as observadas por Wang et al. (2013) em *Thellungiella halophila* submetidas a altos níveis de salinidade e Walter et al. (2015)

estudando os mecanismos de adaptação das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> observaram aumento no teor de amido. Mutava et al. (2015) verificaram que em *Glycine max* a seca incrementou a concentração de frutose, glicose e sacarose, e o alagamento incrementou a concentração de glicose corroborando com o fato de que o estresse abiótico e nesse caso, seca ou alagamento, há aumento na concentração de carboidratos.

## **6. Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA)**

Seca, inundação, altas e baixas temperaturas, salinidade e disponibilidade de nutrientes são fatores abióticos que têm grande impacto sob as plantas além de responderem por mais de 50% da redução na média de rendimentos potenciais na produção global de alimentos. E, embora a irrigação possa ser usada como uma estratégia para diminuir os efeitos do estresse hídrico, os recursos hídricos continuam diminuindo com o passar do tempo (MUTAVA et al., 2015).

Para monitorar os efeitos da disponibilidade hídrica nas plantas, geralmente trabalhos que analisam esse tipo de estresse utilizam do Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA) como indicativo de conservação do metabolismo celular (JONES, 2007). Como o balanço hídrico é controlado pela transpiração foliar e captação de água do solo, plantas que apresentam tolerância ao estresse hídrico podem recuperar o CRA quando o regime hídrico com disponibilidade de água é restabelecido (GRAÇA et al., 2010).

Em condições de alta temperatura, Wahid & Close (2007) observaram que plantas de *Saccharum officinarum* apresentam redução no CRA, no entanto, 72 horas após o início do déficit hídrico, as plantas estressadas apresentavam valores de CRA semelhantes ao das plantas submetidas a capacidade de campo, sugerindo então que parte do teor de água é utilizado para minimizar os danos devido à conjugação de fatores (alta temperatura e déficit hídrico).

A mesma situação foi observada por Graça et al. (2010) ao estudarem os parâmetros fisiológicos de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico na cv CTC15 que detectou uma redução mínima na quantidade de água disponível para absorção. Como a água é o principal doador de elétrons para o PSII, por meio do processo de oxidação, uma diminuição no CRA pode diminuir o potencial eletroquímico da ATP sintase e do fotossistema I, comprometendo a formação de ATP e NADPH respectivamente e, portanto, afetando negativamente o aparato fotossintético (LAWLOR e UPRETY, 1993).

## 7. Alcaloides

Os processos de fotossíntese, formação de paredes celulares e formação de metabólitos especializados são exemplos de capacidades biossintéticas especializadas que exigem alto grau de compartimentalização estrutural e funcional exercida pelas plantas permitindo que as mesmas sobrevivam e se adaptem ao ambiente respondendo a estresses bióticos e abióticos. Nesse contexto, 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).

Estes metabólitos podem ser classificados em três grandes grupos, sendo eles os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados e estima-se que o número de metabólitos especializados ultrapasse 200.000, desses, o número de terpenos identificados supera 30.000, seguido pelos alcaloides que superam 20.000 substâncias identificadas (MATSUURA et al., 2018). Muitos fatores, entre eles, bióticos como a presença de patógenos e, abióticos como variações ambientais influenciados principalmente pela disponibilidade hídrica, radiação solar e mudanças de temperatura podem afetar a produção destes metabólitos especializados (YANG et al., 2018).

De acordo com Leboeuf et al. (1980) os alcaloides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e principais constituintes químicos das espécies pertencentes à família Annonaceae. Uma importante característica das espécies desta família é a presença destacada dos alcaloides do tipo isoquinolínico, o que a faz ser considerada o centro de distribuição dos mesmos (NAZARO, 2013).

A origem biossintética dos alcaloides isoquinolínicos se inicia pela rota do ácido chiquímico a partir de carboidratos. O ácido chiquímico é responsável pela formação dos aminoácidos aromáticos como a *L*-fenilalanina e *L*-tirosina, sendo esses os precursores dos alcaloides isoquinolínicos (RINALDI, 2007). Todos os alcaloides isoquinolínicos são derivados dos benzilisoquinolínicos e a biossíntese dos alcaloides benzilisoquinolínicos (ABI) pode ser agrupada em três intervalos: a) a produção do precursor central de todos os ABI, *S*-norcoclaurina, a partir de duas moléculas de *L*-tirosina, b) a transformação de *S*-norcoclaurina em *S*-reticulina, principal intermediário para diversificação da rota e c)

as rotas de diversificação que dão origem aos diferentes tipos de ABI (DE-LA-CRUZ CHACÓN; GONZÁLEZ-ESQUINCA; RILEY-SALDAÑA, 2012).

As raízes são o principal órgão de produção de alcaloides em plantas do gênero *Annona* (DE-LA-CRUZ CHACÓN; GONZÁLEZ-ESQUINCA; RILEY-SALDAÑA 2012) e o acúmulo de alcaloides em determinadas situações, dentre elas, estresse hídrico e pode indicar um ajuste osmótico celular, devido ao acúmulo precursores, como por exemplo, aminoácidos, carboidratos e açúcares, como amido e trealose (CORTINA & CULIÁÑEZ-MACIÀ, 2005).

Esse acúmulo de alcaloides foi observado por Castro-Moreno et al. (2013) em plantas de *Annona lutescens* ao acumular liriodenina, um dos principais alcaloides da família Annonaceae, em raízes dessa espécie no final da estação seca, Ghorbanpour & Hatami (2013) com *Hyoscyamus niger*; Kleinwächter et al. (2015) com tomilho (*Thymus vulgaris*); Kleinwächter & Selmar, (2015) no estudo de especiarias e plantas medicinais; e Liu et al. (2017) com *Catharanthus roseus*.

Em plantas expostas a situações de estresse geralmente se acumulam concentrações mais elevadas de metabólitos especializados. Isso acontece devido ao fato de as condições de restrição hídrica levarem ao fechamento estomático e à absorção reduzida de CO<sub>2</sub>. Como consequência, há diminuição considerável no consumo de NADPH + H<sup>+</sup> para a fixação do CO<sub>2</sub> via ciclo de Calvin, o que gera uma oferta excessiva desse equivalente redutor, bem como acúmulo. 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 2013a,b).

## **8. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (Near-Infrared Spectroscopy – NIRS)**

A espectroscopia no infravermelho próximo (Near-Infrared Spectroscopy – NIRS) consiste em uma técnica analítica para detecção de substâncias que permitem inferir indiretamente alguns compostos químicos de forma rápida e não destrutiva (FERRARESI et al., 2012). Nesse contexto o infravermelho, que é uma radiação não ionizante, abrange os comprimentos de onda que vão desde 700 nm até 1 mm, e, como seu espectro é muito amplo, geralmente é dividido em seções menores.

Existem diferentes sub-divisões do espectro infravermelho, as mais comuns separam seu espectro em cinco (a) e em três (b) partes:

- a) NIR (infravermelho próximo - *Near-infrared*), que vai de 700 à 1400 nm, SWIR (infravermelho de ondas curtas - *Short-wavelength infrared*) de 1400 à 3000 nm, MWIR (infravermelho de ondas médias - *Mid-wavelength infrared*) de 3000 à 8000 nm, LWIR (infravermelho de ondas longas - *Long-wavelength infrared*) de 8000 à 15000 nm e FIR (infravermelho distante - *Far infrared*) de 15000 à 100000 nm (BYRNES, 2009).
- b) NIR (infravermelho próximo - *Near-infrared*) de 700 à 2500 nm, MIR (infravermelho médio - *Middle-infrared*) de 2500 à 5000 nm e FIR (infravermelho distante - *Far infrared*) de 5000 à 100000 nm (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

Em relação a divisão em três partes na faixa do espectro NIR de 780 à 2500 nm, ocorre a absorção de ligações do tipo C-H, O-H e N-H (BURNS & CIURZACK, 2001) e estes tipos de ligações estão muito presentes em materiais orgânicos como os de origem vegetal.

A base teórica dessa técnica vem da física das cores que se relaciona com a natureza de ligação das moléculas de uma amostra. Estas ligações vibram constantemente, causando estiramento e compressão dos átomos, de modo que estes tenham então movimento de onda e a frequência dessas ondas é específica e dependente dos elementos envolvidos (VAN KEMPEN & JACKSON, 1996). Portanto, quando a luz incide em um alvo, parte desta será absorvida e parte será refletida, logo, os comprimentos de onda que vibram na mesma frequência que as ligações serão absorvidos por estas e a energia então é usada para intensificar as vibrações gerando calor, por outro lado, os comprimentos de onda que não vibram na mesma frequência serão refletidos (NASSAU, 2001).

Sendo assim, a técnica NIRS se baseia em iluminar uma amostra com luz padrão conhecida no infravermelho próximo, e com um sensor captar a luz que foi refletida. Logo, a absorção de luz é então medida pela diferença entre a quantidade de luz incidida e a refletida (VAN KEMPEN & JACKSON, 1996). Com isto se realiza uma representação gráfica da reflectância em faixas de comprimento de ondas estreitas e adjacentes, chamada caracterização espectral de um alvo (FONSECA; ROSA; FONTANA, 2002).

Essa técnica possui ampla aplicação em diversas áreas, assim como na botânica, onde se destaca por poder analisar qualquer material de origem vegetal, seja sementes, frutos, flores e folhas tanto frescas como secas e preparadas (FERNANDEZ et al., 1994). Lohr et al. (2017) utilizaram também a espectroscopia no infravermelho próximo para prever reservas de carboidratos em folhas de *Dendranthema grandiflora* Tzvelev e *Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey. Ribera-Fonseca et al. (2019) utilizando dessa técnica, encontraram relações significativas e positivas com os parâmetros do estado da água da planta em plantas de mirtilo (cv. Legacy), incluindo o potencial de água da folha do meio-dia ( $\Psi_{MD}$ ) e condutância estomática ( $g_s$ ). Em arbustos que sofrem de estresse hídrico por seca Borges et al. (2015) conseguiram determinar o conteúdo de alcaloides totais e nitrogênio em *Nicotiana tabacum* utilizando também a técnica NIRS.

### 8. 1. Reflectância Foliar

Quando há incidência de radiação em uma folha, diversas interações acontecem, uma parte dessa radiação é refletida diretamente pela superfície foliar e o restante penetra na folha, onde vão ocorrer 3 tipos de interações: parte será transmitida, outra parte será absorvida pelos compostos químicos da folha e parte será refletida (Figura 1), estas são chamadas propriedades ópticas das folhas (MAHLEIN, 2016).

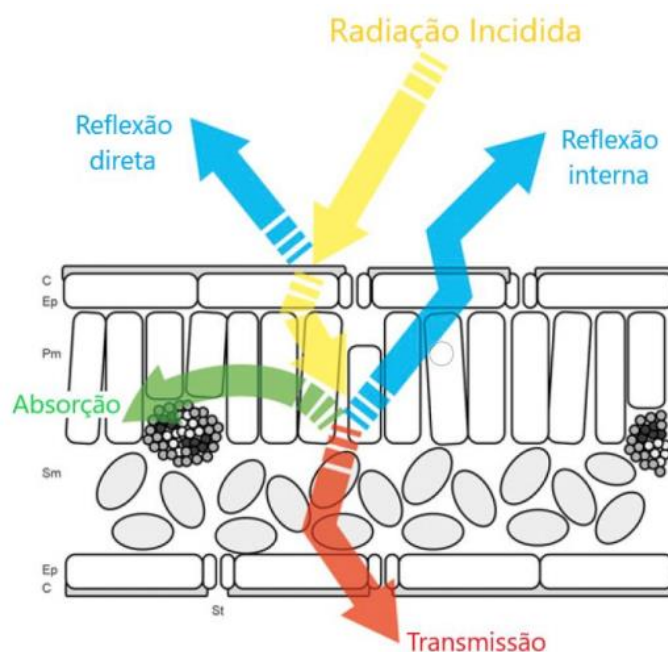


Figura 1: Interações da radiação luminosa com a folha. Fonte: Adaptado de Mahlein (2016).

A reflexão foliar então é a soma da reflexão direta com a reflexão interna e geralmente as regiões do espectro eletromagnético mais utilizados para análise da reflectância foliar são a do visível (VIS, 400 – 700 nm) e infravermelho próximo (NIR, 701 – 2500 nm), isso porque, nessas regiões a energia eletromagnética interage com pigmentos foliares, responsáveis por absorver o espectro luminoso e, também, com estruturas foliares (OLIVEIRA & SANTANA, 2019), além disso a composição química (pigmentos, água, açúcares, lignina e aminoácidos) influencia também a reflectância foliar (MAHLEIN, 2016).

Dessa forma, a faixa do visível (VIS, 400 – 700 nm) é influenciada principalmente pelos pigmentos foliares, a reflectância no infravermelho próximo (NIR, 701 – 1100 nm) depende da estrutura da folha, processos de espalhamento interno e da absorção de água, e a, reflectância no infravermelho de ondas curtas (1100 – 2500 nm) é influenciada pela composição dos produtos químicos da folha e da água (CARTER e KNAPP, 2001; MAHLEIN, 2016).

Há também algumas faixas curtas e comprimentos de ondas específicos que podem ser associados a características e compostos da folha, nesse caso, Curran (1989), mostra que o comprimento de onda de 930 nm está associado a óleos, 1400 nm pode ser associado a água, 1510 nm a proteínas e nitrogênio e os comprimentos de onda na faixa de 990 nm, 1200 nm, 1450 nm, 1530 – 1540 nm, 1580 e 1690 nm estão correlacionados com a concentração de amido.

## **9. Família Annonaceae Juss**

A família Annonaceae Juss. (1789) pertence ao clado das magnoliídeas, grupo basal das Angiospermas com cerca de 129 gêneros e 2100 espécies (JUDD et al. 2009; STEVENS, 2016). O gênero *Annona* pertence a subfamília Annonoideae, que foi referida como o “clado do ramo longo”, representando cerca de 60% da diversidade de espécies da família (CHATROU et al., 2014).

Por ser uma família evolutiva antiga, as Annonaceae apresentam características florais que dividem parcialmente com outros representantes da ordem Magnoliales e outras angiospermas basais. Normalmente as espécies de anonáceas possuem hábito arbóreo, ocasionalmente, arbustos, subarbustos ou lianas (JUDD et al., 2009).

Possuem tricomas simples, escamiformes ou estrelados; folhas alternas, simples, dísticas, sem estípulas, margem inteira e nervação penínérvea. Inflorescência

determinada, às vezes reduzida à uma única flor terminal ou axilar; flores geralmente bissexuais e radiais (JUDD et al., 2009). Em geral, a floração das espécies de *annona* começam quando a planta tem de três a quatro anos, embora ocasionalmente possa acontecer de forma antecipada dependendo das condições ambientais (PINTO et al., 2005).

A maior parte das espécies de *Annonas* estão localizadas nos trópicos, onde crescem em baixas altitudes, sendo que, o maior número de gêneros ocorre nas Américas, predominantemente na América do Sul (PINTO et al., 2005). Possui uma riqueza de espécies principalmente na região amazônica e mata atlântica (JUDD et al., 2009).

No Brasil foram registrados 29 gêneros, compreendendo cerca de 260 espécies (BARROSO et al., 1978). A partir de estudos feitos por Mass et al. (2001), na região centro-leste do Brasil foi possível observar um total de dezenove gêneros e 153 espécies pertencentes a família *Annonaceae*, compreendendo também os estados de Minas Gerais, Goiás, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, São Paulo, Tocantins e o Distrito Federal.

Os gêneros *Rollinia* e *Annona* possuem maior importância comercial, sendo as espécies pertencentes ao gênero *Rollinia* as que apresentam grande perspectiva de uso como porta – enxerto para outras anonáceas e o gênero *Annona* agrupa as espécies mais cultivadas, separadas em 5 grupos: “Guanabani” – grupo das graviolas; “Bilae-florae” – anonas com ceras; “Acutiflorae” – pétalas afiladas; “Annonellae” – anonas anãs e “Attæ” – anonas comuns, sendo este último o grupo com mais espécies cultivadas (PINTO et al., 2005)

*Annonaceae* é conhecida principalmente por seus frutos comestíveis, sendo que, quatro espécies têm grande importância econômica, pinha (*A. squamosa* L.), graviola (*A. muricata* L.), cherimoya (*A. cherimola* Mill.) e atemóia (*A. squamosa* x *A. cherimola*), devido a seus frutos comestíveis e *Cananga odorata*, que produz substâncias aromáticas para perfumaria, além do que, a família também é reconhecida como fonte de substâncias ativas com potentes atividades farmacológicas e pesticidas, algumas das quais se espera que sejam novos medicamentos anticâncer em um futuro breve (LIAW et al., 2016; FERREIRA et al., 2019). Outras espécies fornecem madeira própria para carpintaria e raízes utilizadas como cortiça (*A. glabra* L., *A. crassiflora* Mart.).

## **10. Gênero *Annona* L.**

Dentre os gêneros da família Annonaceae Juss., o gênero *Annona* pode ser considerado economicamente o mais importante devido as suas propriedades alimentícias e medicinais (AL-GHAZZAWI, 2019; ANAYA-ESPARZA et al., 2020; CHOWDHURY et al., 2021; LEITE et al., 2020; NUGRAHA et al., 2019) e farmacológicas como fonte de matéria-prima de perfumaria e cosméticos (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014) sendo difundida nas Índias Ocidentais, Américas, África, Ilhas do Pacífico e Sudeste Asiático (NUGRAHA et al., 2019). Este gênero inclui aproximadamente 162 espécies (AL-GHAZZAWI, 2019; CHOWDHURY et al., 2021) de arbusto, árvore, liana e subarbusto e no Brasil, são encontradas 79 espécies, das quais 24 são endêmicas (FLORA do BRASIL, 2020).

Derivado da palavra em Latim “colheita anual”, o gênero *Annona* é a fonte mais importante de frutos comestíveis da família Annonaceae tendo, conseqüentemente, grande destaque econômico (PINO, 2010). As espécies do gênero apresentam características morfológicas como flores terminais ou axilares, solitárias ou com poucas inflorescências, geralmente apresentam 2 brácteas por flor, sépalas conectadas ou livres, frequentemente espessas, carnudas e encontradas nas cores brancas, amarelas, alaranjadas ou vermelhas, ausência de pétalas e frutos sincárpicos com presença de muitos carpelos (MAAS et al., 2001; VINAY; SAKTHIVEL; PRIYANKA, 2017).

Ao analisar os parâmetros econômicos, no Brasil, as espécies do gênero *Annona* são cultivadas para comercialização dos frutos, além de apresentarem compostos químicos com propriedades medicinais atribuídas a substâncias provenientes do metabolismo especializado, como as acetogeninas, alcaloides, flavonoides e terpenoides, sendo que os principais efeitos medicinais registrados são suas ações antiparasitárias, antiespasmódica, sedativas, analgésicas, hipotensores, sendo utilizados nos tratamentos de diarreias e úlceras, e como vermífugos (BARBALHO et al., 2012; QUÍLEZ et al., 2018).

## **11. *Annona crassiflora* Mart.**

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades mundiais, abrigando grande número de espécies de plantas com potencial medicinal (Silva et al., 2018). Dentre os diversos biomas espalhados pelo território brasileiro, o Cerrado apresenta um cenário exuberante de diversidade biológica, não apenas pela influência dos biomas circundantes

(Amazônia, Caatinga, Mata Atlântica e Pantanal) bem como pelas diversas culturas das populações que o habitam (FERNANDES & SCAPIN, 2020; VILA VERDE; PAULA; CANEIRO, 2003).

As plantas do Cerrado são adaptadas a condições distintas, longos períodos de seca, outrora, períodos de alta precipitação, grande ocorrência de incêndios florestais e alta incidência de radiação ultravioleta. Desta forma, há a necessidade das plantas utilizarem mecanismos de defesa para se protegerem de agentes biológicos, físicos e químicos (REIS & SCHMIELE, 2019).

*Annona crassiflora* Mart. popularmente conhecida como “araticum-do-cerrado”, “araticum”, “marolo”, “bruto”, “cabeça-de-negro”, “cascudo”, “panã”, “pinha-do-cerrado” e “pasmada” (ARRUDA & PASTORE, 2019; ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2017) é uma espécie arbórea nativa do Cerrado que ocorre nas fitofisionomias “cerradão” e “campos rupestres”, e está espalhada pelo bioma abrangendo todos os estados (COTA et al., 2011).

A espécie *A. crassiflora* possui árvores de porte médio, com alturas que variam entre 4 e 8 metros e diâmetro de copa de aproximadamente 4 metros (COTA et al., 2011; LUZIA & JORGE, 2013). O tronco é geralmente tortuoso, com diâmetro de 20-30 cm, coberto com uma casca áspera e muito grossa fornecendo resistência a ação do fogo (LORENZI, 2002). As folhas são crasso-membranosas com aspecto áspero e ferruginoso quando jovens e coriáceo quando maduras. Além disso, as folhas são hipostomáticas, com tricomas simples (CORRÊA; CHAGAS; PIMENTEL, 2007).

As flores são hermafroditas com protoginia autocompatível, ou seja, o gineceu (órgão feminino) amadurece primeiro que o androceu (órgão masculino) (CAVALCANTE et al., 2009). No período noturno, as flores aquecem atingindo até 10°C acima da temperatura do ar e assim liberam um cheiro que atrai insetos, principalmente besouros (ALMEIDA et al., 2018). O florescimento acontece entre os meses de outubro e novembro, e a frutificação começa em dezembro, com maturação do fruto concentrada de fevereiro a abril (SILVA; GOMES; MARTINS, 2009)

O fruto atinge total desenvolvimento 140 dias após a antese (SILVA; VILAS BOAS; XISTO, 2013), em média uma árvore produz de 5 a 20 frutos, podendo atingir até 40 frutos em alguns casos e podem ser consumidos em forma de sucos, cremes e geleias, além do que são ricos em vitaminas, cálcio, ferro e fósforo. A cada 100g de sua polpa há um valor energético de 52 calorias, 0,4 g de proteínas, 52 mg de cálcio, 2,3 mg de ferro, 24 mg de fósforo, 21 mg de vitamina C, 50 mg de vitamina A, 0,04 mg de vitamina B1 e

0,07 mg de vitamina B2, e se comparada com outras espécies cultivadas, como é o caso da banana (6,4 mg) e maçã (5,9 mg), o conteúdo de vitamina C contida na polpa de seus frutos apresentem teores mais elevados (LUZIA & JORGE, 2013), também mostraram ser boa fonte de potássio, magnésio e zinco, contribuindo com aproximadamente 10,82, 7,95 e 5,40% da ingestão diária recomendada (ARRUDA & PASTORE, 2019).

Ao avaliar as propriedades antioxidantes da espécie Roesler et al. (2006) constataram que extratos etanólicos de sementes e cascas de *A. crassiflora* apresentaram excelente atividade antioxidante quando comparados com outros vegetais. Já a fração lipídica extraídas das sementes em estudo feito por Luzia & Jorge (2013), apresentaram rendimento de 28,84 % e o alto teor de lipídeos totais pode ser economicamente atraente para extração industrial, especialmente quando comparadas com outras oleaginosas como, milho e soja, que têm teor lipídico de 3,1-5,7 % e 18-20% respectivamente (O'BRIEN, 2006).

O óleo de *A. crassiflora* é composto principalmente por ácidos graxos insaturados (87,34%), entre eles 51,21% monoinsaturados e 36,13% poliinsaturados (PRADO et al., 2020). Entre os ácidos graxos monoinsaturados, o ácido oleico representa 50,76%, semelhante ao óleo de canola (51-70%) e azeite (55-83%) (CODEX ALIMENTARIUS, 2001). Em pesquisa feita por Lopez-Huertas (2010) foi observado que a substituição da dieta de gorduras saturadas para ácido oleico, reduziu o teor de lipídeos no sangue, especialmente colesterol LDL e triglicérides.

Silva et al. (2020) relatam que o principal ácido graxo poliinsaturado representativo foi o ácido linoléico (35,20%), o que também é de grande importância visto que, é um ácido graxo essencial obtido pela alimentação e não produzido pelo corpo humano e devido ao estresse diário que o ser humano está sujeito e a variação nos hábitos alimentares, é interessante o consumo de alimentos ricos em ácido linoléico, uma vez que, estes possuem efeito protetor na saúde cardiovascular, formação de tecido nervoso e visual (MODESTO et al., 2002).

Na medicina popular, a infusão de folhas e sementes em pó pode ser usada para combater diarreia e induzir o ciclo menstrual (ALMEIDA et al., 1994). Além de potenciais usos medicinais Omena et al. (2007) relataram atividades dos extratos das raízes ( $LD_{50} = 0,71 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ ) e da madeira ( $LD_{50} = 8,94 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ ) contra atividade de larvas de *Aedes aegypti*, sugerindo possível uso como larvicida natural.

Vale ressaltar que as espécies da família Annonaceae se destacam pela produção de metabólitos especializados de grande interesse farmacológico e dentro desse contexto,

os alcaloides perfazem um grupo importante com múltiplas atividades biológicas, existindo inclusive, vários medicamentos disponíveis no mercado a partir de alcaloides obtidos de cascas de frutos, folhas e raízes (DEBNATH et al., 2018), e na espécie *A. crassiflora* foram encontrados vários alcaloides também no caule, folhas e cascas dos frutos (ARRUDA & PASTORE, 2019). Além disso, a literatura defende que em determinadas situações de estresse, como por exemplo o hídrico, a produção destes metabólitos pode ser potencializada, e como a espécie é nativa do bioma Cerrado com longos períodos de estiagem, torna essencial verificar a produção do metabolismo especializado nessas condições.

## **12. *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.**

A espécie arbórea *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, nativa da América do Sul, ocorre em diversos países como Bolívia, Peru, Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil, com destaque para as regiões brasileiras Norte, Centro-Oeste, Sul e Sudeste, além de ser presente em regiões de Cerrado, em vegetações do tipo Cerrado (*lato sensu*), bioma com longos períodos de seca (PRADO et al., 2020), e principalmente Mata Atlântica, bioma com maior disponibilidade hídrica e com vegetações do tipo Floresta Ombrófila e Restinga (MAAS; LOBÃO; RAINER, 2015).

As folhas lanceoladas e lisas com bastante brilho na parte superior, com 2,5 cm de largura na parte central e 6 cm de comprimento, variando com o vigor, flores em formato de hélice, perfumadas, de coloração amarelada e com florescimento entre os meses de outubro a novembro, os frutos são codiformes e lisos com grande variação no tamanho, apresentando em média 40 centímetros de diâmetro, 3 centímetros de altura com cerca de 40 sementes cada e a maturação dos mesmos geralmente ocorre no mês de fevereiro (TOKUNAGA, 2000).

Popularmente conhecida como dois morfotipos araticum de terra-fria e araticum mirim (MIMI et al., 2021) a espécie passou por reclassificação, dessa forma Rainer (2007) propôs alteração taxonômica passando a espécie do gênero *Rollinia* para o gênero *Annona* Linn, fazendo com que o araticum de terra-fria e o araticum mirim anteriormente classificados como *Rollinia emarginata* Schltdl. passassem a ser classificados como *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, é relatado ainda que que o araticum de terra-fria tem ocorrência natural em locais com altitude elevada, cerca de 950 metros acima do nível do mar, em contrapartida, o araticum mirim apresenta ocorrência natural próximo a

cursos de rio apresentando adaptações a temperatura e umidade elevadas (NETO et al., 2006).

Apesar de serem classificadas como a mesma espécie, produtores relatam diferenças entre os dois morfotipos, no campo pode-se notar diferenças na morfologia, coloração das flores, tamanho das folhas e cheiro exalado pelas plantas (MIMI et al., 2021). Em relação as diferenças fisiológicas observadas, há aquelas relacionadas a respostas tanto na expressão enzimática quanto nas trocas gasosas, adaptação dos solos submetidas a diferentes disponibilidades hídricas como também, compatibilidade entre copa e porta-enxerto (BARON et al., 2014, 2018).

No que diz respeito ao uso como porta-enxerto, a espécie *A. emarginata* se destaca como uma das mais usadas para atemoia (*Annona x atemoya* Mabb..) e são observadas diferenças na copa e tempo de produção, sendo que o araticum de terra-fria induz ao maior vigor da copa (NETO et al. , 2006), em contrapartida, o araticum mirim induz nanismo à copa (BARON et al., 2017) , o que pode ser considerado benéfico sob o ponto de vista de manejo em campo, apresentando florescimento precoce com aumento da produtividade (PRASSINOS et al., 2009).

Ainda em relação a porta-enxertos, a copa da atemoia possui grande área foliar e sob condições de temperatura elevada e baixa umidade relativa do ar, apresenta altas taxas de transpiração. Ao ser enxertada em araticum-mirim o suprimento de água é inadequado, o que reduz seu crescimento e sobrevivência a campo. O mesmo se verifica em atemoia enxertada em araticum-de-terra-fria em altitudes próximas a 600m, avaliada durante 4 anos no campo, apresentando desenvolvimento inadequado. Assim, o araticum-mirim é mais adaptado a condições de temperaturas e umidade relativa do ar mais elevadas e provavelmente não se apresenta adaptado para condições de clima frio. Neste caso, outra espécie deverá ser indicada como porta-enxerto (KAVATI, 2013). Corroborando com o exposto acima, sob deficiência hídrica a interação entre porta-enxerto e copa pode se tornar mais significativa pois, as diferenças na capacidade do sistema radicular dos porta-enxertos em absorver água pode ser responsável pelas variações no grau de tolerância à seca da cultivar copa (SOUZA; SOARES; REGINA, 2001).

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

diclorometano das flores de *A. emarginata* contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* (DOLAB et al., 2018). Além do que Campos et al. (2014) conseguiram identificar onze substâncias a partir do óleo essencial das folhas, principalmente (E) - cariofileno (29,29%), (Z) -cariofileno (16,86%),  $\gamma$ -muuroleno (7,54%),  $\alpha$ -pineno (13,86%), e triciclono (10,04%).

Nesse contexto as espécies da família Annonaceae além de apresentar riqueza na produção de metabólitos especializados com diversas funções biológicas e com isso desperta grande interesse ecológico e farmacológico, são ricas também em substâncias produzidas pelo metabolismo primário como por exemplo, carboidratos que são fontes de energia. No entanto, estão localizadas em regiões com grande instabilidade hídrica e, para tanto, torna-se indispensável entender quais são as adaptações fisiológicas e bioquímicas das espécies da família, em especial *Annona crassiflora* e *Annona emarginata*, bem como utilizar de técnicas menos invasivas, como por exemplo a Espectroscopia no Infravermelho Próximo (Near-Infrared Spectroscopy – NIRS) para detectar as alterações do conteúdo de água, uma vez que plantas submetidas a diferentes condições de estresse hídrico apresentam maior produção de metabólitos especializados, como também acúmulo de carboidratos, o que podem indicar possibilidades de adaptação a condições ambientais adversas.

## Referências

- AGHAJANLOU, Farhad et al. Rangeland management and ecological adaptation analysis model for *Astragalus curvirostris* Boiss. **Horticulturae**, v. 7, n. 4, 2021.
- AHMED, F et al. Waterlogging Tolerance of Crops : Breeding , Mechanism of Tolerance , Molecular Approaches , and Future Prospects. v. 2013, 2013.
- AL-GHAZZAWI, Adel M. Anti-cancer activity of new benzyl isoquinoline alkaloid from Saudi plant *Annona squamosa*. **BMC Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 1–6, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13065-019-0536-4>>.
- ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat V. **Tropical Ecology**, v. 45, n. 2, p. 315–325, 2001.
- ALI, Farman; BANO, Asghari; FAZAL, Aliya. Recent methods of drought stress tolerance in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 82, n. 3, p. 363–375, 2017.
- ALMEIDA, Edivaldo B De et al. Short - distance pollen dispersal in a protogynous Annonaceae tree species from the Brazilian Cerrado. **Plant Systematics and Evolution**, v. 304, n. 9, p. 1091–1099, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00606-018-1534-z>>.
- ANAYA-ESPARZA, Luis M. et al. Annonas: Underutilized species as a potential source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 138, n. September, 2020.
- APEL, Klaus; HIRT, Heribert. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373–399, 2004.
- ARAÚJO, Saulo Alberto do Carmo; DEMINICIS, Bruno Borges. Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 4849, n. 4, p. 463–472, 2009.
- ARNDT, Stefan K.; IRAWAN, Andi; SANDERS, Gregor J. Apoplastic water fraction and rehydration techniques introduce significant errors in measurements of relative water content and osmotic potential in plant leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 155, n. 4, p. 355–368, 2015.
- ARRUDA, Henrique Silvano; PASTORE, Glauca Maria. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of nutrients and bioactive compounds for food and non-food purposes: A comprehensive review. **Food Research International**, v. 123, n. March, p. 450–480, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.05.011>>.
- ARRUDA, Henrique Silvano; PEREIRA, Gustavo Araujo; PASTORE, Glauca Maria. Oligosaccharide profile in Brazilian Cerrado fruit araticum (*Annona crassiflora* Mart.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 278–283, 2017.
- ASHRAF, M.; ARFAN, M. Gas exchange characteristics and water relations in two cultivars of *Hibiscus esculentus* under waterlogging. **Biologia Plantarum**, v. 49, n. 3, p. 459–462, 2005.
- ASNER, Gregory P. et al. Taxonomy and remote sensing of leaf mass per area (LMA) in humid tropical forests. **Ecological Applications**, v. 21, n. 1, p. 85–98, 2011.
- ASNER, Gregory P.; MARTIN, Roberta E. Spectral and chemical analysis of tropical

forests: Scaling from leaf to canopy levels. **Remote Sensing of Environment**, v. 112, n. 10, p. 3958–3970, 2008.

AZHAR, A. et al. Evaluating sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) photosynthetic performance in waterlogged conditions: utilizing pulse-amplitude-modulated (PAM) fluorometry as a waterlogging stress indicator. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 19, n. 1, p. 37–42, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.05.004>>.

AZIZI, S.; TABARI, M.; STRIKER, G. G. Growth, physiology, and leaf ion concentration responses to long-term flooding with fresh or saline water of *Populus euphratica*. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 229–236, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.004>>.

BAKER, Neil R; ROSENQVIST, Eva. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies : an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607–1621, 2004.

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

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

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

BARON, Daniel et al. Leaf gas exchanges responses of atemoya scion grafted onto *Annona rootstocks*. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 30, n. 3, p. 203–213, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40626-018-0115-4>>.

BARON, DANIEL et al. IS *Annona emarginata* CAPABLE OF ACCUMULATE ESSENTIAL HEAVY METALS WITHOUT DAMAGES IN THE METABOLISM? **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 1–9, 2017.

BARREIROS, André L.B.S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.

BECKER, Richard A.; CHAMBERS, John M. Auditing of Data Analyses. **SIAM Journal on Scientific and Statistical Computing**, v. 9, n. 4, p. 747–760, 1988.

BILGER, Wolfgang; BJÖRKMAN, Olle. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. **Photosynthesis Research**, v. 25, n. 3, p. 173–185, 1990.

BLOKHINA, Olga; VIROLAINEN, Eija; FAGERSTEDT, Kurt V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. **Annals of Botany**, v. 91, p. 179–194, 2003.

BOLLIG, Christine; FELLER, Urs. Impacts of drought stress on water relations and carbon assimilation in grassland species at different altitudes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 188, p. 212–220, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2014.02.034>>.

- BORGES, Amaury et al. ANÁLISIS DE ALCALOIDES TOTALES COMO NICOTINA Y NITRÓGENO TOTAL EN TABACO NEGRO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO (NIRS). **CUBA TABACO: ciencia y Técnica**, v. 16, n. 2, p. 9–16, 2015.
- BRADFORD, Marion M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, p. 248–254, 1976.
- CALDAS, Juliana. Sustentabilidade Águas do Cerrado: questão estratégica para o País. Manejo racional dos recursos hídricos é preocupação da pesquisa agropecuária uma vez que Cerrado é origem de grandes bacias hidrográficas. p. 9–11, 2014.
- CAMPOS, Felipe Giroto et al. Characterization of the chemical composition of the essential oils from *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer “terra-fria” and *Annona squamosa* L. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 202–208, 2014.
- CAMPOSTRINI, E. FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA a: CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS E APLICAÇÕES Related papers FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA a: CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS E APLICAÇÕES PRÁTICAS Eliemar Campostrini. **Academia: Accelerating the world’s research**, p. 1–35, 2001.
- CARTER, Gregory A.; KNAPP, Alan K. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 4, p. 677–684, 2001.
- CASTRO-MORENO, Marisol et al. Influence of seasonal variation on the phenology and liriodenine content of *Annona lutescens* (Annonaceae). **Journal of Plant Research**, v. 126, n. 4, p. 529–537, 2013.
- CAVALCANTE, Tadeu Robson Melo et al. Polinização e formação de frutos em araticum. **Bragantia**, v. 68, n. 1, p. 13–21, 2009.
- CERQUEIRA, Reginaldo Conceição et al. Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p. 211–217, 2015.
- CHATROU, Lars Willem et al. Annonaceae substitution rates: a codon model perspective. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 108–117, 2014.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, n. 4, p. 551–560, 2009.
- CHEN, Chung-Yi et al. Review on pharmacological activities of liriodenine. v. 8, n. 13, p. 364–371, 2014. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/AJPP>>.
- CHOWDHURY, Shadman Sakib et al. Screening of antidiabetic and antioxidant potential along with phytochemicals of *Annona* genus: a review. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 1, 2021.
- CINTRA, Pedro Henrique Nascimento et al. Análise de fluorescência da clorofila a em mudas de cafeeiro sob estresse hídrico. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 27006–27014, 2020.
- 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.
- COLOM, Olga Alvarez; POPICH, Susana; BARDON, Alicia. Bioactive constituents from *Rollinia emarginata* (Annonaceae). **Natural Product Research**, v. 21, n. 3, p. 254–259, 2007.
- CORRÊA, Priscila Gomes; CHAGAS, Maria das Graças Santos das; PIMENTEL, Rejane Magalhães de Mendonça. Caracterização morfoanatómica foliar de *Annona crassiflora* Mart. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 816–818, 2007.
- CORTINA, Carolina; CULIÁÑEZ-MACIÀ, Francisco A. Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. **Plant Science**, v. 169, n. 1, p. 75–82, 2005.
- COSTA, Beatriz Gonçalves Pereira et al. Waterlogging effects upon the phenological phases of common bean cultivar BRSMG-Uai. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, 2020.
- COSTA, Emmanoel Vilaça 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.
- COSTA, Janaína Ribeiro. Técnicas Experimentais aplicadas às Ciências Agrárias. **Embrapa Agrobiologia**, p. 54, 2003. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/107882/1/DOC163.pdf>>.
- COSTA, Emmanoel V. et al. A pyrimidine- $\beta$ -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 2, p. 292–294, 2006.
- COTA, L. G. et al. Genetic diversity of *Annona crassiflora* (Annonaceae) in northern Minas Gerais State. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 3, p. 2172–2180, 2011.
- COTROZZI, Lorenzo et al. Using foliar spectral properties to assess the effects of drought on plant water potential. **Tree Physiology**, v. 37, n. 11, p. 1582–1591, 2017.
- COUTURE, John J. et al. Spectroscopic determination of ecologically relevant plant secondary metabolites. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 11, p. 1402–1412, 2016.
- COUTURE, John J.; SERBIN, Shawn P.; TOWNSEND, Philip A. Spectroscopic sensitivity of real-time, rapidly induced phytochemical change in response to damage. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 311–319, 2013.
- COUVREUR, Thomas L.P. et al. Phylogenomics of the major tropical plant family annonaceae using targeted enrichment of nuclear genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. January, 2019.
- CUNHA, Antonio Ribeiro da; MARTINS, Dinival. Climatic classification for the districts of Botucatu and São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 1–11, 2009.
- CURRAN, Paul J. Remote sensing of foliar chemistry. **Remote Sensing of Environment**, v. 30, n. 3, p. 271–278, 1989.
- D'AUTRÉAUX, Benoît; TOLEDANO, Michel B. ROS as signalling molecules: Mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, n. 10, p. 813–824, 2007.

- DE-LA-CRUZ-CHACÓN, Iván et al. Antifungal activity in vitro of *Sapranthus microcarpus* (Annonaceae) against phytopathogens. **Acta Botanica Mexicana**, n. 126, 2019.
- DE-LA-CRUZ CHACÓN, Iván; GONZÁLEZ-ESQUINCA, Alma Rosa; RILEY-SALDAÑA, Christian Anabí. Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos. **Universitas Scientiarum**, v. 17, n. 2, p. 189, 2012.
- DE LA CRUZ CHACÓN, I.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. **Natural Product Research**, v. 26, n. 1, p. 42–49, 2012.
- DE LIMA, Janaína P.S. et al. In Vitro Ateleishmanial and Cytotoxic Activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 692–702, 2012.
- DEBNATH, Bikash et al. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. **Materials Today Chemistry**, v. 9, p. 56–72, 2018. Disponible em: <<https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2018.05.001>>.
- DEBORTOLI, Nathan S. et al. Rainfall patterns in the Southern Amazon: a chronological perspective (1971–2010). **Climatic Change**, v. 132, n. 2, p. 251–264, 2015.
- DEMMIG-ADAMS, Barbara; ADAMS, William W.; et al. **Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. Physiologia Plantarum**. [S.l: s.n.]. , 1996
- DEMMIG-ADAMS, Barbara; ADAMS III, William W.; et al. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. **Physiologia Plantarum**, v. 98, n. 2, p. 253–264, out. 1996.
- DITMAROVÁ, L'Ubica et al. Physiological responses of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings to drought stress. **Tree Physiology**, v. 30, n. 2, p. 205–213, 2009.
- DOLAB, Juan G. et al. The antimicrobial activity of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer and most active isolated compounds against clinically important bacteria. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1–14, 2018.
- DUMONT, Sébastien; RIVOAL, Jean. Consequences of oxidative stress on plant glycolytic and respiratory metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. February, p. 1–16, 2019.
- EGYDIO, Anary Priscila M.; VALVASSOURA, Thaís A.; SANTOS, Déborah Yara A.C. Geographical variation of isoquinoline alkaloids of *Annona crassiflora* Mart. from cerrado, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 46, p. 145–151, 2013. Disponible em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2012.08.006>>.
- EL-HENDAWY, Salah E. et al. Potential of the existing and novel spectral reflectance indices for estimating the leaf water status and grain yield of spring wheat exposed to different irrigation rates. **Agricultural Water Management**, v. 217, n. March, p. 356–373, 2019. Disponible em: <<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.03.006>>.
- ENGELBRECHT, Bettina M.J.; KURSAR, Thomas A.; TYREE, Melvin T. Drought effects on seedling survival in a tropical moist forest. **Trees - Structure and Function**, v. 19, n. 3, p. 312–321, 2005.

- ENNAHLI, Said; EARL, Hugh J. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress. **Crop Science**, v. 45, n. 6, p. 2374–2382, 2005.
- FERNANDES, Rachel de Moura Nunes; SCAPIN, Elisandra. PLANTAS TÍPICAS DO CERRADO BRASILEIRO USADAS COMO INIBIDORES DA ACETILCOLINESTERASE : UMA REVISÃO Typical Brazilian Cerrado Plants Used as Acetylcholinesterase Inhibitors : A. **Revista Desafios**, v. 7, p. 21–31, 2020.
- FERNANDEZ, Olivier et al. Trehalose and plant stress responses: Friend or foe? **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 7, p. 409–417, 2010.
- FERRARESI, Tatiana Maris et al. Espectroscopia de infravermelho na determinação da textura do solo TT - Infrared spectroscopy in determination of soil texture. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 1, p. 1769–1777, 2012.
- FERRAZ, Camila Rodrigues et al. Antidiarrhoeic effect and dereplication of the aqueous extract of *Annona crassiflora* (Annonaceae). **Natural Product Research**, v. 33, n. 4, p. 563–567, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1396589>>.
- FERREIRA, Gisela et al. Propagation of Annonaceous plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 1, p. 1–14, 2019.
- FERREIRA, Maria Das Graças Rodrigues et al. Emergência e crescimento inicial de plântulas de biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill) (Annonaceae) em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 373, 2010.
- FÉVRIER, Anne et al. Acetogenins and other compounds from *Rollinia emarginata* and their antiprotozoal activities. **Planta Medica**, v. 65, n. 1, p. 47–49, 1999.
- FILHO, Hélio Aparecido MATOS; CARVALHO, Renata De Castro Marques. Análise De Carboidratos Solúveis Em Plantas De Arroz. **Científic@ - Multidisciplinary Journal**, v. 7, n. 1, p. 1–8, 2020.
- FLEXAS, Jaume et al. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 8, p. 2361–2377, 2009.
- Flexas, J.; Bota, J.; Cifre, J.; Escalona, J. M.; Galmés, J.; Gulías, J.; Lefi, El K.; Martínez-Cañellas, S. F.; Moreno, M. T.; Ribas-Carbó, M.; Riera, D.; Sampol, B.; Medrano, H. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: Future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. **Annals of Applied Biology**, v. 144, n. 3, p. 273–283, 2004.
- FONSECA, Eliana Lima da; ROSA, Luís Mauro Gonçalves; FONTANA, Denise Cybis. Caracterização espectral de *Paspalum notatum* em diferentes níveis de adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 365–371, 2002.
- FORMAGGIO, Antonio Roberto; SANCHES, Ieda Del´Arco. **Sensoriamento Remoto em agricultura**. [S.l: s.n.], 2017. Disponível em: <[www.ofitexto.com.br](http://www.ofitexto.com.br)>.
- FOYER, Christine H. et al. Photorespiratory metabolism: Genes, mutants, energetics, and redox signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 455–484, 2009.
- FU, Pei Li et al. Stem hydraulic traits and leaf water-stress tolerance are co-ordinated

- with the leaf phenology of angiosperm trees in an Asian tropical dry karst forest. **Annals of Botany**, v. 110, n. 1, p. 189–199, 2012.
- GALLÉ, Alexander; HALDIMANN, Pierre; FELLER, Urs. Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. **New Phytologist**, v. 174, n. 4, p. 799–810, 2007.
- GAMON, j. A.; PEÑUELAS, J.; FIELD, C. B. A Narrow-Waveband Spectral Index That Tracks Diurnal Changes in Photosynthetic Efficiency. **REMOTE SENS. ENVIRON.**, v. 41, p. 35–44, 1992.
- GARCIA, I. S. et al. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian atlantic forest. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n. 2 B, p. 739–745, 2006.
- GENTY, Bernard; BRIANTAIS, Jean Marie; BAKER, Neil R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 990, n. 1, p. 87–92, 1989. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)>.
- GHORBANPOUR, Mansour; HATAMI, Mehrnaz. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid. n. February 2015, 2013.
- GONÇALVES, Mary Ane; LARA, Tadeu Alves; PIMENTA, Lúcia Pinheiro Santos. Oxaporphynic alkaloids of *Annona crassiflora* wood Mart. **Annual meeting of the Brazilian Chemical Society**, n. 1c, p. 2, 2006. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/29ra/resumos/T1251-1.pdf>>.
- GONZÁLEZ-ESQUINCA, Alma Rosa et al. Alkaloids and acetogenins in Annonaceae development: biological considerations. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 01–16, 2014.
- GRAÇA, José Perez da et al. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 3, p. 189–197, 2010.
- GRAMS, Thorsten E.E. et al. Distinct roles of electric and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon re-irrigation in *Zea mays* L. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 1, p. 79–84, 2007.
- HAGEL, Jillian M.; FACCHINI, Peter J. Plant metabolomics: Analytical platforms and integration with functional genomics. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 3, p. 479–497, 2008.
- HASANUZZAMAN, Mirza et al. Drought Stress Responses in Plants, Oxidative Stress, and Antioxidant Defense. **Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance**, n. October 2020, p. 209–250, 2013.
- HEATUH, Robert L.; PACKER, Lester. **Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts**. [S.l: s.n.], 1968
- HENRIQUE, Paôla de Castro et al. Características fisiológicas e anatômicas de plantas de sibipiruna submetidas à hipoxia. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 1–7, 2010.

- HESCHEL, M. Shane et al. Population differentiation and natural selection for water-use efficiency in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 163, n. 6, p. 907–912, 2002.
- HOFFMANN, William A. et al. Tree topkill, not mortality, governs the dynamics of savanna-forest boundaries under frequent fire in central Brazil. **Ecology**, v. 90, n. 5, p. 1326–1337, 2009.
- HOFFMANN, William A.; FRANCO, Augusto C. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: Examples from cerrados and forests of central Brazil. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 3, p. 247–256, 2008.
- HONÓRIO, Ana Beatriz Marques et al. Impact of Drought and Flooding on Alkaloid Production in *Annona crassiflora* Mart. **Horticulturae**, v. 7, n. 10, p. 414, 19 out. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2311-7524/7/10/414>>.
- HOSSAIN, Zahed et al. Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 13, p. 1391–1404, 2009.
- HU, Ya Chen et al. Relationship between water use efficiency (WUE) and production of different wheat genotypes at soil water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 53, n. 2, p. 271–277, 2006.
- HUANG, Bingru; JOHNSON, Jerry W. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. **Annals of Botany**, p. 427–432, 1975.
- IPCC. Climate Change and Land: an IPCC special report. **Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems**, p. 1–864, 2019. Disponível em: <<https://www.ipcc.ch/srccl/>>.
- JALEEL, C. Abdul et al. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, n. 2, p. 150–157, 2007.
- JOHNSON, Richard A.; WICHIERN, Dean W. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. [S.l.: s.n.], 2007.
- JONES, Hamlyn G. Monitoring plant and soil water status: Established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 119–130, 2007.
- JUDD, Walter S. et al. **Sistemática Vegetal - Um Enfoque Filogenético**. **Taxon**. [S.l.: s.n.], 2009
- JUNIOR, Francisco Holanda Nunes et al. Crescimento foliar e atividades das enzimas antioxidativas em plântulas de girassol suplementadas com percolado de aterro sanitário e submetidas a estresse hídrico. v. 12, p. 72–86, 2017.
- JUNIOR, Udson de Oliveira BARROS et al. Biochemical responses of two species of eucalyptus exposed to aluminium toxicity: Oxidative stress and antioxidant metabolism. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 44, n. 1, p. 107–115, 2016.
- JUSTINO, Allisson B. et al. Peel of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of antioxidant compounds with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and glycation

inhibitory activities. **Bioorganic Chemistry**, v. 69, p. 167–182, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.11.001>>.

KALAJI, Hazem M. et al. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 4, 2016.

KAMELI, A.; LÖSEL, D. M. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. **New Phytologist**, v. 132, n. 1, p. 57–62, 1996.

KAR, Manoranjan; MISHRA, Dinabandhu. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315–319, 1976.

KARUPPANAPANDIAN, Thirupathi 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.

KHAN, Taj Malook et al. In vitro and in vivo anti-tumor activity of two gold(III) complexes with isoquinoline derivatives as ligands. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 163, p. 333–343, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.047>>.

KITAJIMA, M.; BUTLER, W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. **BBA - Bioenergetics**, v. 376, n. 1, p. 105–115, 1975.

KLEINEBECKER, Till et al. Methods Prediction of  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  in plant tissues with reflectance spectroscopy. v. 184, n. 3, p. 732–739, 2013.

KLEINWÄCHTER, Maik et al. Moderate drought and signal transducer induced biosynthesis of relevant secondary metabolites in thyme (*Thymus vulgaris*), greater celandine (*Chelidonium majus*) and parsley (*Petroselinum crispum*). **Industrial Crops and Products**, v. 64, n. 1, p. 158–166, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.062>>.

KLEINWÄCHTER, Maik; SELMAR, Dirk. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 121–131, 2015.

KLUGHAMMER, Christof; SCHREIBER, Ulrich. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM Application Notes**, v. 1, n. 1, p. 27–35, 2008. Disponível em: <<http://www.walz.com/>>.

KRASENSKY, Julia; JONAK, Claudia. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. v. 63, n. 4, p. 1593–1608, 2015.

KRINSKI, Diones; MASSAROLI, Angélica; MACHADO, Marilza. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. SPEC. EDITION 1, p. 225–242, 2014.

KUAI, Jie et al. Effect of waterlogging on carbohydrate metabolism and the quality of fiber in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. June, p. 1–14, 2016.

Kuai, J.; Liu, Z.; Wang, Y.; Meng, Y.; Chen, B.; Zhao, W.; Zhou, Z.; Oosterhuis, D. M. Waterlogging during flowering and boll forming stages affects sucrose metabolism in the leaves subtending the cotton boll and its relationship with boll weight. **Plant Science**, v. 223, p. 79–98, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.03.010>>.

LAURSEN, Tomas; MØLLER, Birger Lindberg; BASSARD, Jean Etienne. Plasticity of specialized metabolism as mediated by dynamic metabolons. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 1, p. 20–32, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.11.002>>.

LAWLOR, D. W.; UPRETY, D. C. Effects of Water Stress on Photosynthesis of Crops and the Biochemical Mechanism. **Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity**, p. 419–449, 1993.

LEBOEUF, M. et al. The phytochemistry of the annonaceae. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2783–2813, 1980.

LEE, Jung Eun et al. Land use change exacerbates tropical South American drought by sea surface temperature variability. **Geophysical Research Letters**, v. 38, n. 19, p. 1–6, 2011.

LEITE, Débora O. D. et al. Annona Genus: Traditional Uses, Phytochemistry and Biological Activities. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 33, p. 4056–4091, 2020.

LI, Huawei et al. Generation and scavenging of reactive oxygen species in wheat flag leaves under combined shading and waterlogging stress. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 1, p. 71–81, 2012.

LIGNAN, Coumarins et al. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. p. 435–454, [s.d.].

LIMA, Jorge Enoch Furquim Werneck. Situação e perspectivass sobre as águas do Cerrado. p. 27–29, 2011.

LIU, Binghua et al. Drought stress affects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of Juglans rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 250, n. February, p. 230–235, 2019.

LIU, Kui et al. Young seedlings adapt to stress by retaining starch and retarding growth through ABA-Dependent and -independent pathways in Arabidopsis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 515, n. 4, p. 699–705, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.06.023>>.

LIU, Ying et al. Effects of PEG-induced drought stress on regulation of indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. **Journal of Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 87–91, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1293852>>.

LOHR, Dieter et al. Non-destructive determination of carbohydrate reserves in leaves of ornamental cuttings by near-infrared spectroscopy (NIRS) as a key indicator for quality assessments. **Biosystems Engineering**, v. 158, p. 51–63, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2017.03.005>>.

LOPEZ-HUERTAS, Eduardo. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies.

- Pharmacological Research**, v. 61, n. 3, p. 200–207, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2009.10.007>>.
- LUZIA, Débora M.M.; JORGE, Neuza. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 1, p. 231–235, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.027>>.
- MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. *Annona crassiflora* Mart. **Flora do Brasil**, p. 6–13, 2015.
- MAAS, Paul J.M. et al. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguesia**, v. 52, n. 80, p. 61–94, 2001.
- MAHLEIN, Anne-Katrin. Present and Future Trends in Plant Disease Detection. **Plant Disease**, v. 100, n. 2, p. 241–251, 2016.
- MAIMAITIYIMING, Matthew et al. Early detection of plant physiological responses to different levels of water stress using reflectance spectroscopy. **Remote Sensing**, v. 9, n. 7, p. 1–23, 2017.
- MALIK, Al Imran et al. Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. v. 4, p. 225–236, 2002.
- MALIK, Al Imran; COLMER, Timothy D. Changes in physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. n. November, 2001.
- MANTOAN, Luís Paulo Benetti et al. Photosynthetic adjustment after rehydration in *Annona emarginata*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 6, p. 1–11, 2016.
- MANTOAN, Luís Paulo Benetti; FERREIRA, Gisela; BOARO, Carmen Silvia Fernandes. Chlorophyll a fluorescence in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer plants subjected to water stress and after rehydration. **Scientia Horticulturae**, v. 184, p. 23–30, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.12.019>>.
- MARENCO, José A. O futuro clima do Brasil. **Revista USP**, n. 103, p. 25–32, 2014.
- MARTINAZZO, Emanuela Garbin et al. Photosynthetic activity in japanese plum under water deficit and flooding. **Ciência Rural**, v. 43, n. 1, p. 35–41, 2013.
- MATSUURA, Hélio Nitta et al. Specialized Plant Metabolism Characteristics and Impact on Target Molecule Biotechnological Production. **Molecular Biotechnology**, v. 60, n. 2, p. 169–183, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12033-017-0056-1>>.
- MAXWELL, Kate; JOHNSON, Giles N. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659–668, 2000.
- MIELKE, Marcelo S. et al. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, p. 905–911, 2005.
- MILLER, Gail Lorenz. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.
- MIMI, Carolina Ovile et al. Chemophenetics as a Tool for Distinguishing Morphotypes

of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. **Chemistry and Biodiversity**, v. 18, n. 10, p. 1–14, 2021.

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

MODESTO, Elisa Cristina et al. **Efeitos nutricionais de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados para os ruminantes e alguns benefícios para o homem. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**. [S.l.: s.n.]. , 2002

MESSCHMIDT MORAIS CARDOSO, Leandro De et al. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) from the Brazilian Cerrado: Chemical composition and bioactive compounds. **Fruits**, v. 68, n. 2, p. 121–134, 2013.

MORRIS, Daniel Luzon. Quantitative Determination of Carbohydrates with Dreywood's Anthrone Reagent Author ( s ): Daniel Luzon Morris Published by : American Association for the Advancement of Science Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1675449> Your use of the JSTOR arch. **American Association for the Advancement of Science**, v. 107, n. 2775, p. 254–255, 1948.

MUTAVA, Raymond N. et al. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 86, p. 109–120, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.11.010>>.

NASCIMENTO, Diego Tarley Ferreira; NOVAIS, Giuliano Tostes. Clima do Cerrado : dinâmica atmosférica e características , variabilidades e tipologias climáticas. n. September, 2020.

NELDER, A.; WEDDERBURN, R. W. M. Generalized Linear Models. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 135, n. 3, p. 370–384, 1972.

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

NILKENS, Manuela et al. Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1797, n. 4, p. 466–475, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.01.001>>.

NISHIYAMA, Yoshitaka; ALLAKHVERDIEV, Suleyman I.; MURATA, Norio. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1757, n. 7, p. 742–749, 2006.

NOWAK, Melanie et al. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. **Journal of Applied Botany and Food Quality**. [S.l.: s.n.]. , 2010

NUGRAHA, Ari Satia et al. Anti-infective and anti-cancer properties of the *Annona* species: Their ethnomedicinal uses, alkaloid diversity, and pharmacological activities. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 31, 2019.

OLIVEIRA,; adimir Kleber Morbeck de; GUALTIERI, Sônia Cristina Juliano. Trocas

- gasosas e grau de Tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Paratudo) submetidas a alagamento. p. 181–191, 2017.
- OLIVEIRA, José Dailson Silva de et al. Alterações fisiológicas no crescimento inicial de pinheira (*Annona squamosa* L.) submetida ao stress hídrico. **Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal**, v. 43, n. 1, p. 52–63, 2019.
- OLIVEIRA, Luiz Felipe Ramalho de; SANTANA, Reynaldo Campos. Padrões de reflectância foliar de eucalipto em diferentes dias e períodos do dia. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 1, p. 43–50, 2019.
- OLIVEIRA, Patrícia Chaves de; LAMEIRA, Helton Luís Nina. Physiological behavior of *Annona muricata*, *Dipteryx odorata* and *Copaifera langsdorffii* in response to water and light stress. **Journal of Medicinal Plants Studies JMPS**, v. 5, n. 1, p. 193–199, 2017. Disponível em: <<http://www.plantsjournal.com/archives/2017/vol5issue1/PartC/5-1-32-518.pdf>>.
- PALACIOS, Carmen; SERRA, Daniele; TORRES, Priscila. Papel ecológico dos metabólitos secundários frente ao estresse abiótico. **Botânica no Inverno 2013**, n. April, p. 52–59, 2013. Disponível em: <[https://drive.google.com/file/d/0B4LjGNc\\_jqZ5WnAtR0lZRfMzTWc/edit](https://drive.google.com/file/d/0B4LjGNc_jqZ5WnAtR0lZRfMzTWc/edit)>.
- PALHARES, D; FRANCO, a César; Z Aidan, Lb Penteado. Respostas fotossintéticas de plantas do cerrado nas estações seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. January 2016, p. 213–220, 2010. Disponível em: <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Respostas+fotossinteticas+de+plantas+de+cerrado+nas+esta??es+seca+e+chuvosa#0>>.
- PAROLIN, Pia; WITTMANN, Florian. Struggle in the flood: tree responses to flooding stress in four tropical floodplain systems. **AoB PLANTS**, v. 2010, p. 1–19, 2010.
- PASSOS, Leônidas P. **Métodos Analíticos e Laboratoriais em Fisiologia Vegetal**. [S.l: s.n.], 1996.
- PAUL, Matthew J. et al. Trehalose metabolism and signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 417–441, 2008.
- PEIXOTO, Paulo Henrique Pereira et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137–143, 1999. Disponível em: <<http://www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/pdfs/v11n3p137.pdf>>.
- PELOSO, Anelisa de Figueiredo et al. Photosynthetic limitations in leaves of Arabic coffee promoted by the water deficit. **Coffee Science**, v. 12, n. 3, p. 389–399, 2017.
- PENEREIRO, Júlio César et al. Distribuições de Tendências Sazonais de Temperatura Média e Precipitação nos Biomas Brasileiros. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 33, n. 1, p. 97–113, 2018.
- PEREIRA, Mariana Nunes et al. Stephalagine, an alkaloid with pancreatic lipase inhibitory activity isolated from the fruit peel of *Annona crassiflora* Mart. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 324–329, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.038>>.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, Margarita et al. Are commercial sweet cherry rootstocks adapted to climate change? Short-term waterlogging and CO<sub>2</sub> effects on sweet cherry cv. ‘Burlat’.

**Plant Cell and Environment**, v. 41, n. 5, p. 908–918, 2018.

PETISCO, C. et al. Near-infrared reflectance spectroscopy as a fast and non-destructive tool to predict foliar organic constituents of several woody species. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 6, p. 1823–1833, 2006.

PIETRINI, F. et al. Analysis of chlorophyll fluorescence transients in mandarin leaves during a photo-oxidative cold shock and recovery. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 106, n. 2- 3 SPEC. ISS., p. 189–198, 2005.

PIMENTA, Lúcia Pinheiro Santos et al. In vivo antimalarial efficacy of acetogenins, alkaloids and flavonoids enriched fractions from *Annona crassiflora* Mart. **Natural Product Research**, v. 28, n. 16, p. 1254–1259, 2014.

PIMENTEL, Carlos. **A Relação da Planta com a Água**. [S.l: s.n.], 2004. Disponível em: <[http://files.prof-vanderufersa.webnode.com.br/200000128-9d5559e5ec/Livro A RELACÃO Agua - Solo.pdf](http://files.prof-vanderufersa.webnode.com.br/200000128-9d5559e5ec/Livro_A_RELACAO_Agua_-_Solo.pdf)>.

PINO, Jorge A. *Annona* Fruits. **Handb. Fruit Veg. Flavors**. [S.l: s.n.], 2010. p. 663–680.

PINTO, A. C. de Q. et al. **Annona Species**. [S.l: s.n.], 2005.

PRADO, Livia Garcia et al. Antioxidant, antiproliferative and healing properties of araticum (*Annona crassiflora* Mart.) peel and seed. **Food Research International**, v. 133, n. December 2019, p. 109168, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109168>>.

PRAKASH, J. S.S. et al. Senescence-induced alterations in the photosystem II functions of *Cucumis sativus* cotyledons: Probing of senescence driven alterations of photosystem II by chlorophyll a fluorescence induction O-J-I-P transients. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 40, n. 3, p. 160–168, 2003.

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

QUÍLEZ, A. M. et al. Potential therapeutic applications of the genus *Annona*: Local and traditional uses and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 225, n. June, p. 244–270, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.014>>.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A. S. T. -H. IL. **Ann. Naturhistorisches Museum Wien**, v. 108 B, n. Fries 1959, p. 191–206, 2007.

REIS, Amanda Figueiredo; SCHMIELE, Marcio. Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1–12, 2019.

RIBERA-FONSECA, Alejandra et al. Exploring VIS/NIR reflectance indices for the estimation of water status in highbush blueberry plants grown under full and deficit irrigation. **Scientia Horticulturae**, v. 256, n. June, p. 1–9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108557>>.

RITCHIE, Raymond J. et al. Photosynthetic electron transport rate (ETR) in the littoral herb *Launaea sarmentosa* known as mole crab in Thailand. **Photosynthesis Research**,

v. 150, n. 1–3, p. 327–341, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11120-021-00826-2>>.

RODRIGUES, Angélica Lino et al. WATER DEFICIT ENSURES THE PHOTOCHEMICAL EFFICIENCY OF *Copaifera langsdorffii* Desf1. **Revista Árvore**, v. 41, n. 2, 2017.

RODRIGUES, Jéssica Assaid Martins et al. Hydrological modeling in a basin of the Brazilian Cerrado biome. **Revista Ambiente e Água**, v. 16, p. 2–18, 2021.

ROESLER R, MALTA LG, CARRASCO LC, Pastore G. C : Food Chemistry and Toxicology Evaluation of the Antioxidant Properties of the Brazilian Cerrado Fruit *Annona crassiflora* ( Araticum ). **Food Chemistry and Toxicology**, v. 71, n. 2, p. 102–107, 2006.

SAGLIO, Pierre H. Effect of Path or Sink Anoxia on Sugar Translocation in Roots of Maize Seedlings. **Plant Physiology**, v. 77, n. 2, p. 285–290, 1985.

SANTOS, Humberto Gonçalves dos et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. [S.l: s.n.], 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094003/sistema-brasileiro-de-classificacao-de-solos>>.

SANTOS, Mauro Guida dos et al. The role of inorganic phosphate on photosynthesis recovery of common bean after a mild water deficit. **Plant Science**, v. 170, n. 3, p. 659–664, 2006.

SAPETA, Helena et al. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76–84, 2013.

SATALOFF, Robert T et al. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O<sub>3</sub>. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 907–912, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.03.008>>.

SCHLEY, Thayssa Rabelo et al. GAS EXCHANGE RESPONSE OF *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER UNDER WATER DEFICIT. p. 92–99, 2017.

SCHOLANDER, P. F. et al. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339–346, 1965.

SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research**, v. 10, n. 1–2, p. 51–62, 1986.

SELMAR, Dirk; KLEINWÄCHTER, Maik. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 1, p. 558–566, mar. 2013a.

SELMAR, Dirk; KLEINWÄCHTER, Maik. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: The impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. **Plant and Cell Physiology**, v. 54, n. 6, p. 817–826, 2013b.

SERBIN, Shawn P. et al. Leaf optical properties reflect variation in photosynthetic metabolism and its sensitivity to temperature. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 1, p. 489–502, 2012.

- Serbin, S. P.; Singh, A.; Desai, A. R.; Dubois, S. G.; Jablonski, A. D.; Kingdon, C. C.; Kruger, E. L.; Townsend, P. A. Remotely estimating photosynthetic capacity, and its response to temperature, in vegetation canopies using imaging spectroscopy. **Remote Sensing of Environment**, v. 167, p. 78–87, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rse.2015.05.024>>.
- SETTER, T L et al. Review of wheat improvement for waterlogging tolerance in Australia and India : the importance of anaerobiosis and element toxicities associated with different soils. p. 221–235, 2009.
- SEYMEN, Musa. How does the flooding stress occurring in different harvest times affect the morpho-physiological and biochemical characteristics of spinach? **Scientia Horticulturae**, v. 275, n. September 2020, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109713>>.
- SILVA, Adélia Maria Lima da; GOMES, Ana Cláudia Garcia; MARTINS, Bruno de Andrade. Alterações físico-químicas e estudo enzimático da polpa de araticum (*Annona crassiflora* Mart). **Estudos, vida e saúde**, v. 36, n. 5/6, p. 775–783, 2009.
- SILVA, Andreza Amaral da; GONÇALVES, Roberto Calderon. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. p. 994–1002, 2010.
- SILVA, Edson Pablo da; VILAS BOAS, Eduardo Valerio de Barros; XISTO, Andreia Luiza Pereira Ramos. Characterization and development of marolo (*Annona crassiflora*, Mart.). **Food Science and Technology**, v. 33, n. 4, p. 666–675, 2013.
- SILVA, Jéssyca Santos et al. Effect of Marolo (*Annona crassiflora* Mart . ) Pulp Flour Addition in Food Bars. **Journal of Food Quality**, v. 2018, p. 12, 2018.
- SILVEIRA, Neidiquele Maria et al. Crescimento e partição de carboidratos em plantas de *Sebastiania membranifolia* submetidas ao alagamento. **Cerne**, v. 21, n. 1, p. 67–74, 2015.
- SIMONNEAU, T. et al. Physiological behavior of *Annona muricata*, *Dipteryx odorata* and *Copaifera langsdorffii* in response to water and light stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 62, n. 1, p. 1–8, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.07.001>>.
- SINCLAIR, T.R; LUDLOW, M.M. Who Taught Plants Thermodynamics? The Unfulfilled Potential of Plant Water Potential. **Functional Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 213, 1985.
- SINGH, R.; VAN DAM, J. C.; FEDDES, R. A. Water productivity analysis of irrigated crops in Sirsa district, India. **Agricultural Water Management**, v. 82, n. 3, p. 253–278, 2006.
- SJÖMAN, Henrik; HIRONS, Andrew D.; BASSUK, Nina L. Urban forest resilience through tree selection-Variation in drought tolerance in Acer. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 14, n. 4, p. 858–865, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ufug.2015.08.004>>.
- SMART, Richard E.; BINGHAM, Gail E. Rapid Estimates of Relative Water Content. **Plant Physiology**, v. 53, n. 2, p. 258–260, 1974.
- SOFO, Adriano et al. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. **Plant Science**, v. 166,

n. 2, p. 293–302, 2004.

SONI, Anjali et al. Mechanisms and Strategies for Improving Drought Tolerance in Fruit Crops. **Chem Sci Rev Lett**, v. 6, n. 23, p. 1537–1543, 2017.

SOUSA, Maria Alice de Lourdes Buenos; CAVALHEIRO, Felisberto. Planejamento Paisagístico do Campus Universitário da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Unesp, Botucatu, S.P. v. 1, n. 2, p. 155–163, 1988.

SOUSA, Marília Caixeta et al. The production of alkaloids in *Annona cacans* seedlings is affected by the application of GA4+7 + 6-Benzyladenine. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 84, n. March, p. 47–51, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.03.007>>.

SOUZA, Claudia Rita de; SOARES, Ângela Maria; REGINA, Murillo de Albuquerque. Gas exchange of vine cuttings obtained from two graftings submitted to water deficiency. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 36, n. 10, p. 1221–1230, 2001.

SOUZA, R. P. et al. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, n. 1, p. 45–56, 2004.

STEUDLE, Ernst. THE COHESION-TENSION MECHANISM AND THE ACQUISITION OF WATER BY PLANT ROOTS. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** p. 847–875, 2001.

STRABELI, Taila Fernanda et al. Conteúdo relativo de água afeta o comportamento espectral de folhas de *Eucalyptus* spp. **Scientia Forestalis**, v. 48, n. 128, p. 1–15, 2020.

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

THALMANN, Matthias; SANTELIA, Diana. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. 2017.

VALVERDE, Juan Carlos et al. Fluorescencia, reflectancia y respuesta fisiológica al estrés hídrico en plántulas de *Gmelina arborea* Roxb. **Uniciencia**, v. 35, n. 1, p. 320–334, 2021.

VILA VERDE, G.M.; PAULA, J.R.; CANEIRO, D.M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossamedes ( GO ). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 64–66, 2003.

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

WAHID, A.; CLOSE, T. J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. **Biologia Plantarum**, v. 51, n. 1, p. 104–109, 2007.

WALTER, Lidiane Cristine; ROSA, Hamilton Telles; STRECK, Nereu Augusto. Mecanismos de aclimação das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>. Acclimation mechanisms to elevated CO<sub>2</sub> in plants. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1564–1571, 2015.

WAN, Jiangxin et al. Development of drought-tolerant canola (*Brassica napus* L.)

through genetic modulation of ABA-mediated stomatal responses. **Crop Science**, v. 49, n. 5, p. 1539–1554, 2009.

WANG, Xuchu et al. Comparative proteomics of *Thellungiella halophila* leaves from plants subjected to salinity reveals the importance of chloroplastic starch and soluble sugars in halophyte salt tolerance. **Molecular and Cellular Proteomics**, v. 12, n. 8, p. 2174–2195, 2013.

WILHELM, Christian; SELMAR, Dirk. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 2, p. 79–87, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2010.07.012>>.

XU, Zhenzhu; ZHOU, Guangsheng; SHIMIZU, Hideyuki. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass? **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 13, p. 3737–3749, 2009.

YAN, Kun et al. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O<sub>3</sub>. **Environmental and Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 198–204, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.03.008>>.

YEMM, E. W.; FOLKES, B. F. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. **International Journal of Pharmacy Practice**, v. 57, p. 508–514, 1954.

ZEEMAN, Samuel C.; KOSSMANN, Jens; SMITH, Alison M. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 209–234, 2010.

**Conforme proposto pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), os resultados obtidos nesse trabalho foram redigidos em dois artigos:**

**Artigo 1:** IMPACTO DA SECA E ALAGAMENTO NA PRODUÇÃO DE ALCALOIDES DE *Annona crassiflora* Mart.

Publicado na Revista *Horticulturae* – ISSN: 2311-7524

Citação: Honório, A.B.M.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Martínez-Vázquez, M.; da Silva, M.R.; Campos, F.G.; Martin, B.C.; da Silva, G.C.; Fernandes Boaro, C.S.; Ferreira, G. Impact of Drought and Flooding on Alkaloid Production in *Annona crassiflora* Mart. *Horticulturae* 2021, 7, 414. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100414>

**Artigo 2:** PRODUÇÃO DE ALCALOIDES, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E REFLECTÂNCIA FOLIAR EM PLANTAS DE *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO E RECUPERAÇÃO

Redigido no formato da Revista *Horticulturae* – ISSN: 2311-7524

## **CAPÍTULO 2: IMPACTO DA SECA E ALAGAMENTO NA PRODUÇÃO DE ALCALOIDES DE *Annona crassiflora* Mart.**

### **Resumo**

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e nas últimas décadas a redução do volume de chuvas na região abrangente indicou prolongamento da estação seca. Muitas espécies nativas do Cerrado são da família *Annonaceae* e utilizadas na medicina popular, a *Annona crassiflora* Mart. possui frutos com alto valor nutritivo, seus subprodutos são fontes de importantes compostos bioativos, como os alcaloides. O objetivo desse estudo foi investigar como o estresse hídrico impacta a produção de alcaloides. O estudo foi conduzido em viveiro, os tratamentos aplicados foram alagamento, capacidade de campo e seca. Foram analisadas trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, enzimas antioxidantes, carboidratos foliares, alcaloides totais e liriodenina. Houve aumento na produção de alcaloides totais e liriodenina sem reduções no metabolismo fotossintético em plantas de seca, em contrapartida o alagamento reduziu a concentração de liriodenina. Plantas mantidas na seca e alagamento tiveram maior atividade da peroxidase, enquanto a catalase foi maior no alagamento. O Amido teve maior concentração nas plantas de alagamento sem diferir das plantas de seca, as menores concentrações de trealose foram encontradas tanto na seca como alagamento. A seca estimulou a síntese de alcaloides totais e liriodenina sem reduzir o metabolismo primário denotando rusticidade e adaptação da espécie ao Cerrado.

**Palavras-chave:** *Annonaceae*; enzimas antioxidantes; carboidratos; liriodenina, fotossíntese.

## 1. Introdução

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, considerado um dos 25 hotspots da biodiversidade mundial, presente em mais de doze estados e ocupando aproximadamente 25% do território nacional, com flora nativa caracterizada por árvores pequenas e retorcidas [1].

Este bioma cobre aquíferos e rios importantes [2] e se localiza em área central do país, sendo origem de grandes regiões hidrográficas brasileiras e do continente sul-americano[3,4]. No entanto Lee et al. [5], Debortoli et al.[6] e Penereiro et al. [7], reportaram redução de aproximadamente 70mm na precipitação anual na região abrangente do Cerrado entre os anos de 1979 a 2006, indicando um prolongamento da estação seca. Além disso, embora possua grande diversidade biológica, esse bioma sofre ameaças contínuas de extinção devido a expansão da agricultura e pastagem, como ocorre com outros biomas [2,8].

A vegetação do Cerrado é exposta a altas irradiâncias ( $1500$  a  $2500 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), altas temperaturas ( $25$ - $40$  °C ao meio dia), e na estação seca, baixa umidade relativa do ar ( $10$  a  $20\%$ ) [9]. Embora haja abundância de luz, a estacionalidade do regime de chuvas é um dos fatores que limitam o crescimento da vegetação fazendo com que ocorra maior investimento na formação das raízes para explorar camadas mais profundas do solo [3]. Como consequência, as espécies presentes no Cerrado tendem a ter área específica foliar menor, em contrapartida investem mais em casca a fim de garantir sua sobrevivência em meio a situações de estresse, principalmente hídrico e de temperatura [10], assim como apresentam taxas de crescimento menores e maior condutância hidráulica por unidade de área foliar quando comparadas com espécies de outros biomas [11,12].

Muitas espécies nativas do Cerrado pertencem à família *Annonaceae* e são amplamente utilizadas na medicina popular para o tratamento de diferentes enfermidades [13,14]. A *Annona crassiflora* Mart. nativa e amplamente espalhada pelo Cerrado, popularmente conhecida como araticum do cerrado, marolo, araticum cortiça ou bruto, está entre as espécies com os frutos mais consumidos desse bioma, com características sensoriais agradáveis bem como alto valor nutritivo e ricos em compostos fenólicos e oligossacarídeos [15], carotenoides e vitaminas [16], além de alcaloides encontrados em subprodutos, como folhas e casca do caule [17] representando uma fonte natural de

compostos bioativos ao apresentar, portanto, propriedades antioxidantes [14], e sementes com elevado rendimento lipídico[18].

Os alcaloides perfazem o grupo mais diverso dentro dos compostos nitrogenados. Múltiplas atividades biológicas tem origem alcaloidal, existindo vários medicamentos disponíveis no mercado produzidos a partir de alcaloides naturais de plantas [19]. Vários alcaloides são encontrados nas folhas, casca de fruto e caule de *Annona crassiflora* Mart., Gonçalves et al. [17], isolaram dois alcaloides nomeadamente aterspermidina e liriodenina do caule; Pereira et al. [20] isolaram e caracterizaram o alcaloide estefelagina da casca dos frutos e Egydio et al. [21], Ferraz et al. [22], identificaram dimetoxi-dihidroxi-tetrahidroprotoberberina, isolaurelina, xilopina, anonaina, anoretina e romucosina em folhas.

A liriodenina, alcaloide encontrado em abundância na família Annonaceae[17,23–26] apresenta várias e potentes atividades biológicas [27,28], entre elas potencial atividade antibacteriana [23], antiprotozoária [29,30], citotóxico [31,32] e atividades antifúngicas [33]. Em particular, possui atividade contra mais de 20 fitopatógenos, abrangendo *Rhizopus stolonifer* e *Aspergillus glaucus*, fungos que prejudicam a germinação de sementes [24].

Embora haja diversos relatos de alcaloides em Annonas, até o momento não se tem reportado como as condições de seca, semelhante àsquelas encontradas periodicamente no Cerrado impactam a produção de alcaloides na espécie. E tampouco se tem relatos a respeito da capacidade da espécie em tolerar condições de alagamento e como estas condições refletiriam na síntese de metabólitos especializados como os alcaloides. Dessa forma o objetivo desse estudo foi investigar como o estresse hídrico impacta a produção de alcaloides em *Annona crassiflora* Mart.

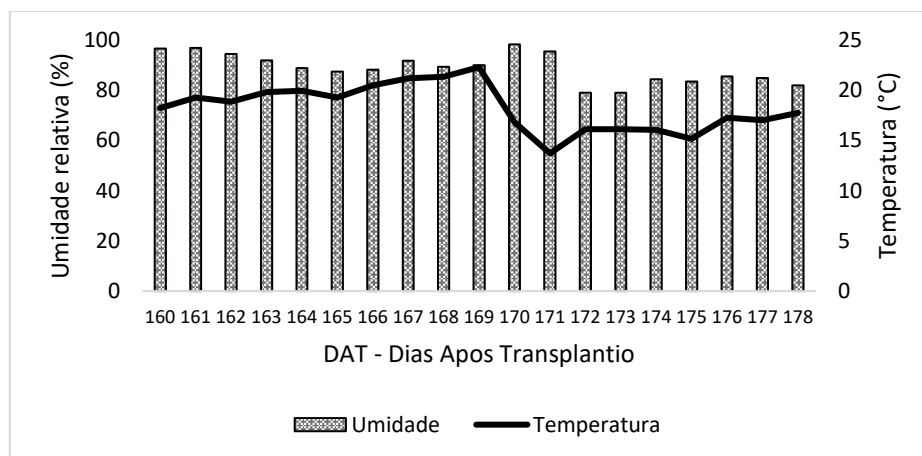
## **2. Material e Métodos**

### *2.1 Material vegetal*

As mudas de *Annona crassiflora* MART. foram obtidas no município de Paraguaçu – MG (Abril de 2019) e transportadas para o viveiro do departamento de Ciência Florestal da Faculdade de Ciências Agronômicas, Unesp –Botucatu (coordenadas 22° 51' latitude S e 48° 26' longitude O) no qual foram submetidas a período de

aclimatação de 6 meses. O transplante para vasos de polietileno com capacidade de 5 litros foi realizado em Novembro de 2019. Para o preenchimento dos vasos foi utilizado solo do tipo Latossolo Vermelho Distrófico, textura média [34,35], coletado da camada superficial (0-20 cm de profundidade).

O período em que foi conduzido o experimento, as plantas estavam submetidas às condições de umidade e temperatura representadas na figura 1.



**Figura 1:** Média da umidade e temperatura entre os dias 13 a 31 de maio de 2020 no viveiro de mudas do departamento de Ciência Florestal da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) (DAT: dias após o transplante).

## 2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três níveis de estresse hídrico (Alagamento ( $>0.01$  MPa); Capacidade de Campo ( $0.01$  MPa) (Grupo controle) e Seca ( $-1.5$  MPa)), com seis repetições de duas plantas por parcela. As plantas permaneceram nos tratamentos (13 - 31 de Maio de 2020) até que o ponto próximo ao de murcha permanente fosse alcançado. Dois dias após essa condição de estresse ter sido alcançada, foi feita a coleta de todo o experimento.

Abaixo seguem os valores de umidade correspondentes à tensão de retenção de água obtidos por meio de curva de retenção de água do solo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tensão de retenção de água.

<b>Tensão</b>	<b>Umidade (%)</b>
Alagamento	37
Capacidade de Campo (0.01MPa)	16
Ponto de Murcha Permanente (-1.5MPa)	8

### 2.3 Trocas gasosas

As trocas gasosas foram monitoradas semanalmente em todos os tratamentos das 9 às 11 h, com o auxílio de um analisador de gás CO<sub>2</sub> e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo LI-6400, LI-COR, Lincon, NE, USA) com uma luz saturante de 450 m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> determinada por meio de curva de luz. Para o monitoramento foram avaliadas as seis repetições (1 planta por repetição) de cada tratamento, realizando-se as medidas na 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> folhas completamente expandidas.

A taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A_{net}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), a taxa de transpiração ( $E$ , mmol de água vapor m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e a condutância estomática ( $g_s$ , mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) foram determinadas. Eficiência do uso de água [EUA,  $\mu\text{mol CO}_2$  (mmol H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup>)] foi calculada usando a razão entre CO<sub>2</sub> assimilado e a taxa de transpiração ( $A_{net} / E$ ). A aparente eficiência de carboxilação foi calculada de acordo com a razão entre a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> da folha ( $A_{net} / C_i$ , mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>).

### 2.4 Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi realizada no período de 9 às 11 h usando o fluorômetro (LED-Array/PAM-Module3055-FL) em 18 plantas (seis repetições de 1 planta cada) e as folhas foram aclimatadas a um período de 30 minutos no escuro cobrindo-as com papel alumínio, em seguida, foi fornecida um pulso de luz actínica de 4500  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  aplicado para a obtenção da Fm (fluorescência máxima adaptada ao escuro) e Fm' (fluorescência máxima adaptada a luz). Além da fluorescência máxima da folha adaptada a luz e ao escuro, também foram obtidos os valores da Fo (fluorescência mínima adaptada ao escuro) e Fo' (fluorescência mínima adaptada a luz).

Por meio da Fm, Fo, Fm' e Fo' foram calculados o rendimento quântico máximo (Fv/Fm), eficiência quântica potencial (Fv'/Fm') Kitajima & Butler [36], rendimento

quântico efetivo ( $\Phi_{PSII}$ ) [37], “quenching” fotoquímico (qP) [38], “quenching” não fotoquímico (NPQ) [39], taxa de transporte de elétrons (ETR), considerando que 84% da luz seja absorvida pela clorofila, com 50% dos fótons ativando a clorofila do fotossistema II e 50% o fotossistema I, energia do fotossistema II que não pode ser dissipada ( $E_x$ ), energia dissipada na forma de calor ( $D$ ), rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II ( $\Phi_{NO}$ ) e rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II ( $\Phi_{NPQ}$ ) [40].

### *2.5 Concentração de açúcares e carboidratos foliares*

A extração de açúcares solúveis totais foi realizada a partir de material foliar obtido de um pool de amostras de duas plantas por repetição (seis repetições por tratamento), conforme Garcia et al. [41], com pequenas modificações assim como a extração de amido de acordo com Clegg [42]. O procedimento para determinar a concentração de açúcares solúveis totais foi feito de acordo com Morris [43], para amido foi descrita por Yemm & Willis [44], para açúcares redutores foi determinado por Miller [45] e para sacarose foi estabelecido por Passos [46] com pequenas modificações.

### *2.6 Atividade das enzimas antioxidantes, peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.*

A extração de enzimas antioxidantes foi realizada conforme descrito por Kar & Mishra [47] a partir de material foliar obtido de um pool de amostras de duas plantas por repetição (seis repetições por tratamento) . As atividades das enzimas superóxido dismutase, EC 1.15.1.1 e catalase EC 1.11.1.6, foram determinadas pelo método de Peixoto et al. [48] ; a atividade da peroxidase, EC 1.11.1.7, foi estabelecida de acordo com Teisseire & Guy [49]; e as proteínas solúveis foram quantificadas conforme descrito por Bradford [50].

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado pelo método de Alexieva et al. [51], e a peroxidação lipídica foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Heath & Packer [52], ambas as análises foram obtidas através de um pool de material foliar de duas plantas por repetição (seis repetições por tratamento).

### *2.7 Extração de alcaloides totais*

A extração de alcaloides totais foi realizada a partir de material radicular de 18 plantas (seis repetições de 2 plantas cada) de *A. crassiflora*, o material foi armazenado

em uma estufa com circulação forçada de ar a 30°C durante dez dias, logo após, foi triturado para obter  $\pm 1$  g de massa seca para cada repetição. A extração de alcaloides foi realizada pelo método seletivo ácido-base e os extratos foram armazenados no escuro [24].

### 2.8 Quantificação de alcaloides totais e lirioidenina

Para determinar o conteúdo total de alcaloides, as 18 amostras foram armazenadas em temperatura ambiente e re-solubilizadas com  $\text{CHCl}_3$  e transferidas para cubetas de quartzo. A absorbância de cada solução foi obtida por espectrofotômetro de 254 nm usando lirioidenina como padrão para elaboração da curva padrão ( $y = 0,0881x - 0,0112$ ,  $R^2 = 0,9949$ ).

Após a obtenção do extrato, a lirioidenina foi quantificada usando 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  $\times$  4,6 mm e 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro de partícula). A fase móvel era água (pH 3,5 com ácido acético) e 30:70 isometanol crítico, com taxa de fluxo de 1 mL / min, mantendo a temperatura da coluna a 30 ° C. A detecção foi realizada em UV a 254 nm. Para quantificação de lirioidenina, curvas de calibração foram realizadas através de análise da série de solução estoque ( $y = 0,3595x - 0,0011$ ;  $R^2 = 0,9989$  para amostras com até 10  $\mu\text{g}$  de lirioidenina no extrato e  $y = 0,3658x + 1,142$ ;  $R^2 = 0,9992$  para amostras com mais de 10  $\mu\text{g}$  [24].

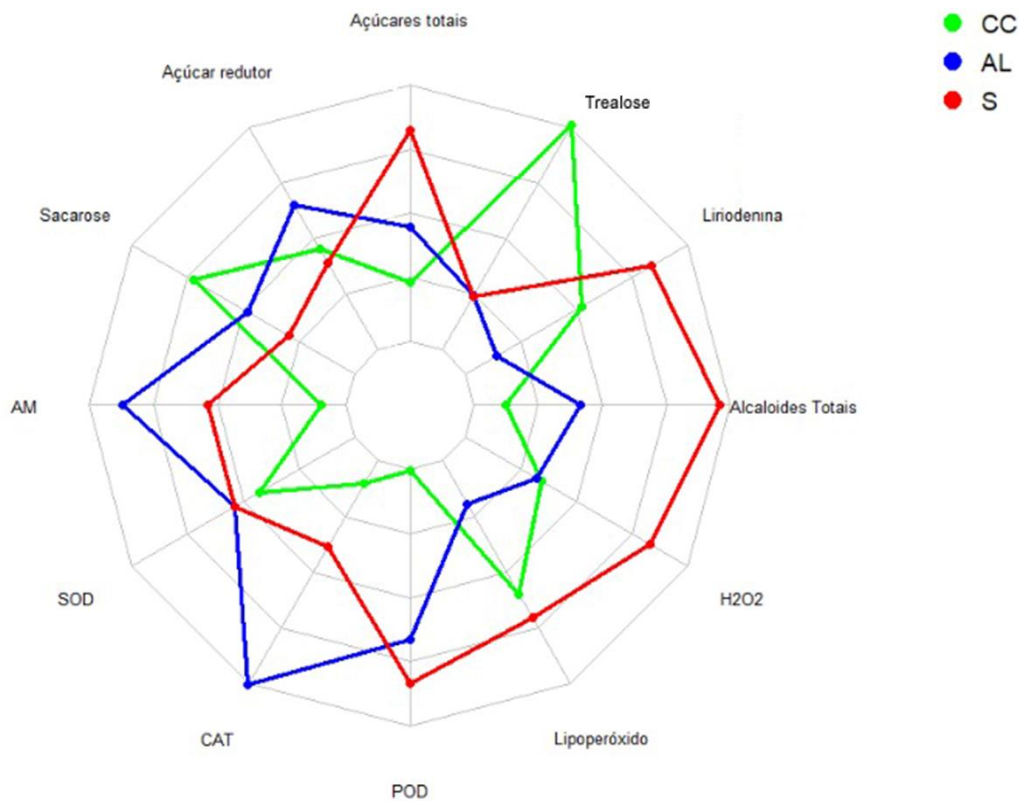
### 2.9 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) no software SigmaPlot e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ) [53]. Para apresentar as variáveis bioquímicas foi utilizado gráfico de radar, inicialmente as variáveis de entrada foram padronizadas em decorrência das diferentes unidades, utilizando o comando *scale* do pacote básico do ambiente computacional R, que centraliza a média em zero e altera a escala para desvio padrão [54].

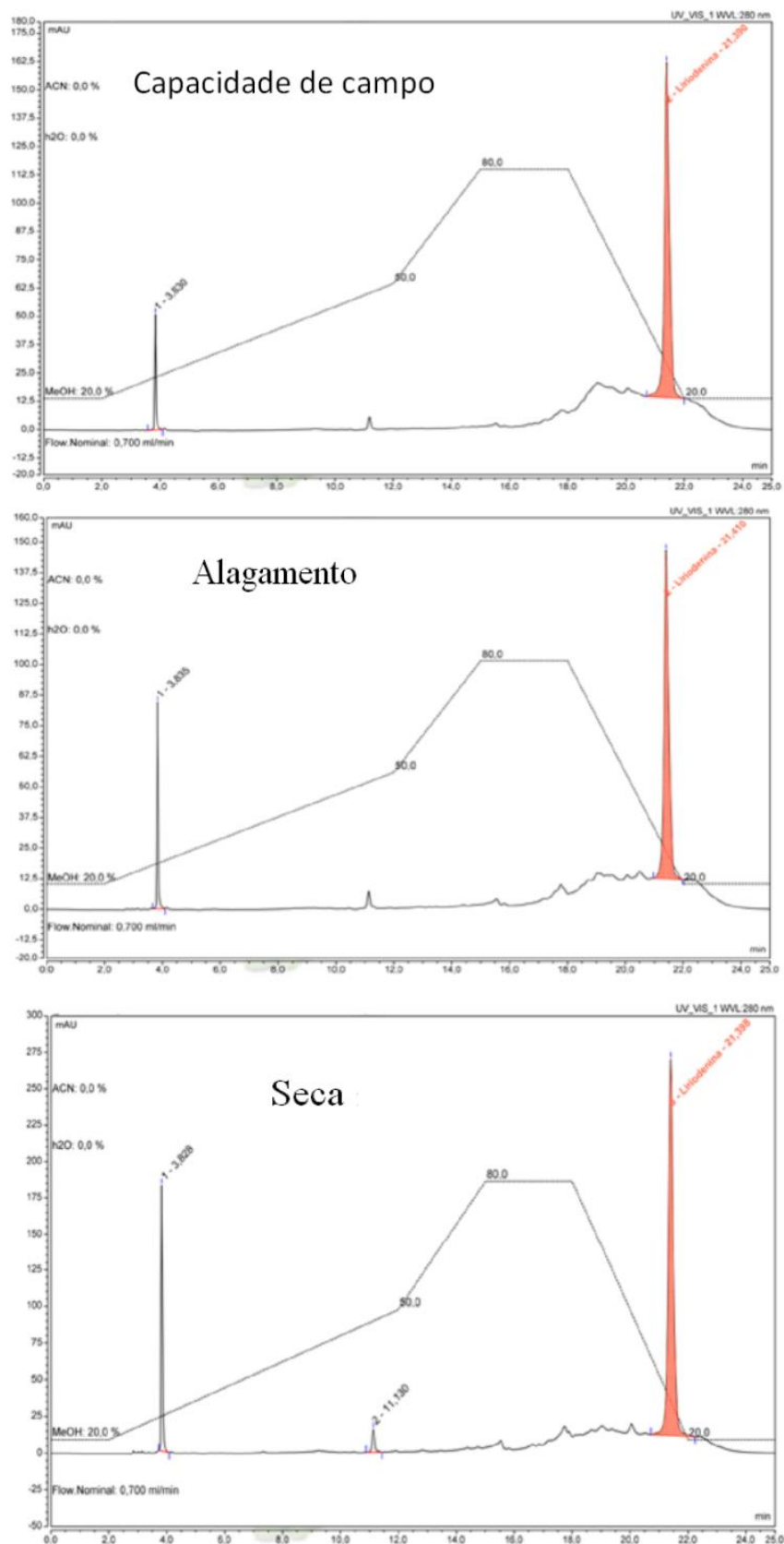
## 3. Resultados

As plantas de *Annona crassiflora* demonstraram de modo geral, que a capacidade de adaptação às condições de restrição de água (seca: - 1,5 MPa) refletiu no incremento do metabolismo especializado, diferente do que ocorreu nas condições de alagamento (Figuras 2 e 3, tabela 2). Neste experimento, um aumento na produção de alcaloides totais

sem a ocorrência de reduções no metabolismo fotossintético do vegetal (trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*) foi observado quando plantas de *A. crassiflora* foram mantidas em condição de estresse por seca (Figuras 4 e 5).



**Figura 2:** Variáveis bioquímicas: Liriodenina; Alcaloides Totais; Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); Lipoperóxido, Peroxidase (POD); Catalase (CAT); Superóxido dismutase (SOD); Amido (AM); Sacarose; Açúcar redutor; Açúcares Totais] obtidas de plantas jovens de *A. crassiflora* submetidas a três níveis de condição hídrica [Capacidade de Campo (CC) (-0,01MPa); Alagamento (Al) e Seca (S) (-1,5MPa)] aos 18 dias após o início dos tratamentos. \*As variáveis representadas no gráfico e que apresentaram diferenças significativas em análise estatística pelo Teste de Tukey a 5% estão dispostas na tabela 2.

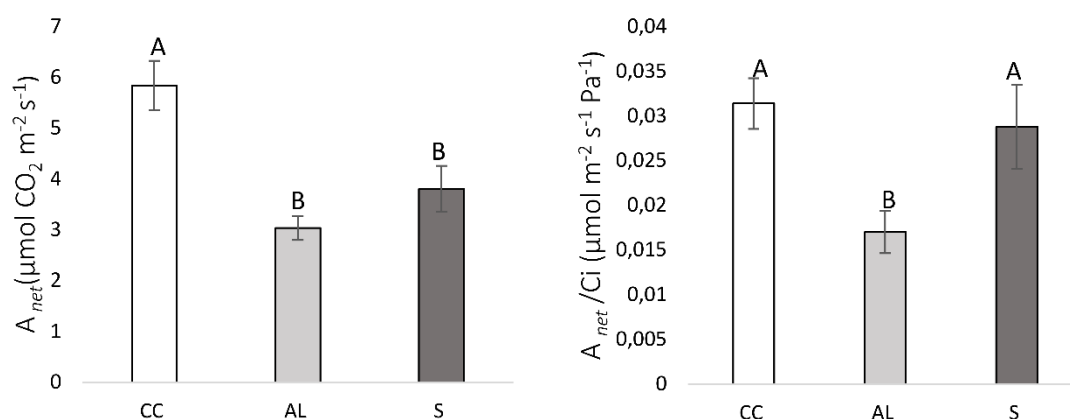


**Figura 3.** Cromatograma indicando liriodenina obtida de plantas jovens de *A. crassiflora* submetidas a três níveis de condição da água [Capacidade de Campo (-0,01 MPa); Alagamento e Seca (-1,5 MPa)] em 18 dias após o início dos tratamentos.

**Tabela 2.** Variáveis bioquímicas: Alcaloides Totais( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Liriodenina( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ); Catalase (CAT,  $\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$ ); Peroxidase (POD,  $\mu\text{mol prupurogallin min}^{-1} \text{ mg prot}^{-1}$ ); Trealose ( $\mu\text{g.g}^{-1} \text{ MF}$ ); Amido ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) obtidas de plantas jovens de *A. crassiflora* submetidas a três níveis de condição hídrica (Capacidade de Campo (-0.01MPa); Alagamento e Seca (-1.5MPa)) aos 18 dias após o início dos tratamentos.

Condição de água	Alcaloides Totais	Liriodenina	CAT	POD	Trealose	Amido
<b>Capacidade de campo</b>	54,26 B	10,8770 AB	0,0101 B	0,2681 B	83,90 A	69,713 B
<b>Alagamento</b>	63,49 AB	8,4098 B	0,1034 A	0,6655 A	12,46 B	104,089 A
<b>Seca</b>	80,87A	13,4374 A	0,0391 B	0,7656 A	13,16 B	89,381 AB

Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey 5%. Média  $\pm$  desvio padrão (n =4).



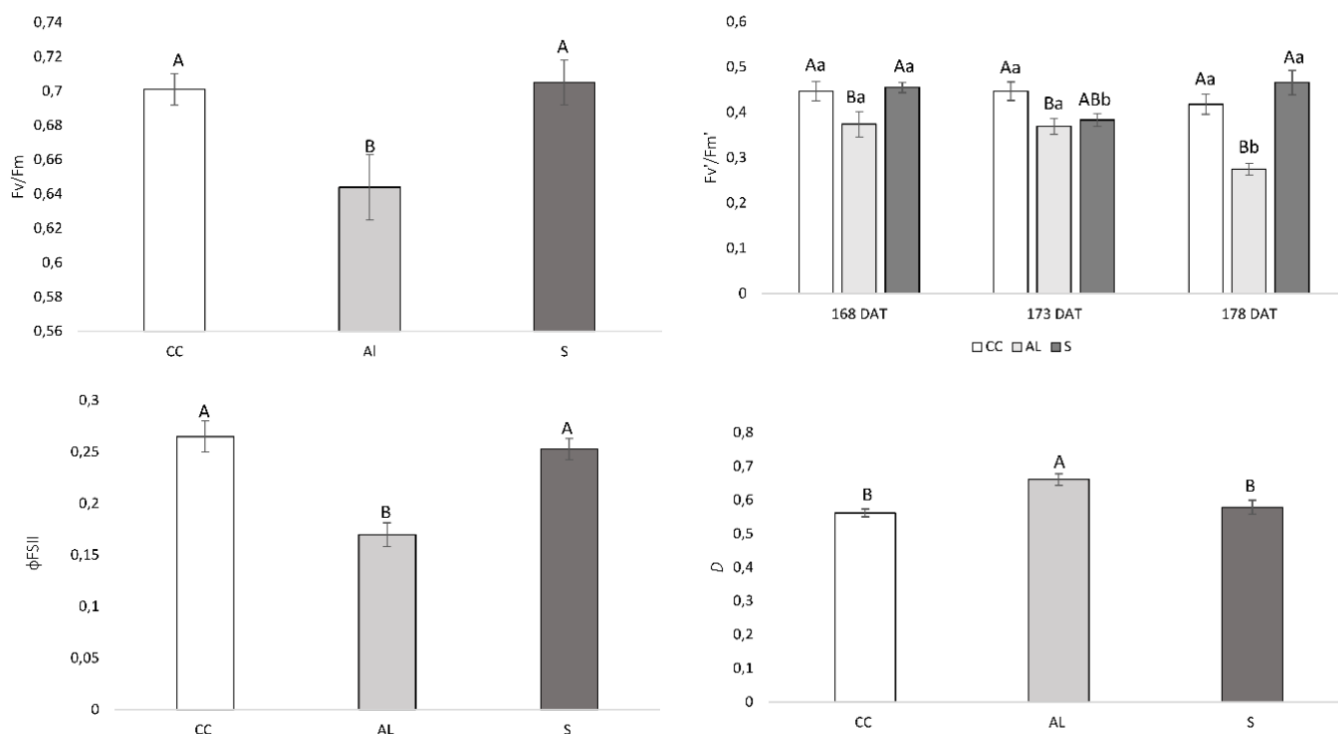
**Figura 4:** Taxa de assimilação de carbono ( $A_{net}$ ) e eficiência de carboxilação da Rubisco ( $A_{net}/C_i$ ) em plantas de *Annona crassiflora* mantidas em capacidade de campo (0.01 MPa), alagamento e seca (-1.5 MPa) aos 5, 10 e 18 dias após aplicação dos tratamentos, respectivamente 168, 173 e 178 dias após o transplante. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0.05$ ).

Ao mesmo tempo em que as plantas apresentaram adaptação às condições de restrição hídrica caracterizada pelas respostas observadas no metabolismo primário, a produção de alcaloides totais e de liriodenina também foi incrementada. As plantas mantidas na seca produziram maior concentração de alcaloides totais em relação às plantas mantidas em solo com a máxima disponibilidade de água (capacidade de campo), enquanto o solo saturado não provocou variações significativas nos alcaloides totais mas reduziu a concentração de liriodenina em relação aos solos secos.

Neste contexto, plantas mantidas na condição de restrição hídrica apresentaram maior eficiência de carboxilação da enzima Rubisco ( $A_{net}/C_i$ ) em relação às plantas mantidas no alagamento (Fig 4). No entanto em ambas as condições a taxa de assimilação

de carbono ( $A_{net}$ ) foi menor em relação às plantas sem restrição hídrica (Capacidade de Campo) e sem diferenças em relação ao Ci. As demais variáveis de trocas gasosas não apresentaram diferenças significativas condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), déficit de pressão de vapor ( $DPV$ ) e eficiência do uso da água (EUA).

A Fluorescência da clorofila  $a$  também foi impactada pelos tratamentos, sendo que as plantas mantidas em condição de seca apresentaram maiores valores de rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ), rendimento quântico efetivo ( $\phi_{PSII}$ ), eficiência quântica potencial ( $F_v'/F_m'$ ) e menor fração de energia dissipada na forma de calor ( $D$ ) em comparação com plantas em alagamento (Fig 5). A energia do fotossistema II que não pode dissipada e utilizada na fase fotoquímica ( $Ex$ ), “quenching” fotoquímico ( $qP$ ), “quenching” não fotoquímico (NPQ), taxa de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II ( $\phi_{NO}$ ) e rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II ( $\phi_{NPQ}$ ) não apresentaram diferenças significativas.



**Figura 5:** Rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ), eficiência quântica potencial ( $F_v'/F_m'$ ), Rendimento quântico efetivo ( $\phi_{PSII}$ ) e energia dissipada na forma de calor ( $D$ ) em plantas de *Annona crassiflora* nos tratamentos de capacidade de campo (0.01 MPa), alagamento e seca (-1.5 MPa) aos 5, 10 e 18 dias após aplicação dos tratamentos, respectivamente aos 168, 173 e 178 dias após o transplantio. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, letras minúsculas apontam diferenças entre as épocas ( $p < 0,05$ ).

Amido e trealose foram afetados em função das condições nas quais as plantas foram mantidas, enquanto açúcares totais, redutores e sacarose não apresentaram diferenças significativas. O Amido foi encontrado em maior concentração nas plantas mantidas em alagamento sem diferir, contudo, das plantas mantidas na seca, e as menores concentrações de trealose foram encontradas tanto nas folhas das plantas mantidas na seca como no alagamento, indicando que esse açúcar pode ter sido translocado para as raízes e utilizado no intuito de neutralizar os danos causados pelo estresse (Fig2, Tab 2).

Em geral o sistema enzimático atuou satisfatoriamente evitando danos de membrana, uma vez que não houve diferença na peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio entre os tratamentos, indicando possivelmente que as enzimas antioxidantes inibiram a atividade das espécies reativas de oxigênio. Nas plantas mantidas em solo seco e em alagamento ocorreu maior atividade da peroxidase (POD), enquanto a atividade da catalase (CAT) foi maior somente em plantas mantidas em alagamento. Deste modo, as plantas alagadas exigiram maior atividade enzimática (Figura 2, Tabela 2).

#### **4. Discussão**

O incremento da produção de alcaloides em *A. crassiflora* em condições de estresse por seca parece estar relacionado com a capacidade de adaptação da espécie ao Cerrado que apresenta períodos bem definidos de seca [55], uma vez que o processo fotossintético foi preservado, garantindo tanto o metabolismo primário como o especializado. Esta capacidade de adaptação às condições de Cerrado parece ser específica uma vez que sob alagamento as reduções no metabolismo primário foram evidentes, além de afetar o metabolismo especializado, em especial a síntese do alcaloide liriidenina.

O fato do estresse hídrico por seca provocar aumento de substâncias do metabolismo especializado como alcaloides é comprovado por vários autores, como Ghorbanpour & Hatami [56] em trabalho com *Hyoscyamus niger*; Kleinwächter et al. [56] com tomilho (*Thymus vulgaris*); Kleinwächter & Selmar [58] no estudo de especiarias e plantas medicinais; e Liu et al. [28] com *Catharanthus roseus*. E especificamente com o gênero *Annona*, Castro-Moreno et al. [59] encontraram a maior concentração do alcaloide liriidenina em raízes de *Annona lutescens* no final da estação

seca (cerca de 377  $\mu\text{mol/g}$ ), o que evidencia portanto, ser este o primeiro relato da presença de lirioidenina em raízes de *Annona crassiflora* sob estresse hídrico (cerca de 80,9 $\mu\text{g/g}$  de alcaloides totais e 13,47  $\mu\text{g/g}$  de lirioidenina).

De modo geral, as condições de restrição hídrica levam ao fechamento estomático e a absorção reduzida de  $\text{CO}_2$  e, como consequência há diminuição considerável no consumo de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  para a fixação do  $\text{CO}_2$  via ciclo de Calvin, o que gera uma oferta excessiva desse equivalente redutor, bem como acúmulo. 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 [60]. Neste contexto, apesar de não ter ocorrido diferenças significativas na condutância estomática em *A. crassiflora* foram observadas reduções nas taxas de assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A_{net}$ ) em função da restrição hídrica (seca) e de alagamento, o que corrobora resultados de Simonneau et al. [61] e Oliveira & Gualtieri [62] respectivamente, e pode ter levado a menor fixação de  $\text{CO}_2$  no ciclo de Calvin [60]. No entanto somente as plantas de *A. crassiflora* mantidas na seca apresentaram maior síntese de alcaloides totais em relação às mantidas em capacidade de campo, além de apresentarem maior eficiência de carboxilação ( $A_{net}/C_i$ ) e maior concentração de lirioidenina em relação às alagadas, o que indica que estas respostas foram evidentes quando as plantas estavam sob restrição hídrica.

A elevada eficiência de carboxilação em *A. crassiflora* indica adaptação para sobrevivência em ambientes com períodos de baixa disponibilidade hídrica, o que se justifica pelo fato da espécie ser nativa do Cerrado, diferente do observado por Mantoan et al. [63], com *A. emarginata*, quando em condições de suspensão de irrigação houve decréscimo da eficiência de carboxilação, o que pode estar relacionado ao fato da *A. emarginata* ser espécie presente em mata atlântica, ambiente com maior disponibilidade hídrica. Além destas observações, em plantas que estão submetidas a eventos de estresse hídrico, há o aumento de danos no aparelho fotossintético que gera alterações nos padrões de fluorescência da clorofila *a*, que muda os caminhos de dissipação de energia da luz e aumenta o estresse da planta [64]. No entanto, neste experimento plantas mantidas em seca não apresentaram reduções no padrão da fluorescência da clorofila *a*, indicando que não ocorreram danos significativos no aparato fotossintético. Sob alagamento os danos são evidenciados pelos menores valores da fluorescência da clorofila *a* ( $\phi\text{FSII}$ ,  $F_v/F_m$ ,  $F_v'/F_m'$ ) e elevada dissipação de energia na forma de calor (*D*) (Fig. 5) o que resultou

em menor eficiência de carboxilação da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase (rubisco) (Fig. 4). Dessa forma o alagamento afetou diretamente o aparato fotossintético em *A. crassiflora* reduzindo sua eficiência independente da condutância estomática, conforme proposto por Parolin & Wittmann [65] e Oliveira & Gualtieri [62]. Em estudos com *Annona glabra* esta redução da eficiência fotossintética não ocorreu, o que reforça suas características de adaptação a restinga, ambiente altamente inundado [66]

Os maiores valores observados no rendimento quântico efetivo ( $\Phi_{PSII}$ ), rendimento quântico máximo do escuro ( $F_v/F_m$ ) e na eficiência quântica potencial ( $F_v'/F_m'$ ) nas plantas de *A. crassiflora* mantidas em seca (semelhante às plantas em capacidade de campo) indica que foi gerada energia que pode ter sido destinada tanto para a produção de esqueletos carbônicos utilizados no metabolismo primário, como para o metabolismo especializado [57,67]. Por outro lado, nas plantas submetidas a condição de alagamento o baixo rendimento quântico do escuro ( $F_v/F_m$ ), baixa eficiência quântica potencial ( $F_v'/F_m'$ ) e maior dissipação de calor da antena ( $D$ ) indicam um mecanismo de fotoproteção a fim de minimizar danos no fotossistema [68].

Desta forma, além do aumento de NADPH + H que pode ser destinado a síntese de metabólitos especializados como alcaloides, há aumento de radicais livres oriundos da energia gerada no sistema [58], e portanto em situações de estresse ocorre aumento de radicais hidroxila (OH), superóxidos ( $O_2^-$ ), moléculas de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), originados a partir de reações redox que podem estar na forma de radicais livres ou na forma molecular de um não radical [69,70]. Os lipoperóxidos são resultados da interação entre radicais livres e ácidos graxos das membranas celulares, e quando esse processo acontece a integridade da membrana celular é comprometida resultando na produção de compostos carboxílicos como o monoaldeído [71]. Para se proteger e tentar a homeostase redox, a planta possui enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidases (POD) [72].

A enzima que age primeiro é a SOD, catalisando a dismutação de dois radicais  $O_2^{\cdot-}$ , gerando  $H_2O_2$  e  $O_2$ . Em seguida a CAT que é uma das principais enzimas atuantes na eliminação de  $H_2O_2$  gerado durante a fotorrespiração e  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos, converte duas moléculas de  $H_2O_2$  em água e oxigênio molecular. Posteriormente a POD, localizada no citosol e nos vacúolos, catalisa reações que utilizam o  $H_2O_2$  como oxidantes, sendo assim, essa espécie reativa de oxigênio (ERO) também é eliminada, mesmo quando a atividade da SOD é baixa [72,73].

Dentro deste complexo arcabouço enzimático não foi observada atividade significativa da superóxido dismutase (SOD) em *A. crassiflora*, no entanto a atividade da CAT foi maior nas plantas alagadas, o que parece ser característica específica de solos saturados [74] e indica tentativa de redução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> acumulado pelo estresse, a fim de evitar danos a lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos e garantir a tolerância ao alagamento [75]. A atividade da POD também foi observada, tanto nas plantas mantidas em alagamento como na seca, o que indica a continuidade da eliminação das espécies reativas de oxigênio (ERO) do sistema para evitar danos às células. Neste contexto, a POD parece ter sido eficiente, uma vez que não foram observadas diferenças na concentração de peróxido de hidrogênio e nem de lipoperóxido entre os tratamentos e a testemunha (Figura gráfico de radar), o que poderia significar maior concentração de malondialdeído e por sua vez, representaria danos às membranas celulares [72].

Cabe salientar que para evitar o efeito deletério causado pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) em tecidos vegetais, principalmente nas regiões radiculares, as plantas podem apresentar maior atividade de enzimas antioxidantes, principalmente POD, como também podem acumular aminoácidos nas raízes. Desse modo, com esta maior alocação de aminoácidos para as raízes as plantas podem aumentar sua reserva de nitrogênio sintetizando alcaloides Ghorbanpour & Hatami [56], o que explicaria sua maior produção nas raízes de *A. crassiflora* principalmente, quando submetidas ao estresse por seca.

As raízes são o principal órgão de produção de alcaloides em plantas do gênero *Annona* [24] e o acúmulo de alcaloides em determinadas situações, como observado em raízes de *A. crassiflora*, pode indicar um ajuste osmótico celular, devido ao acúmulo de osmólitos precursores, como por exemplo, aminoácidos, carboidratos e açúcares, como amido e trealose [76]. O acúmulo de osmólitos pode alterar o potencial hídrico e favorecer a absorção de água mesmo em solos com restrição hídrica e gerar maior síntese de alcaloides [77], o que pode ter ocorrido com *A. crassiflora*. Deste modo, mesmo em condições de redução de água no solo, trocas gasosas e fluorescência não foram negativamente afetadas e ainda ocorreu a produção de alcaloides.

Em relação a presença de osmólitos, pode-se considerar a interconversão do amido em outros açúcares que atuam como osmoprotetores, com a capacidade de influenciar a alocação de carbono para toda a planta mitigando o efeito negativo do estresse por restrição hídrica. Além do que, em células fotossintéticas o amido pode ser sintetizado e temporariamente armazenado nos cloroplastos, sendo este amido “transitório” sintetizado

e degradado em uma janela de 24 horas [78–80]. O alagamento provocou aumento na concentração de amido nas folhas de *A. crassiflora*, da mesma forma que relatado em trigo (*Triticum* spp.) [81,82], o que pode ser resultado da rápida inibição do crescimento da planta no início do alagamento, que leva a um menor consumo dos açúcares produzidos pela fotoassimilação, além de redução na fotossíntese [83–85]

Outro aspecto a ser observado quanto a capacidade das plantas de *A. crassiflora* em tolerar o estresse abiótico foi a presença de trealose tanto nas plantas alagadas como naquelas em estresse por falta de água. Como este dissacarídeo não redutor de transporte atua como bioestimulante na tolerância ao estresse, as menores concentrações nas folhas podem indicar sua translocação para as raízes e utilização no intuito de neutralizar os danos que poderiam ser provocados pelo estresse, uma vez que são geradas duas moléculas de glicose a partir da hidrólise da trealose [86]. Além disso, a síntese de trealose é induzida a partir de alguma condição de estresse no intuito de proteger enzimas, proteínas e membranas lipídicas contra a desnaturação em situações de estresse, bem como atuar com função osmoprotetora [76,87]

Em síntese, quando as plantas de *A. crassiflora* foram submetidas a situações de estresse, por exemplo por falta de água, a assimilação de CO<sub>2</sub> tendeu a diminuir e como consequência foi consumida quantidade menor de NADPH<sub>2</sub> dentro do Ciclo de Calvin. Com isso uma maior parcela de energia deveria ser dissipada e embora os mecanismos não fotoquímicos atuem, como por exemplo, fotorrespiração e ciclo das xantofilas, estes são potencializados nessa situação, e numerosos elétrons ainda são transferidos para o oxigênio molecular gerando as ERO. Perante essa situação, as plantas então acionam seu sistema antioxidante (SOD, POD e CAT) barrando então o efeito danoso das ERO, e assim, há um forte aumento no potencial de redução do equivalente redutor (NADPH<sub>2</sub>) que pode ser direcionado para a síntese de metabólitos especializados [68], o que parece ter acontecido com as plantas de *A. crassiflora*. E ainda, há o papel do amido e da trealose para mitigar os efeitos da reduzida disponibilidade de água no solo para garantir a absorção hídrica radicular (osmorregulação). Deste modo, plantas de *A. crassiflora* sob estresse por falta de água apresentaram aumento no conteúdo de alcaloides totais e especificamente lirioidenina.

## **5. Conclusão**

As plantas de *A. crassiflora* são afetadas pelas condições hídricas de alagamento e seca. A seca gera sinal de estímulo para a síntese de alcaloides totais e de liriodenina sem reduzir a produtividade primária, o que denota rusticidade e adaptação da espécie ao Cerrado. Por outro lado, o estresse por alagamento é danoso ao aparato fotossintético, o que não reflete em maior produção de alcaloides e ainda reduz a produção de liriodenina.

## Referências

1. Prado, L.G.; Arruda, H.S.; Peixoto Araujo, N.M.; de Oliveira Braga, L.E.; Banzato, T.P.; Pereira, G.A.; Figueiredo, M.C.; Ruiz, A.L.T.G.; Eberlin, M.N.; de Carvalho, J.E.; et al. Antioxidant, antiproliferative and healing properties of araticum (*Annona crassiflora* Mart.) peel and seed. *Food Res. Int.* **2020**, *133*, 109168, doi:10.1016/j.foodres.2020.109168.
2. Rodrigues, J.A.M.; Andrade, A.C. de O.; Viola, M.R.; Ferreira, D.D.; Mello, C.R. de; Thebaldi, M.S. Hydrological modeling in a basin of the Brazilian Cerrado biome. *Rev. Ambient. e Agua* **2021**, *16*, 2–18, doi:10.4136/1980-993X.
3. Lima, J.E.F.W. Situação e perspectivass sobre as águas do Cerrado. **2011**, 27–29.
4. Caldas, J. Sustentabilidade Águas do Cerrado: questão estratégica para o País  
Manejo racional dos recursos hídricos é preocupação da pesquisa agropecuária uma vez que Cerrado é origem de grandes bacias hidrográficas. **2014**, 9–11.
5. Lee, J.E.; Lintner, B.R.; Boyce, C.K.; Lawrence, P.J. Land use change exacerbates tropical South American drought by sea surface temperature variability. *Geophys. Res. Lett.* **2011**, *38*, 1–6, doi:10.1029/2011GL049066.
6. Debortoli, N.S.; Dubreuil, V.; Funatsu, B.; Delahaye, F.; Oliveira, C.H. de; Rodrigues-Filho, S.; Saito, C.H.; Fetter, R. Rainfall patterns in the Southern Amazon: a chronological perspective (1971–2010). *Clim. Change* **2015**, *132*, 251–264, doi:10.1007/s10584-015-1415-1.
7. Penereiro, J.C.; Badinger, A.; Maccheri, N.A.; Meschiatti, M.C. Distribuições de Tendências Sazonais de Temperatura Média e Precipitação nos Biomas Brasileiros. *Rev. Bras. Meteorol.* **2018**, *33*, 97–113, doi:10.1590/0102-7786331012.
8. Aghajanlou, F.; Mirdavoudi, H.; Shojaee, M.; Mac Sweeney, E.; Mastinu, A.; Moradi, P. Rangeland management and ecological adaptation analysis model for *Astragalus curvirostris* Boiss. *Horticulturae* **2021**, *7*, doi:10.3390/horticulturae7040067.
9. Palhares, D.; Franco, a C.; Zaidan, L.P. Respostas fotossintéticas de plantas do

- cerrado nas estações seca e chuvosa. *Rev. Bras. Biociências* **2010**, 8, 213–220.
10. Hoffmann, W.A.; Adasme, R.; Haridasan, M.; De Carvalho, M.T.; Geiger, E.L.; Pereira, M.A.B.; Gotsch, S.G.; Franco, A.C. Tree topkill, not mortality, governs the dynamics of savanna-forest boundaries under frequent fire in central Brazil. *Ecology* **2009**, 90, 1326–1337, doi:10.1890/08-0741.1.
  11. Hoffmann, W.A.; Franco, A.C. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: Examples from cerrados and forests of central Brazil. *Brazilian J. Plant Physiol.* **2008**, 20, 247–256, doi:10.1590/s1677-04202008000300008.
  12. Yousefi, A.R.; Rashidi, S.; Moradi, P.; Mastinu, A. Germination and seedling growth responses of zygophyllum fabago, salsola kali l. And atriplex canescens to peg-induced drought stress. *Environ. - MDPI* **2020**, 7, 1–10, doi:10.3390/environments7120107.
  13. Justino, A.B.; Pereira, M.N.; Vilela, D.D.; Peixoto, L.G.; Martins, M.M.; Teixeira, R.R.; Miranda, N.C.; da Silva, N.M.; de Sousa, R.M.F.; de Oliveira, A.; et al. Peel of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of antioxidant compounds with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and glycation inhibitory activities. *Bioorg. Chem.* **2016**, 69, 167–182, doi:10.1016/j.bioorg.2016.11.001.
  14. Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, P.G. C : Food Chemistry and Toxicology Evaluation of the Antioxidant Properties of the Brazilian Cerrado Fruit *Annona crassiflora* ( Araticum ). *Food Chem. Toxicol.* **2006**, 71, 102–107.
  15. Arruda, H.S.; Pereira, G.A.; Pastore, G.M. Oligosaccharide profile in Brazilian Cerrado fruit araticum (*Annona crassiflora* Mart.). *LWT - Food Sci. Technol.* **2017**, 76, 278–283, doi:10.1016/j.lwt.2016.05.017.
  16. Morais Cardoso, L. De; Silva Oliveira, D. Da; Freitas Bedetti, S. De; Duarte Martino, H.S.; Pinheiro-Sant'ana, H.M. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) from the Brazilian Cerrado: Chemical composition and bioactive compounds. *Fruits* **2013**, 68, 121–134, doi:10.1051/fruits/2013058.
  17. Gonçalves, M.A.; Lara, T.A.; Pimenta, L.P.S. Oxaporphyinic alkaloids of *Annona crassiflora* wood Mart. *Annu. Meet. Brazilian Chem. Soc.* **2006**, 2.

18. Luzia, D.M.M.; Jorge, N. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *42*, 231–235, doi:10.1016/j.indcrop.2012.05.027.
19. Debnath, B.; Singh, W.S.; Das, M.; Goswami, S.; Singh, M.K.; Maiti, D.; Manna, K. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Mater. Today Chem.* **2018**, *9*, 56–72, doi:10.1016/j.mtchem.2018.05.001.
20. Pereira, M.N.; Justino, A.B.; Martins, M.M.; Peixoto, L.G.; Vilela, D.D.; Santos, P.S.; Teixeira, T.L.; da Silva, C.V.; Goulart, L.R.; Pivatto, M.; et al. Stephalagine, an alkaloid with pancreatic lipase inhibitory activity isolated from the fruit peel of *Annona crassiflora* Mart. *Ind. Crops Prod.* **2017**, *97*, 324–329, doi:10.1016/j.indcrop.2016.12.038.
21. Egydio, A.P.M.; Valvassoura, T.A.; Santos, D.Y.A.C. Geographical variation of isoquinoline alkaloids of *Annona crassiflora* Mart. from cerrado, Brazil. *Biochem. Syst. Ecol.* **2013**, *46*, 145–151, doi:10.1016/j.bse.2012.08.006.
22. Ferraz, C.R.; Silva, D.B.; Prado, L.C. da S.; Canabrava, H.A.N.; Bispo-da-Silva, L.B. Antidiarrhoeic effect and dereplication of the aqueous extract of *Annona crassiflora* (Annonaceae). *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 563–567, doi:10.1080/14786419.2017.1396589.
23. Costa, E.V.; Da Cruz, P.E.O.; De Lourenço, C.C.; De Souza Moraes, V.R.; De Lima Nogueira, P.C.; Salvador, M.J. Antioxidant and antimicrobial activities of aporphinoids and other alkaloids from the bark of *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae). *Nat. Prod. Res.* **2013**, *27*, 1002–1006, doi:10.1080/14786419.2012.688044.
24. De La Cruz Chacón, I.; González-Esquinca, A.R. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. *Nat. Prod. Res.* **2012**, *26*, 42–49, doi:10.1080/14786419.2010.533373.
25. González-Esquinca, A.R.; De-La-Cruz-Chacón, I.; Castro-Moreno, M.; Orozco-Castillo, J.A.; Riley-Saldaña, C.A. Alkaloids and acetogenins in Annonaceae development: biological considerations. *Rev. Bras. Frutic.* **2014**, *36*, 01–16, doi:10.1590/s0100-29452014000500001.
26. Sousa, M.C.; Bronzatto, A.C.; González-Esquinca, A.R.; Campos, F.G.;

- Dalanhol, S.J.; Boaro, C.S.F.; Martins, A.L.; da Silva Almeida, J.R.G.; Costa, E.V.; De-la-Cruz-Chacón, I.; et al. The production of alkaloids in *Annona cacans* seedlings is affected by the application of GA4+7 + 6-Benzyladenine. *Biochem. Syst. Ecol.* **2019**, *84*, 47–51, doi:10.1016/j.bse.2019.03.007.
27. Chen, C.-Y.; Wu, H.-M.; Chao, W.-Y.; Lee, C.-H. Review on pharmacological activities of liriodenine. **2014**, *8*, 364–371, doi:10.5897/AJPP2013.
28. Liu, Y.; Meng, Q.; Duan, X.; Zhang, Z.; Li, D. Effects of PEG-induced drought stress on regulation of indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *J. Plant Interact.* **2017**, *12*, 87–91, doi:10.1080/17429145.2017.1293852.
29. Costa, E. V.; Pinheiro, M.L.B.; Xavier, C.M.; Silva, J.R.A.; Amaral, A.C.F.; Souza, A.D.L.; Barison, A.; Campos, F.R.; Ferreira, A.G.; Machado, G.M.C.; et al. A pyrimidine- $\beta$ -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 292–294, doi:10.1021/np050422s.
30. Cota, L.G.; Vieira, F.A.; Melo Júnior, A.F.; Brandão, M.M.; Santana, K.N.O.; Guedes, M.L.; Oliveira, D.A. Genetic diversity of *Annona crassiflora* (Annonaceae) in northern Minas Gerais State. *Genet. Mol. Res.* **2011**, *10*, 2172–2180, doi:10.4238/vol10-3gmr1188.
31. De Lima, J.P.S.; Pinheiro, M.L.B.; Antonio, A.M.; José, J.L.; Santos, D.M.F.; Barison, A.; Silva-Jardim, I.; Costa, E. V. In Vitro Antileishmanial and Cytotoxic Activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). *Rev. Virtual Quim.* **2012**, *4*, 692–702, doi:10.5935/1984-6835.20120052.
32. Khan, T.M.; Gul, N.S.; Lu, X.; Wei, J.H.; Liu, Y.C.; Sun, H.; Liang, H.; Orvig, C.; Chen, Z.F. In vitro and in vivo anti-tumor activity of two gold(III) complexes with isoquinoline derivatives as ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *163*, 333–343, doi:10.1016/j.ejmech.2018.11.047.
33. De-la-Cruz-Chacón, I.; López-Fernández, N.Y.; Riley-Saldaña, C.A.; Castro-Moreno, M.; González-Esquinca, A.R. Antifungal activity in vitro of *Sapranthus microcarpus* (Annonaceae) against phytopathogens. *Acta Bot. Mex.* **2019**, doi:10.21829/ABM126.2019.1420.
34. Sousa, M.A. de L.B.; Cavalheiro, F. Planejamento Paisagístico do Campus

Universitário da Faculdade de Ciências Agronômicas, Unesp, Botucatu, S.P.  
**1988**, *1*, 155–163.

35. Santos, H.G. dos; Jacomine, P.K.T.; Anjos, L.H.C. dos; Oliveira, V.Á. de; Lumberras, J.F.; Coelho, M.R.; Almeida, J.A. de; Filho, J.C. de A.; Oliveira, J.B. de; Cunha, T.J.F. *Sistema brasileiro de classificação de solos*; 2018; ISBN 978-85-7035-198-2.
36. Kitajima, M.; Butler, W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *BBA - Bioenerg.* **1975**, *376*, 105–115, doi:10.1016/0005-2728(75)90209-1.
37. Genty, B.; Briantais, J.M.; Baker, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1989**, *990*, 87–92, doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
38. Schreiber, U.; Schliwa, U.; Bilger, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.* **1986**, *10*, 51–62, doi:10.1007/BF00024185.
39. Bilger, W.; Björkman, O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth. Res.* **1990**, *25*, 173–185, doi:10.1007/BF00033159.
40. Klughammer, C.; Schreiber, U. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Appl. Notes* **2008**, *1*, 27–35.
41. Garcia, I.S.; Souza, A.; Barbedo, C.J.; Dietrich, S.M.C.; Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian atlantic forest. *Brazilian J. Biol.* **2006**, *66*, 739–745, doi:10.1590/s1519-69842006000400018.
42. Clegg, K.M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. *J. Sci. Food Agric.* **1956**, *7*, 40–44, doi:10.1002/jsfa.2740070108.

43. Morris, D.L. Quantitative Determination of Carbohydrates with Dreywood ' s Anthrone Reagent Author ( s ): Daniel Luzon Morris Published by : American Association for the Advancement of Science Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1675449> Your use of the JSTOR arch. *Am. Assoc. Adv. Sci.* **1948**, *107*, 254–255.
44. Yemm, E.W.; Folkes, B.F. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. *Int. J. Pharm. Pract.* **1954**, *57*, 508–514, doi:10.1111/j.2042-7174.1999.tb00969.x.
45. Miller, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* **1959**, *31*, 426–428, doi:10.1021/ac60147a030.
46. Passos, L.P. *Métodos Analíticos e Laboratoriais em Fisiologia Vegetal*; 1996;
47. Kar, M.; Mishra, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. *Plant Physiol.* **1976**, *57*, 315–319, doi:10.1104/pp.57.2.315.
48. Peixoto, P.H.P.; Cambraia, J.; Sant'Anna, R.; Mosquim, P.R.; Moreira, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* **1999**, *11*, 137–143.
49. Teisseire, H.; Guy, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Sci.* **2000**, *153*, 65–72, doi:10.1016/S0168-9452(99)00257-5.
50. Bradfor, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizin the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* **1976**, 248–254, doi:10.1016/j.cj.2017.04.003.
51. ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat V. *Trop. Ecol.* **2001**, *45*, 315–325, doi:10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x.
52. HEATUH, R.L.; Packer, L. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts 1968, 850–857.
53. Costa, J.R. Técnicas Experimentais aplicadas às Ciências Agrárias. *Embrapa Agrobiol.* **2003**, 54.

54. Becker, R.A.; Chambers, J.M. Auditing of Data Analyses. *SIAM J. Sci. Stat. Comput.* **1988**, *9*, 747–760, doi:10.1137/0909049.
55. Nascimento, D.T.F.; Novais, G.T. Clima do Cerrado : dinâmica atmosférica e características , variabilidades e tipologias climáticas. **2020**.
56. Ghorbanpour, M.; Hatami, M. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turkish J. Biol.* **2013**, *37*, 350–360, doi:10.3906/biy-1209-12.
57. Kleinwächter, M.; Paulsen, J.; Bloem, E.; Schnug, E.; Selmar, D. Moderate drought and signal transducer induced biosynthesis of relevant secondary metabolites in thyme (*Thymus vulgaris*), greater celandine (*Chelidonium majus*) and parsley (*Petroselinum crispum*). *Ind. Crops Prod.* **2015**, *64*, 158–166, doi:10.1016/j.indcrop.2014.10.062.
58. Kleinwächter, M.; Selmar, D. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. *Agron. Sustain. Dev.* **2015**, *35*, 121–131, doi:10.1007/s13593-014-0260-3.
59. Castro-Moreno, M.; Tinoco-Ojangurén, C.L.; Cruz-Ortega, M. del R.; González-Esquinca, A.R. Influence of seasonal variation on the phenology and liriodenine content of *Annona lutescens* (Annonaceae). *J. Plant Res.* **2013**, *126*, 529–537, doi:10.1007/s10265-013-0550-x.
60. Selmar, D.; Kleinwächter, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *42*, 558–566, doi:10.1016/j.indcrop.2012.06.020.
61. Simonneau, T.; Lebon, E.; Coupel-Ledru, A.; Marguerit, E.; Rossdeutsch, L.; Ollat, N.; Soni, A.; Kumari, P.; Dhakar, S.; Kumar, N.; et al. Physiological behavior of *Annona muricata*, *Dipteryx odorata* and *Copaifera langsdorffii* in response to water and light stress. *Front. Plant Sci.* **2017**, *62*, 1–8, doi:10.3389/fpls.2014.00170.
62. Oliveira,; admir K.M. de; Gualtieri, S.C.J. trocas gasosas e grau de tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Paratudo) submetidas a alagamento. *Ciência Florest.* **2017**, *27*, 181–191.

63. Mantoan, L.P.B.; Rolim de Almeida, L.F.; Macedo, A.C.; Ferreira, G.; Boaro, C.S.F. Photosynthetic adjustment after rehydration in *Annona emarginata*. *Acta Physiol. Plant.* **2016**, *38*, 1–11, doi:10.1007/s11738-016-2171-1.
64. Kalaji, H.M.; Jajoo, A.; Oukarroum, A.; Brestic, M.; Zivcak, M.; Samborska, I.A.; Cetner, M.D.; Łukasik, I.; Goltsev, V.; Ladle, R.J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiol. Plant.* **2016**, *38*, doi:10.1007/s11738-016-2113-y.
65. Parolin, P.; Wittmann, F. Struggle in the flood: tree responses to flooding stress in four tropical floodplain systems. *AoB Plants* **2010**, *2010*, 1–19, doi:10.1093/aobpla/plq003.
66. Mielke, M.S.; Matos, E.M.; Couto, V.B.; Almeida, A.-A.F. de; Gomes, F.P.; Mangabeira, P.A.O. Some photosynthetic and growth responses of *Annona glabra* L. seedlings to soil flooding. *Acta Bot. Brasiliica* **2005**, *19*, 905–911, doi:10.1590/s0102-33062005000400025.
67. Nowak, M.; Kleinwächter, M.; Manderscheid, R.; Weigel, H.J.; Selmar, D. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. *J. Appl. Bot. Food Qual.* **2010**, *83*, 133–136.
68. Selmar, D.; Kleinwächter, M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: The impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. *Plant Cell Physiol.* **2013**, *54*, 817–826, doi:10.1093/pcp/pct054.
69. JUNIOR, U. de O.B.; LIMA, M.D.R.; Maria; BARBOSA, A.M.; BATISTA, B.L.; LOBATO, A.K. da S. Biochemical responses of two species of eucalyptus exposed to aluminium toxicity: Oxidative stress and antioxidant metabolism. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* **2016**, *44*, 107–115, doi:10.15835/nbha44110124.
70. Sataloff, R.T.; Johns, M.M.; Kost, K.M.; Arndt, S.K.; Irawan, A.; Sanders, G.J.; Boanares, D.; Kozovits, A.R.; Lemos-Filho, J.P.; Isaias, R.M.S.; et al. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O<sub>3</sub>. *J. Exp. Bot.* **2014**, *69*, 907–912, doi:10.1071/pp9850213.

71. Silva, A.A. da; Gonçalves, R.C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **2010**, 994–1002.
72. Barbosa, M.R.; Silva, M.M. de A.; Willadino, L.; Ulisses, C.; Camara, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Cienc. Rural* **2014**, *44*, 453–460, doi:10.1590/S0103-84782014000300011.
73. Lignan, C.; Suberin, L.; Stilbenes, C.; Tannin, F. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. 435–454.
74. Møller, I.M.; Jensen, P.E.; Hansson, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2007**, *58*, 459–481, doi:10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946.
75. Hossain, Z.; López-Climent, M.F.; Arbona, V.; Pérez-Clemente, R.M.; Gómez-Cadenas, A. Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage. *J. Plant Physiol.* **2009**, *166*, 1391–1404, doi:10.1016/j.jplph.2009.02.012.
76. Cortina, C.; Culiáñez-Macià, F.A. Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Sci.* **2005**, *169*, 75–82, doi:10.1016/j.plantsci.2005.02.026.
77. Jaleel, C.A.; Manivannan, P.; Kishorekumar, A.; Sankar, B.; Gopi, R.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2007**, *59*, 150–157, doi:10.1016/j.colsurfb.2007.05.001.
78. Krasensky, J.; Jonak, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **2015**, *63*, 1593–1608, doi:10.1093/jxb/err460.Drought.
79. Liu, B.; Liang, J.; Tang, G.; Wang, X.; Liu, F.; Zhao, D. Drought stress affects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of *Juglans* rootstocks. *Sci. Hort. (Amsterdam)*. **2019**, *250*, 230–235, doi:10.1016/j.scienta.2019.02.056.
80. Thalmann, M.; Santelia, D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic

stress. **2017**, doi:10.1111/nph.14491.

81. Malik, A.I.; Colmer, T.D.; Lambers, H.; Setter, T.L.; Schortemeyer, M. Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. **2002**, *4*, 225–236.
82. Ahmed, F.; Ra, M.; Ismail, M.R.; Juraimi, A.S.; Rahim, H.A.; Asfaliza, R.; Latif, M.A. Waterlogging Tolerance of Crops : Breeding , Mechanism of Tolerance , Molecular Approaches , and Future Prospects. **2013**, *2013*.
83. Huang, B.; Johnson, J.W. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Ann. Bot.* **1975**, 427–432.
84. Malik, A.I.; Colmer, T.D. Changes in physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. **2001**, doi:10.1071/PP01089.
85. Setter, T.L.; Waters, I.; Sharma, S.K.; Singh, K.N.; Kulshreshtha, N.; Yaduvanshi, N.P.S.; Ram, P.C. Review of wheat improvement for waterlogging tolerance in Australia and India : the importance of anaerobiosis and element toxicities associated with different soils. **2009**, 221–235, doi:10.1093/aob/mcn137.
86. Fernandez, O.; Béthencourt, L.; Quero, A.; Sangwan, R.S.; Clément Christophe, C. Trehalose and plant stress responses: Friend or foe? *Trends Plant Sci.* **2010**, *15*, 409–417, doi:10.1016/j.tplants.2010.04.004.
87. Paul, M.J.; Primavesi, L.F.; Jhurreea, D.; Zhang, Y. Trehalose metabolism and signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2008**, *59*, 417–441, doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092945.

### **CAPÍTULO 3. PRODUÇÃO DE ALCALOIDES, METABOLISMO FOTOSSINTÉTICO E REFLECTÂNCIA FOLIAR EM PLANTAS DE *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO**

#### **Resumo**

O objetivo desse trabalho foi avaliar como a seca e o alagamento afetam a produção de alcaloides, o metabolismo primário e se, os sinais de estresse podem ser detectados pela espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) em plantas jovens de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. O delineamento foi em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2 (níveis de estresse: alagamento, capacidade de campo e seca x momento de avaliação: estresse e recuperação), com 3 repetições de 19 plantas por tratamento. Variáveis analisadas: trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, conteúdo relativo de água na folha (CRA), açúcares foliares, teor de alcaloides totais e liriodenina e a técnica NIRS. O metabolismo fotossintético de *A. emarginata* foi afetado pelas condições de estresse hídrico, com maior capacidade de adaptação das plantas às condições de seca do que alagamento. Na seca se observou maior concentração de amido e trealose nas folhas, e de alcaloides totais nas raízes. Sob alagamento a fluorescência da clorofila *a* foi reduzida durante o estresse e recuperação, houve maior concentração de açúcares totais, redutores, sacarose, glicose e frutose nas folhas, e de liriodenina nas raízes, com menor concentração de alcaloides totais. A técnica NIRS não se mostrou eficiente para detectar os sinais de estresse hídrico. Dessa forma a tolerância diferencial de *A. emarginata* ao estresse hídrico induz a modulação da produção de alcaloides, enquanto a maior adaptação das plantas à seca promove maior concentração de alcaloides totais, o alagamento leva ao aumento de liriodenina.

**Palavras-chave:** Annonaceae, liriodenina, fotossíntese, açúcares foliares, reflectância foliar.

## 1. Introdução

A família Annonaceae possui distribuição pantropical, apresenta grande importância evolutiva, ecológica, econômica e contribui significativamente para a diversidade de espécies arbóreas em florestas neotropicais e tropicais [1,2]. Dentre as espécies do gênero *Annona* pode-se relatar a *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, nativa do continente sul-americano [3] popularmente conhecida como dois morfotipos *A. emarginata* de “terra fria” e *A. emarginata* “mirim”[4], que ocorre em países como Bolívia, Peru, Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil, e possui presença destacada na Mata atlântica, bioma com maior disponibilidade hídrica [3].

No âmbito econômico *A. emarginata* pode ser utilizada como porta-enxerto para a produção em larga escala de mudas de atemoia (*Annona x atemoya* Mabb), pois apresenta tolerância a patógenos que atacam a raiz e colo das plantas, como por exemplo *Phytophthora nicotianae* var. parasítica, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* e pragas como *Cratosomus bombina*, apresentam também adaptações a diferentes condições de umidade e temperatura [5] e tolerância a solos secos [6].

A família Annonaceae apresenta relevância quanto a produção de metabólitos especializados como alcaloides, acetogeninas e terpenos voláteis [4]. Dentre essas classes de metabólitos especializados, os alcaloides perfazem o grupo mais diverso dentro dos compostos nitrogenados. Múltiplas atividades biológicas tem origem alcaloidal, existindo vários medicamentos disponíveis no mercado produzidos a partir de alcaloides naturais de plantas [7]. Nesse contexto, a liriodenina é o alcaloide encontrado em maior abundância na família Annonaceae [8–12], com potencial atividade antibacteriana [9], antiprotozoária [13,14], citotóxica [15,16] e antifúngica [17,18] além de ser considerada um marcador quimiotaxonômico da família [11,19].

A produção desses metabólitos depende de condições ambientais como temperatura, luz e regime hídrico [20] e se relaciona com o metabolismo primário [20,21]. Enquanto o metabolismo primário é comum a todas as espécies, os metabólitos especializados existem em grupos específicos [22]. Dessa forma o atual cenário de mudanças climáticas em que há restrições de água, especialmente pela irregularidade do regime de chuvas, com tendência de aumento do volume de precipitações com distribuição isolada, impacta a produção agrícola em muitas áreas, dentre elas, regiões

de cultivo de anonas [23,24], o que também poderá impactar a produção de metabólitos especializados.

Nesse contexto o déficit hídrico afeta diretamente sistemas ecológicos e agrícolas, haja visto que, as reações das plantas a esse tipo de estresse variam de acordo com sua intensidade e duração, bem como da espécie ou estágio de desenvolvimento [25]. Em contrapartida, o alagamento confere restrições ao cultivo de muitas espécies pela falta de adaptações a solos saturados que apresentam baixa disponibilidade de oxigênio ao sistema radicular [26].

Os efeitos do estresse hídrico tem ganhado considerável atenção, tanto em áreas naturais como em sistemas agrícolas e urbanos, o que sugere avanços nas técnicas para o seu monitoramento a fim de auxiliar o manejo de práticas ambientais considerando as mudanças climáticas [27,28], e um dos indicadores mais usados dos efeitos da seca nas plantas é a medição do estado da água na planta[20,29,30].

As técnicas tradicionalmente utilizadas para determinação do conteúdo de água nas plantas envolvem abordagens destrutivas com a remoção de folhas para as medições [27] como a câmara de pressão de Scholander et al. [31] e o conteúdo relativo de água [32]. Dessa forma a possibilidade do uso de técnicas não destrutivas como a espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) tem apresentado avanços nos últimos anos pois permite a estimativa de uma variedade de características das plantas e processos fisiológicos com base em propriedades ópticas foliares, tais como, conteúdo de água [27,33], produtos oriundo do metabolismo vegetal como açúcares foliares [34], compostos do metabolismo especializado [35], além da concentração de nutrientes [36].

A literatura é farta nas relações do metabolismo primário com o especializado sob estresse hídrico, no entanto, não há relatos de como o estresse por seca e alagamento impactam a produção de alcaloides em *A. emarginata*, tampouco suas relações com o metabolismo primário e a capacidade de detecção dos sinais do estresse pela espectroscopia do infravermelho próximo. Dessa forma, este trabalho tem por objetivo avaliar como a seca e o alagamento afetam a produção de alcaloides, o metabolismo primário e se, os sinais de estresse podem ser detectados pela espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) em plantas jovens de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Material Vegetal

As plantas jovens (mudas) de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, morfotipo “araticum de terra-fria” foram obtidas no Núcleo de Produção de Mudas de São Bento do Sapucaí, da CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica e Integrada), município de São Bento do Sapucaí – São Paulo onde foram semeadas em abril de 2019 e transplantadas para sacos plásticos de 2 litros com substrato comercial entre os meses de Junho e Julho do respectivo ano.

As mudas foram aclimatadas durante 15 dias no viveiro de mudas do departamento de Ciência Florestal, Solos e Ambiente da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Unesp – Botucatu, e em seguida foi iniciado o experimento.

### *Delineamento Experimental*

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2, com três repetições de 19 plantas por tratamento, totalizando 171 plantas e dois momentos de análise, estresse e recuperação. Os tratamentos foram constituídos por condições de estresse, representados por três níveis de água no solo (alagamento, capacidade de campo e seca) e dois momentos (estabelecimento do estresse e recuperação). No período que antecedeu o início do experimento, todas as plantas foram regadas até o início da percolação da água, na sequência deixou-se drenar e assim que parou a drenagem, indicando que o solo estava em capacidade de campo (grupo controle), as mudas foram pesadas individualmente e a partir desse ponto foi estabelecido a seca e alagamento.

Nas plantas submetidas a seca foi retirada totalmente a irrigação e para o alagamento as plantas eram mantidas constantemente em bandejas com o substrato coberto por água. Concomitante a isso para manter a capacidade de campo, a reposição da água era feita diariamente. O experimento foi realizado nos meses de junho e julho, cujas temperaturas médias em Botucatu- São Paulo variam entre 12-23°C e a umidade entre 10 -30% [37].

Após 30 dias da aplicação dos tratamentos, todas as plantas que estavam sob alagamento e seca passaram a ser mantidas em capacidade de campo por mais 17 dias a

fim de que houvesse a recuperação das condições de estresse hídrico nas quais as plantas foram submetidas.

## 2.2 Trocas Gasosas

As trocas gasosas foram avaliadas semanalmente, com três plantas de cada repetição por tratamento (totalizando 27 plantas), na 2ª ou 3ª folha completamente expandida das 9 às 11 h, com o auxílio de analisador de gás CO<sub>2</sub> e vapor d'água por radiação infra-vermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo LI-6400, LI-COR, Lincon, NE, USA) com uma luz saturante de 800 m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> determinada por meio de curva de luz.

A taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A_{net}$ , μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), a taxa de transpiração ( $E$ , mmol de água vapor m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e a condutância estomática ( $g_s$ , mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) foram determinadas. Eficiência do uso de água [EUA, μmol CO<sub>2</sub> (mmol H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup>)] foi calculada usando a razão entre CO<sub>2</sub> assimilado e a taxa de transpiração ( $A_{net} / E$ ). A eficiência de carboxilação aparente foi calculada de acordo com a razão entre a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> da folha ( $A_{net} / C_i$ , mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>).

## 2.4 Fluorescência da Clorofila a

A fluorescência da clorofila a foi realizada semanalmente no período das 9 às 11 h usando o fluorômetro (LED-Array/PAM-Module3055-FL) em 27 plantas (três repetições com 3 plantas cada por tratamento). As folhas foram aclimatadas durante período de 30 minutos no escuro cobrindo-as com papel alumínio, em seguida, foi fornecida um pulso de luz actínica de 4500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> aplicado para a obtenção da Fm (fluorescência máxima adaptada ao escuro) e Fm' (fluorescência máxima adaptada à luz). Além da fluorescência máxima da folha adaptada a luz e ao escuro, também foram obtidos os valores da Fo (fluorescência mínima adaptada ao escuro) e Fo' (fluorescência mínima adaptada a luz).

Por meio da Fm, Fo, Fm' e Fo' foram calculados o rendimento quântico máximo (Fv/Fm), eficiência quântica potencial (Fv'/Fm') Kitajima & Butler [38], rendimento quântico efetivo (ϕPSII) [39], “quenching” fotoquímico (qL) (Schreiber et al., 1986), “quenching” não fotoquímico (NPQ) [40], taxa de transporte de elétrons (ETR), considerando que 84% da luz seja absorvida pela clorofila, com 50% dos fótons ativando a clorofila do fotossistema II e 50% o fotossistema I, energia do fotossistema II que não pode ser dissipada ( $E_x$ ) e energia dissipada na forma de calor [41].

### *2.5 Análise qualitativa e quantitativa de açúcares foliares*

Para a extração dos carboidratos foliares foram usadas 36 amostras constituídas por seis repetições de 3 plantas por tratamento (alagamento, capacidade de campo e seca) em dois momentos de coleta; quando o estresse foi estabelecido (18 amostras) e, após período de recuperação (18 amostras).

A extração de açúcares solúveis totais foi realizada conforme proposto por Garcia et al. [42], assim como a extração de amido de acordo com Clegg [43]. O procedimento para determinar a concentração de açúcares solúveis totais foi feito de acordo com Morris [44], para amido foi descrita Yemm & Folkes [45], para açúcares redutores foi determinado por Miller [46] e para sacarose foi estabelecido por Passos [47].

Posteriormente separou-se 1ml do extrato de açúcar solúvel total para purificação em colunas contendo resinas de troca catiônica e aniônica Dowex, eluídas com 10 volumes de água deionizada. O material purificado teve seu pH neutralizado com hidróxido de amônio e concentrados até secagem completa em liofilizador. As amostras foram então ressuspensas em 5ml de água deionizada e analisado em cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada (HPAEDPAD) (Colluna Dionex CarboPac™ PA-100, 4x250mm) com gradiente de eluição de Hidróxido de Sódio (625mM), Água ultrapura (Milli Q) e Acetato de Sódio (0,5M). A partir dos padrões utilizados foi possível a identificação dos açúcares arabinose, frutose, glicose e trealose.

### *2.6 Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA) e Caracterização Espectral das Folhas.*

A coleta para determinar o Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA) foi realizada em 27 plantas (3 plantas por repetição para cada tratamento) no momento do estresse e 27 plantas no momento da recuperação (3 plantas por repetição para cada tratamento), coletando para cada análise, a 2ª ou 3ª folha completamente expandida no período das 9 às 11 horas. Para determinar o CRA utilizou-se a fórmula:  $CRA (\%) = ((MF-MS) / (MT-MS)) \times 100$ , onde, massa fresca é designado como MF, massa seca MS e massa túrgida MT, conforme proposto por Smart & Bingham (1974).

Para analisar a caracterização espectral através da reflectância foliar (NIRS) por meio do espectrorradiômetro também foram usadas as 27 plantas das quais se coletou folhas para avaliar o Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA). Foram coletadas três

folhas completamente expandidas para se obter média por planta e armazenadas em sacos plásticos em caixa de isopor com barras de gelo para manter a devida umidade, logo após foram transportadas para o Departamento de Biodiversidade e Bioestatística, onde a caracterização espectral das folhas foi feita com o espectroradiômetro da Ocean Optics, modelo Flame - NIR, com faixa de leitura de 966,03 a 1685,09 nm, e sensibilidade de 5,51 nm.

### 2.7 Extração de alcaloides totais

A extração de alcaloides totais foi realizada de material foliar e radicular de 60 amostras, com cerca de 5 g cada, das quais 30 correspondiam ao momento do estresse (5 repetições por tratamento, totalizando 15 amostras foliares e 15 amostras radiculares) e 30 no momento da recuperação (5 repetições por tratamento, 15 amostras foliares e 15 amostras radiculares) de *A. emarginata*, o material foi armazenado em uma estufa com circulação forçada de ar a 30°C durante dez dias, logo após, foi triturado para obter  $\pm 5$  g de massa seca para cada repetição. A extração de alcaloides foi realizada pelo método seletivo ácido base e os extratos foram armazenados no escuro. [10]

### 2.8 Análises qualitativas e quantitativas de alcaloides totais e liriodenina

Para determinar o conteúdo total de alcaloides, os 60 extratos alcaloidais, armazenados em temperatura ambiente, foram re-solubilizados com  $\text{CHCl}_3$  e transferidos para cubetas de quartzo. A absorbância de cada solução foi obtida por espectrofotômetro de 254 nm usando liriodenina, fornecida por Iván De la-Cruz-Chacón, como padrão para elaboração da curva padrão ( $y = 0,0881x - 0,0112$ ,  $R_2 = 0,9949$ ). Após a obtenção do extrato, a liriodenina foi quantificada usando 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 ( $150 \times 4,6$  mm e 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro de partícula). A fase móvel era 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. A detecção foi realizada em UV a 254 nm. Para a quantificação de liriodenina, curvas de calibração foram realizadas através da análise da série de solução estoque ( $y = 0,3595x - 0,0011$ ;  $R_2 = 0,9989$  para amostras com até 10  $\mu\text{g}$  de liriodenina no extrato e  $y = 0,3658x + 1,142$ ;  $R_2 = 0,9992$  para amostras com mais de 10  $\mu\text{g}$ ). [10]

## 2.9 *Análise Estatística*

Os dados obtidos (alcaloides totais, liriodenina, carboidratos foliares, conteúdo relativo de água na folha, fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) *two way*.

A ANOVA *two way* foi conduzida para determinar o efeito dos tratamentos (alagamento, capacidade de campo e seca) com o tempo (estresse: 30 dias; recuperação: 47 dias) e sua interação. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) [48].

### 2.9.1 *Análise Descritiva das reflectâncias foliares em função dos comprimentos de onda e do tempo*

Nesta etapa, foram obtidos gráficos box-plots para a reflectância foliar por planta em função dos comprimentos de onda (nm), segundo tratamentos e tempo (dias), como também tempo (dias) e tratamentos.

### 2.9.2 *Redução da dimensionalidade das variáveis respostas de reflectância foliar – uso da técnica de componentes principais*

Para cada unidade amostral (plantas) estão associadas 128 variáveis respostas (reflectâncias foliares em nm) obtidas pelo espectroradiômetro – o que caracteriza o aspecto multivariado do experimento. Neste sentido, para facilitar a modelagem, foi feita a redução da dimensionalidade dos dados de reflectância utilizando as técnicas multivariadas de Análise de Componentes Principais [49]. O procedimento utilizado foi *proc princomp* do programa SAS - Free Statistical Statistical Software, SAS University Edition).

A técnica de componentes principais constrói combinações lineares das variáveis aleatórias (reflectâncias para um dado comprimento de ondas) com propriedades ótimas em termos de variância [49]. Em essência, busca-se uma transformação de variáveis (coordenadas) que maximize a variância de modo que estas não sejam correlacionadas entre si.

### 2.9.3 *Função Quadrática Discriminante*

Após a redução da dimensionalidade pela técnica componentes principais, foi utilizada a técnica da função quadrática discriminante [49], que tem como base a classificação de *k* grupos através de funções lineares no espaço multidimensional

utilizando-se de métricas como distância euclidianas e distância de Mahalanobis – que leva em consideração a matriz de variância e covariância das observações. Assim, foi possível obter a validação cruzada – probabilidade de má classificação, que nos informa sobre o percentual de acerto e de erro do modelo obtido via componentes principais. O procedimento utilizado foi *proc discrim* do programa SAS - *Free Statistical Statistical Software, SAS University Edition*).

#### 2.9.4 *Efeitos dos tratamentos nos componentes principais*

Nesta etapa foram ajustados modelos lineares generalizados considerando distribuição normal, considerando como as variáveis resposta o primeiro componente principal e como fatores os tratamentos, para o tempo igual a 30 dias. Foi utilizado o procedimento *genmod* do Programa estatístico SAS – *Free Statistical Statistical Software, SAS University Edition* e para comparações entre tratamentos foi utilizado foi o teste de Tukey. A qualidade de ajuste dos modelos foi feita através da análise de desvios (deviance), gráficos dos resíduos de Pearson padronizados.

#### 2.9.5 *Efeitos do tempo após o início do experimento nos componentes principais*

Nesta etapa foram ajustados modelos lineares generalizados considerando distribuição normal, considerando como as variáveis resposta o primeiro componente principal e como fatores os tempos (0 e 30 dias). Foi utilizado o procedimento *genmod* do Programa estatístico SAS – *Free Statistical Statistical Software, SAS University Edition* e para comparações entre tratamentos foi utilizado foi o teste de Tukey. A qualidade de ajuste dos modelos foi feita através da análise de desvios (deviance), gráficos dos resíduos de Pearson padronizados.

#### 2.9.6 *Efeitos dos tratamentos nas 128 variáveis de reflectância foliar*

Nesta etapa foram ajustados modelos lineares gaussianos (ANOVA), considerando como variáveis resposta cada um dos 128 dados de reflectância foliar e como fatores os tratamentos, segundo o tempo (dias) do experimento.

### 3. Resultados

Ao analisar os resultados, verificou-se que o estresse hídrico provocou variações tanto no metabolismo primário como especializado. A fim da melhor compreensão dos processos, serão apresentados os resultados do metabolismo primário e em seguida suas relações com a produção de alcaloides.

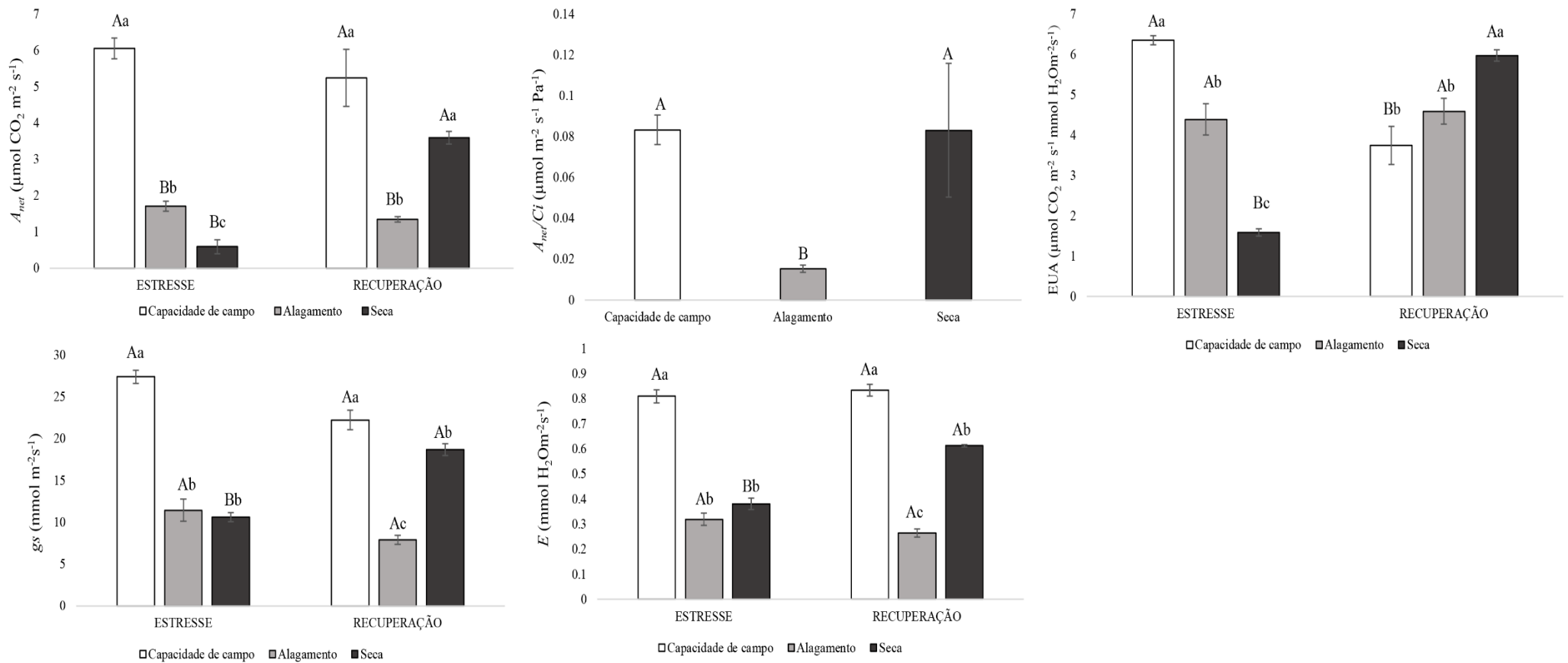
De modo geral, o metabolismo fotossintético de *Annona emarginata* foi afetado pelas condições de estresse hídrico, com maior capacidade de adaptação das plantas às condições de seca do que alagamento (Figuras 1 e 2).

Durante o período do estresse, as plantas mantidas na seca apresentaram a menor taxa de assimilação de carbono ( $A_{net}$ ), enquanto sob alagamento a resposta foi intermediária, e ambas tiveram menor desempenho em relação às mantidas em capacidade de campo. No entanto, as plantas que estavam sob condições de seca se recuperaram de modo mais efetivo (maior  $A_{net}$ ) do que as que haviam sofrido o alagamento, se assemelhando às mantidas em capacidade de campo. A eficiência de carboxilação da enzima Rubisco ( $A_{net}/C_i$ ) também foi menor em plantas mantidas no alagamento, sem haver efeito entre o momento de estresse e da recuperação. A manutenção da eficiência da rubisco em plantas sob seca indica adaptação da *A. emarginata* a esta condição de estresse (Figura 1).

A transpiração ( $E$ ) e a condutância estomática ( $g_s$ ) das plantas mantidas sob restrição hídrica (seca) ou alagamento foram semelhantes e apresentaram redução em relação às mantidas em capacidade de campo. Todavia, quando a condição hídrica foi restabelecida, as plantas da seca elevaram a  $E$  e  $g_s$  a patamares intermediários entre alagamento e capacidade de campo, enquanto as plantas alagadas continuaram com os menores valores dessas variáveis. Este aumento na transpiração das plantas de seca refletiu na maior eficiência do uso da água (EUA) após a recuperação dessas plantas (Figura 1), uma vez que haviam aumentado a captação de  $CO_2$  ( $A_{net}$ ).

O fato de as plantas alagadas não apresentarem aumento na  $E$  e  $g_s$  na condição de recuperação hídrica pode indicar dano no aparato estomático. Ao mesmo tempo, as plantas que haviam sofrido estresse por seca demonstraram capacidade de adaptação no momento da recuperação, uma vez que a eficiência fotossintética foi elevada (semelhante

a capacidade de campo), sem aumentar a perda de água, o que levou a maior eficiência no uso da água.

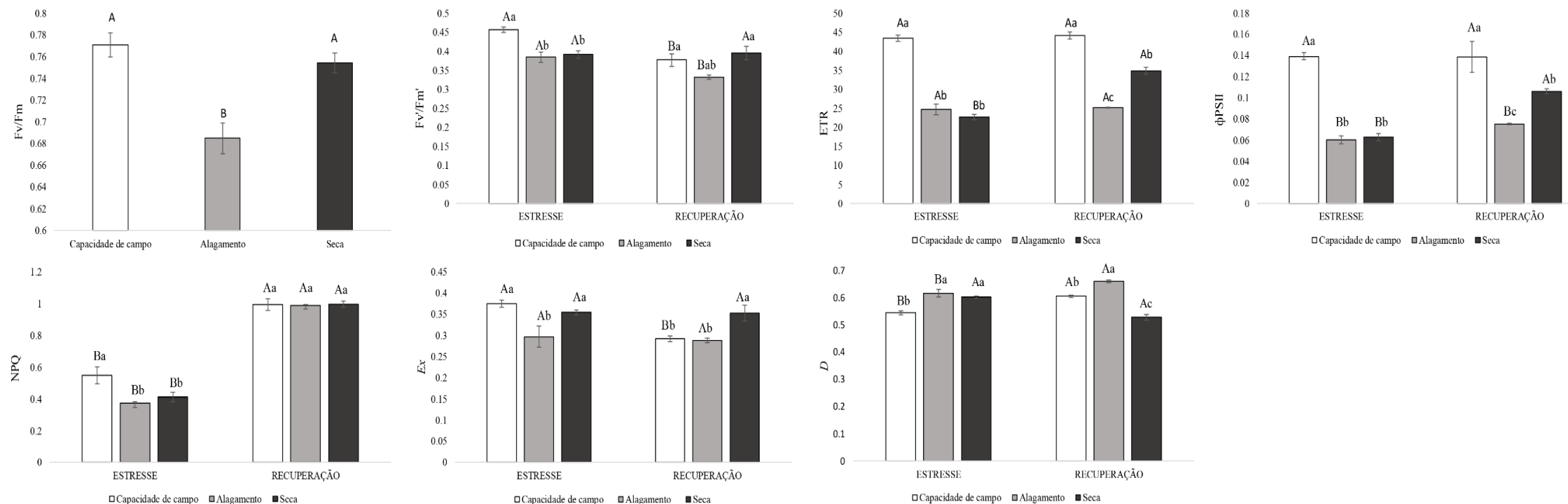


**Figura 1:** Taxa de assimilação de carbono ( $A_{net}$ ), eficiência de carboxilação da Rubisco ( $A_{net}/C_i$ ), eficiência do uso da água (EUA), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração ( $E$ ) em plantas de *Annona emarginata emarginata* mantidas em capacidade de campo, alagamento e seca durante o estresse e posterior recuperação. **Taxa de assimilação de carbono ( $A_{net}$ ):** Níveis de estresse  $p < 0.001 / f = 224.589$ . Momento  $p = 0.308 / f = 1.098$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001 / f = 115.505$ . **Eficiência de carboxilação da Rubisco ( $A_{net}/C_i$ ):** Níveis de estresse  $p = 0.008 / f = 6.346$ . **Eficiência do uso da água (EUA):** Níveis de estresse  $p = 0.002 / f = 9.478$ . Momento  $p = 0.013 / f = 7.632$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001 / f = 72.639$ . **Condutância estomática ( $g_s$ ):** Níveis de estresse  $p < 0.001 / f = 149.203$ . Momento  $p = 0.775 / f = 0.0843$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001 / f = 32.582$ . **Transpiração ( $E$ ):** Níveis de estresse  $p < 0.001 / f = 328.017$ . Momento  $p < 0.001 / f = 15.607$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001 / f = 25.245$ . Médias seguidas de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os momentos de avaliação (estresse  $\times$  recuperação) e médias com letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Além das evidências observadas nas trocas gasosas, as variáveis da fluorescência da clorofila *a* também foram impactadas no estabelecimento do estresse e durante a recuperação (Figura 2).

O alagamento provocou redução no rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ) indicando perturbações no fotossistema II. No momento do estresse observou-se redução da eficiência quântica potencial ( $F_v'/F_m'$ ), rendimento quântico efetivo ( $\phi_{PSII}$ ), taxa de transporte de elétrons (ETR) e “quenching” não fotoquímico (NPQ) tanto nas plantas mantidas no alagamento como na seca. No entanto, o excesso de energia do fotossistema II que não pode ser dissipada ( $E_x$ ) foi menor somente na condição de alagamento. E a dissipação de energia na forma de calor ( $D$ ) foi elevada nas plantas em ambas as condições.

As plantas mantidas na restrição hídrica se recuperaram de forma mais efetiva que as mantidas no alagamento, no entanto, sem alcançar as mesmas respostas daquelas que não sofreram estresse hídrico (capacidade de campo). As plantas reidratadas apresentaram maiores valores para taxa de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico efetivo ( $\phi_{PSII}$ ), excesso de energia do fotossistema II que não pode ser dissipada ( $E_x$ ) e menor dissipação de energia na forma de calor ( $D$ ). Por outro lado, não foram observadas diferenças na recuperação de plantas oriundas do alagamento e seca em relação ao “quenching” não fotoquímico (NPQ) e eficiência quântica potencial ( $F_v'/F_m'$ ).



**Figura 2:** Rendimento quântico máximo (Fv/Fm), eficiência quântica potencial (Fv'/Fm'), taxa de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico efetivo (φPSII), “quenching” não fotoquímico (NPQ), energia do fotossistema II que não pode ser dissipada (Ex) e energia dissipada na forma de calor (D) em plantas de *Annona emarginata* mantidas em capacidade de campo, alagamento e seca durante o estresse e posterior recuperação. **Rendimento quântico máximo (Fv/Fm):** Níveis de estresse p<0.001 / f=47.713. **Eficiência quântica potencial (Fv'/Fm'):** Níveis de estresse p<0.001/f=11.051. Momento p<0.001/f=17.187. Níveis de estresse × Momento p=0.012 / f= 5.734. **Taxa de transporte de elétrons (ETR):** Níveis de estresse p<0.001/f=250.009. Momento p<0.001/f=37.442. Níveis de estresse × Momento p<0.001 / f= 28.267. **Rendimento quântico efetivo (φPSII):** Níveis de estresse p<0.001/f=65.064. Momento p<0.001/f=65.064. Momento p=0.002/f=13.062. Níveis de estresse × Momento p=0.01 / f= 5.783. **“quenching” não fotoquímico (NPQ):** Níveis de estresse p=0.025/f=4.582. Momento p<0.001/f=478.074. Níveis de estresse × Momento p= 0.03 / f= 4.294. **Energia do fotossistema II que não pode ser dissipada (Ex):** Níveis de estresse p=0.001/f=10.068. Momento p0.013/f=7.668. Níveis de estresse × Momento p=0.016 / f= 5.270. **Energia dissipada na forma de calor (D):** Níveis de estresse p<0.001/f=45.785. Momento p0.145/f=2.320. Níveis de estresse × Momento p<0.01 / f= 38.589. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os momentos de avaliação (estresse x recuperação) e médias com letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos (p<0,05).

Em síntese, as plantas de *A. emarginata* apresentaram adaptação às condições de restrição hídrica, conforme as respostas observadas no metabolismo primário, o que pode ter refletido no aumento da concentração de alcaloides totais nas raízes, enquanto o estresse por alagamento não provocou variações significativas (Figura 3).

O Conteúdo Relativo de Água na Folha (CRA) também foi impactado pelos tratamentos, de modo que no estresse hídrico foram obtidos os menores valores de CRA, indicando, portanto, que houve menor entrada de água nas plantas, e durante a recuperação houve aumento dessa variável em todos os tratamentos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Conteúdo Relativo de Água na folha (CRA %) em plantas de *A. emarginata* mantidas em capacidade de campo, alagamento e seca durante o estresse e posterior recuperação estresse hídrico e recuperação

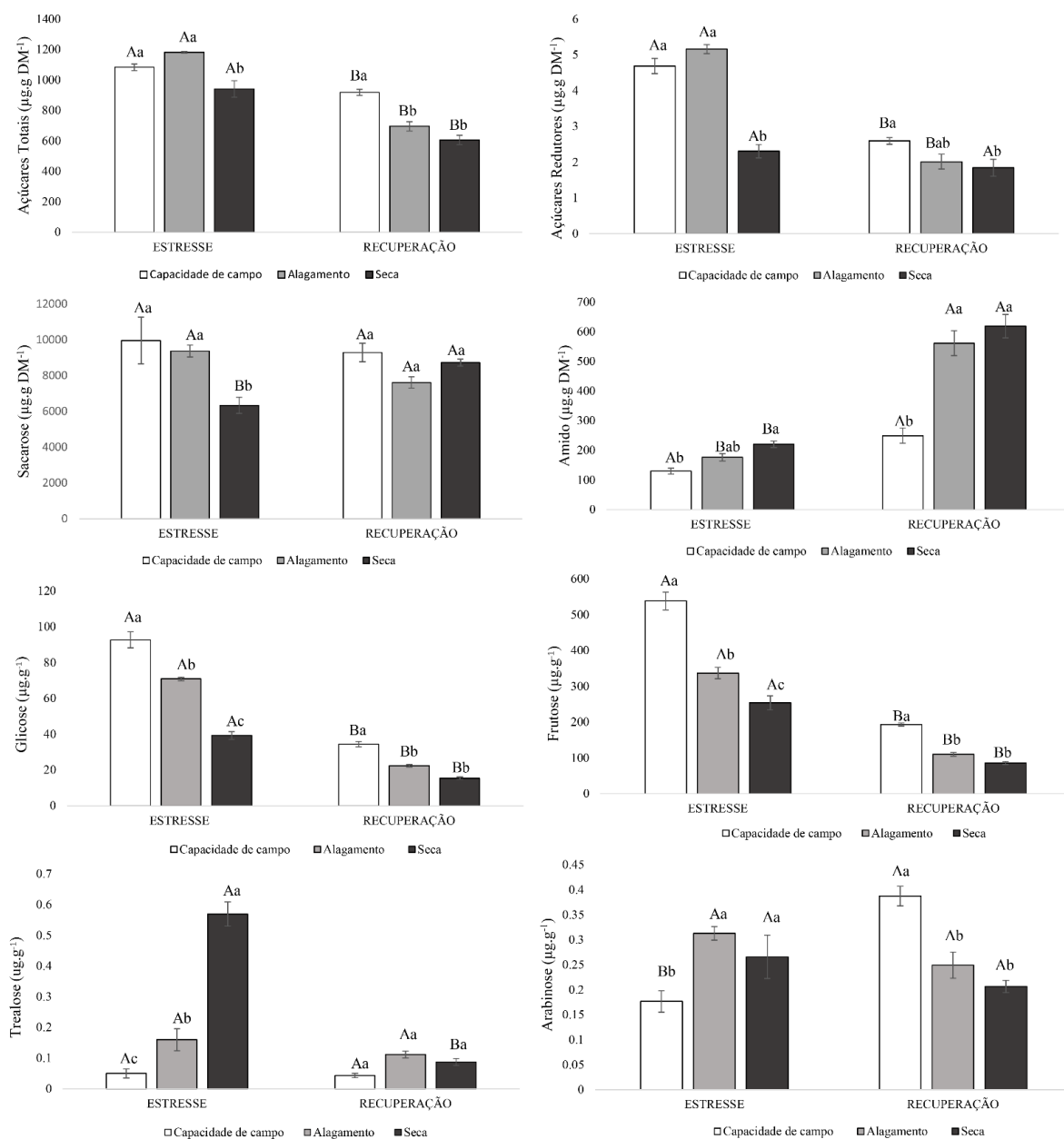
<b>Conteúdo relativo de água na folha (CRA%)</b>		
	<b>Estresse</b>	<b>Recuperação</b>
<b>Capacidade de campo</b>	53.82 ± 1.72 Ba	75.24 ± 0.99 Aa
<b>Alagamento</b>	58.42 ± 1.67 Ba	70 ± 2.30 Aa
<b>Seca</b>	46 ± 2.3642 Bb	72.45 ± 1.19 Aa

**CRA:** Níveis de estresse  $p=0.009/f=5.590$ . Momento  $p<0.001/f=185.914$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p<0.001/f=9.036$ . Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey 5% ( $p<0,05$ ). Letras maiúsculas comparam momentos diferentes (estresse  $\times$  recuperação), letras minúsculas comparam os tratamentos dentro de um mesmo momento.

Os açúcares e carboidratos foliares foram afetados em função das condições de estresse e posterior recuperação nas quais as plantas foram mantidas (Figura 3).

No momento do estresse as concentrações de açúcares totais, redutores, sacarose, glicose e frutose foram maiores quando as plantas estavam sob alagamento. Entretanto, as concentrações de amido e trealose foram superiores sob o tratamento de seca, para arabinose não houve diferença em ambas as condições (alagamento e seca).

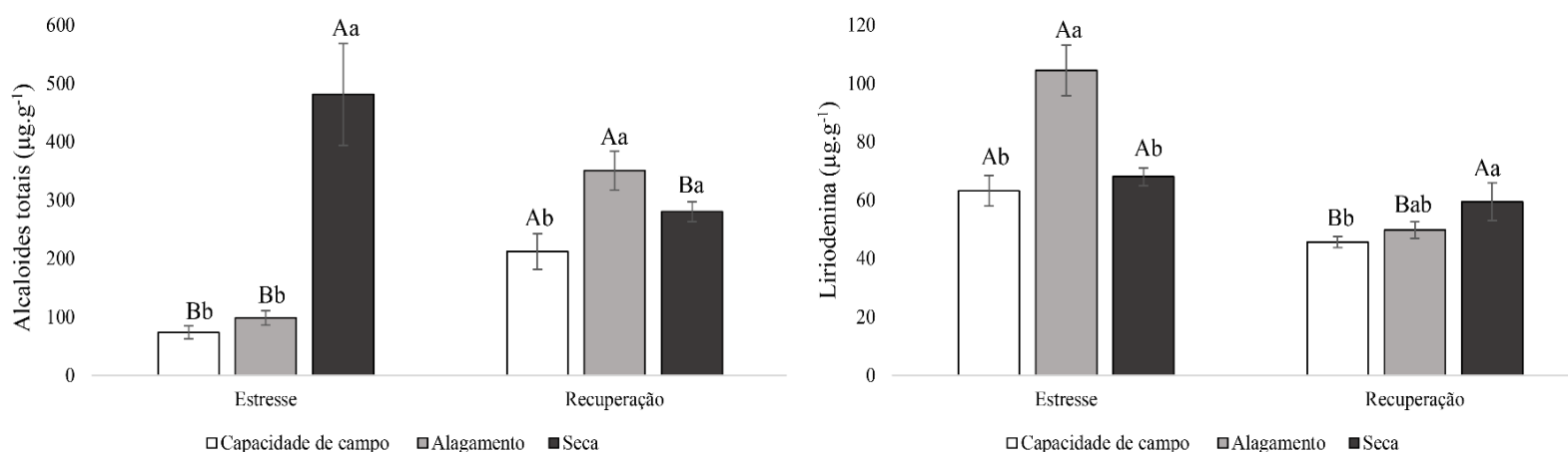
Quando as plantas foram submetidas a recuperação, houve aumento de amido, sacarose e trealose tanto em plantas de alagamento como de seca. Enquanto isso, as concentrações de açúcares totais, arabinose, frutose e glicose foram menores nas condições de recuperação (alagamento e seca) se comparadas com a capacidade de campo. E a concentração de açúcares redutores foi menor quando as plantas foram reidratadas



**Figura 3:** Açúcares totais ( $\mu\text{g g DM}^{-1}$ ), açúcares redutores ( $\mu\text{g.g DM}^{-1}$ ), sacarose ( $\mu\text{g.g DM}^{-1}$ ), amido ( $\mu\text{g.g DM}^{-1}$ ), glicose ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), frutose ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ), trealose ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) e arabinose ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) em plantas de *Annona emarginata* mantidas em capacidade de campo, alagamento e seca durante o estresse e posterior recuperação. **Açúcares totais:** Níveis de estresse  $p < 0.001/f = 29.009$ . Momento  $p < 0.001/f = 169.820$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 13.578$ . **Açúcares redutores:** Níveis de estresse  $p < 0.001/f = 46.475$ . Momento  $p < 0.001/f = 159.753$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 26.994$ . **Sacarose:** Níveis de estresse  $p = 0.015/f = 5.399$ . Momento  $p = 0.982/f = 0.0001$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p = 0.012/f = 5.662$ . **Amido:** Níveis de estresse  $p < 0.001/f = 40.220$ . Momento  $p < 0.001/f = 187.663$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 17.010$ . **Glicose:** Níveis de estresse  $p < 0.001/f = 135.062$ . Momento  $p < 0.001/f = 585.954$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 32.354$ . **Frutose:** Níveis de estresse  $p < 0.001/f = 93.320$ . Momento  $p < 0.001/f = 414.968$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 18.504$ . **Trealose:** Níveis de estresse  $p < 0.001/f = 28.420$ . Momento  $p < 0.001/f = 24.952$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 29.150$ . **Arabinose:** Níveis de estresse  $p = 0.211/f = 1.699$ . Momento  $p = 0.186/f = 1.890$ . Níveis de estresse  $\times$  Momento  $p < 0.001/f = 19.658$ . Médias seguidas de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os momentos de avaliação (estresse  $\times$  recuperação) e médias com letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Curiosamente, a concentração de liriodenina nas raízes foi significativamente superior em plantas alagadas no momento do estresse, demonstrando que essa condição de fornecimento de água apesar de não ter gerado alta concentração de alcaloides totais, favoreceu a produção do alcaloide liriodenina (Figura 4).

Quando imposta a recuperação do estresse, pode-se observar que, plantas anteriormente alagadas tiveram a produção de alcaloides totais superior às reidratadas e houve incremento na concentração de liriodenina plantas vindas da restrição hídrica, não diferindo, contudo, de plantas que passaram pelo alagamento.



**Figura 4.** Concentração de alcaloides totais e liriodenina em raízes de plantas jovens de *Annona emarginata* submetidas ao estresse hídrico e recuperação. **Alcaloides totais:** Níveis de estresse × Momento  $p < 0.001$  /  $f = 16.320$ . **Liriodenina:** Níveis de estresse × Momento  $p = 0.002$  /  $f = 10.916$ . Médias seguidas de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os momentos de avaliação (estresse x recuperação) e médias com letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Onze alcaloides foram identificados nas raízes a partir dos padrões utilizados, sendo que nove deles estão presentes em todos os tratamentos, tanto no estresse como recuperação, e dez alcaloides foram identificados em folhas dos quais sete alcaloides estavam presentes tanto no estresse quanto recuperação (Tabela 2).

**Tabela 2.** Presença (x) e ausência (-) de alcaloides em raízes e folhas de *Annona emarginata* mantidas em capacidade de campo (C. de campo), alagamento e seca durante o estresse e posterior recuperação estresse hídrico e recuperação.

Alcaloides	Raiz						Folha					
	Estresse			Recuperação			Estresse			Recuperação		
	C. de campo	Alagamento	Seca	C. de campo	Alagamento	Seca	C. de campo	Alagamento	Seca	C. de campo	Alagamento	Seca
Reticulina	-	-	-	x	x	-	-	-	-	-	-	-
Norpredicentina	x	x	x	-	-	-	x	-	x	-	-	-
N-Metil-Laurotetanina	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Norglaucina	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Discretina	-	x	-	x	x	-	x	x	x	x	x	x
Xilopinina	x	x	x	x	x	x	x	-	x	-	-	-
Xilopina	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Assimilobina	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-
Laurotetanina	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Liriodenina	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Oxoglaucina	x	x	x	x	x	x	-	-	-	x	-	-
Lanulinosina	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

No entanto, embora tenha ficado claro o efeito do estresse hídrico na alteração fotossintética e produção de alcaloides de *A. emarginata*, demonstrando inclusive capacidade da planta se recuperar do estresse por seca, não foram detectadas variações significativas em relação a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) (Tabela 1- Material suplementar).

Outro fator a ser considerado é que mesmo reduzindo a dimensionalidade das variáveis respostas de reflectância foliar pela técnica de componentes principais, respectivamente em dois componentes principais, não foi suficiente para identificar diferenças, o que pode ser resultado da grande variabilidade dos dados no momento do estresse (Tabela 2 e 3; Figura 1 - Material suplementar).

Em relação ao número de observações, percentual de classificação e taxa de erro da validação cruzada (Tabela 4 – Material suplementar) pode-se observar que no período que antecede o experimento (Tempo em dias = 0) foi maior para seca, ou seja, das 4 amostras utilizadas o tratamento classificado (Seca) foi exatamente igual ao tratamento original, correspondendo a 100 % de acerto, o que não foi observado para os outros tratamentos tanto no período que antecede o experimento (Tempo 0) nem no pico do estresse (Tempo em dias = 30, correspondendo a trinta dias após o início do experimento).

Dessa forma não houve diferenças significativas nos dados referentes à espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS), ou seja, dos 128 modelos lineares ajustados nenhum foi significativo para os tratamentos ( $p > 0.005$ ). Assim, nenhum dos 128 comprimentos de onda pode ser explicado estatisticamente pelos tratamentos.

#### 4. Discussão

A diminuição da condutância estomática ( $g_s$ ) em plantas de *A. emarginata* submetidas a restrição hídrica indica que através de uma restrição mecânica houve menor perda de água, essa é uma das primeiras reações de plantas submetidas a situações adversas de fornecimento de água [30]. Devido ao fechamento estomático, o conteúdo relativo de água na folha (CRA) também diminuiu, segundo Lawlor et al. [50] em muitas espécies quando o CRA decai para aproximadamente 70-60 % a fotossíntese reduz irreversivelmente, no entanto, nesse experimento em parte isso não aconteceu, pois, o tratamento de reidratação apresentou recuperação parcial das trocas gasosas.

O alagamento também causou fechamento estomático em *A. emarginata*. De acordo com Oliveira & Gualtieri [51] as reduções na  $g_s$  em plantas alagadas podem ser induzidas pelo aumento de ácido abscísico (ABA) e síntese de etileno, ademais, com a diminuição dos níveis de  $O_2$  disponíveis devido a hipoxia do solo, os espaços anteriormente ocupados pelo ar são preenchidos com água, além de levar ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) [52].

Logo, com as mudanças na  $g_s$ , houve declínio das taxas transpiratórias ( $E$ ) e segundo Wan et al. [53] quase toda a água das folhas é perdida através de minúsculos poros estomacais, com isso, a transpiração estomática é responsável por cerca de 90% da perda de água pelas folhas.

O declínio na taxa de assimilação de carbono ( $A_{net}$ ), tanto no alagamento como na seca, ocorreu devido ao fechamento estomático que aumenta a resistência de entrada de  $CO_2$ , a mesma situação foi observada por Mantoan et al. [54] em plantas de *A. emarginata* submetidas a restrição hídrica. Vale ressaltar ainda que, a menor  $A_{net}$  não foi devido a alteração da atividade da rubisco, uma vez que, a eficiência de carboxilação não se alterou em plantas mantidas na seca. Com a reidratação, observou-se regeneração total da  $A_{net}$  e, segundo Chaves et al [55] em muitas espécies essa regeneração pode acontecer de forma rápida e completa

Em relação ao alagamento, as plantas de *A. emarginata* também apresentaram menor  $A_{net}$ , o mesmo foi relatado por Martinazzo et al. [26] em espécies do gênero *Prunus* alagadas, o que pode ter levado a menor eficiência de carboxilação da enzima rubisco ( $A_{net}/C_i$ ). Ashraf & Harris [56] defendem que a  $A_{net}$  de plantas submetidas a estresse hídrico também pode ser limitada devido a danos no aparato fotoquímico que são

responsáveis pela geração de energia utilizada para redução do CO<sub>2</sub>. Com a recuperação de plantas mantidas sob alagamento observa-se que não houve total regeneração da  $A_{net}$ , segundo Bogeat-Triboulot et al. [57] e Chaves et al. [55] em alguns casos há apenas uma taxa de 40 a 60% de regeneração da taxa de assimilação de carbono.

A alta eficiência de carboxilação ( $A_{net}/C_i$ ) encontrada em plantas submetidas a seca mostra que, independentemente do momento de estresse, as plantas de *A. emarginata* mantiveram o eficiente funcionamento da enzima Rubisco, esta  $A_{net}/C_i$  alta mesmo com menor  $g_s$  e  $E$  parece ser característico das anonas, uma vez que Honório et al. [58] também observaram as mesmas respostas em *A. crassiflora*.

Analisando a eficiência do uso da água (EUA) pode-se observar que essa espécie quando mantida em alagamento conseguiu aproveitar substancialmente a entrada de CO<sub>2</sub> e esse padrão se repetiu com a recuperação das plantas submetidas a restrição hídrica, o que em conformidade com Mantoan et al. [54] em *A. emarginata* mesmo a diminuição na  $g_s$  e  $E$  há o aumento da EUA sem perdas significativas nas taxas fotossintéticas.

Estas respostas em relação a redução da  $A_{net}/C_i$  provocado pelo alagamento comprova que o estresse provocou danos no aparato fotossintético, dessa forma há alterações nos padrões de fluorescência da clorofila *a* mudando os caminhos de dissipação de energia da luz, conforme proposto por Kalaji et al. [59]. É importante ressaltar que, a energia luminosa absorvida pelas moléculas de clorofila pode ser destinada a três caminhos diferentes: i) impulsionando a fotossíntese através das reações fotoquímicas; ii) dissipando o excesso de energia em forma de calor e; iii) reemitindo na forma de fluorescência [60,61]. Esses processos acontecem de forma concorrente de modo que, qualquer aumento de um resultará na diminuição dos outros dois [60,62].

Dentre esses fatores, o que se observou nesse experimento, foi que, os danos no aparelho fotossintético foram evidenciados pelos menores valores de rendimento quântico máximo (Fv/Fm) no alagamento. O mesmo foi relatado por Honório et al. [58] em *Annona crassiflora* e essa variável mede o funcionamento intrínseco do PSII refletindo a alta sensibilidade desse fotossistema a estresses ambientais [62] além disso, em condição de capacidade de campo as plantas de *A. emarginata* apresentaram valores aproximados em 0,78, podendo considerar que não estão em estresse haja visto que, em muitas espécies vegetais quando não estão em estresse, o valor de Fv/Fm fica em aproximadamente 0,83 [60].

Na condição de alagamento e seca houve uma menor proporção de luz absorvida vista pela eficiência quântica potencial ( $Fv'/Fm'$ ), com essa medição é possível estimar a proporção de luz absorvida que é efetivamente utilizada na fase fotoquímica do PSII [60]. Neste contexto, através dados de *A. emarginata* observa-se uma fotoinibição e com isso menor taxa de transporte de elétrons (ETR) refletindo diretamente em um menor rendimento quântico efetivo ( $\phi$ PSII), conforme proposto por Tian et al. [63]. Vale ressaltar que, sob estresse e posterior recuperação os danos referentes a fluorescência da clorofila *a* foram mais evidentes em plantas de *A. emarginata* submetidas ao alagamento, indicando que essa condição de fornecimento de água foi mais prejudicial para a espécie.

Considerando que os valores da dissipação em forma de calor (*D*) foram maiores para ambas as condições de estresse, esperava-se que o valores do “quenching” não fotoquímico (NPQ) também fossem altos, isso porque ele é responsável pela conversão de uma grande quantidade de energia luminosa absorvida em calor [64], mas o que foi observado é que sob estresse os valores de NPQ foram baixos o que parece ser característico da espécie o que parece ser característico da espécie, uma vez que Mantoan et al. [6] também não encontrou essa relação. Ademais, mudanças sutis na ETR podem modular o desempenho do NPQ [60].

Em plantas não estressadas os valores de NPQ podem ser esperados na faixa de 0,5 a 3,5 [60], no entanto, isso varia acentuadamente entre as espécies, neste estudo, plantas de *A. emarginata* em capacidade de campo, demonstraram valores entre 0,5 e 0,6, quando a recuperação do estresse foi imposta, houve aumento dos valores NPQ para uma faixa esperada, porém não houve diferença entre os tratamentos, mostrando que isso foi efeito da recuperação.

Logo, para evitar os danos causados pelo excesso de energia houve maior dissipação na forma de calor dissipado pelas antenas (*D*) principalmente em plantas alagadas, semelhante também ao que foi relatado por Honório et al. [58], situação essa que se manteve mesmo com a recuperação do estresse. Cabe salientar ainda que, os menores valores da energia do fotossistema II que não pode ser dissipada (*Ex*) no alagamento pode indicar uma redução do fluxo de elétrons que seriam destinados à produção de esqueletos carbônicos utilizados no metabolismo especializado, como os alcaloides [65], o que somente ocorreu neste experimento quando as plantas estavam mantidas na condição de seca tanto no estresse como na recuperação.

Na literatura já está bem embasado que o estresse hídrico por seca leva ao aumento de substâncias do metabolismo especializado, dentre elas, os alcaloides [20,29,66,67] e as raízes são o principal órgão de produção de alcaloides em plantas do gênero *Annona* [10]. Neste experimento dentre os alcaloides identificados, a presença de N-Metil-Laurotetanina, Norglaucina, Laurotetanina, Lanulinosina, Liriodenina e Xilopina em raízes e folhas de todos os tratamentos, tanto no estresse como recuperação, podem ter atuado com papel antioxidante e, no caso específico dos alcaloides isoquinolínicos há o potencial de inibir a peroxidação lipídica, através da eliminação do oxigênio singlete [68], Mimi et al. [4] trabalhando com *A. emarginata* também detectaram a presença destes alcaloides em material radicular.

Em especial no gênero *Annona* já foi descrito que a seca induz o aumento de liriodenina [58,69], alcaloide oxoaporfínico registrado em mais de 250 espécies [10,11] que apresenta potencial atividade antibacteriana [9], antiprotozoária [13,14], citotóxica [9,16] e, atividades antifúngicas [17]. No entanto, em plantas de *A. emarginata*, o alagamento fez com que aumentasse a concentração de liriodenina (cerca de  $110 \mu \text{g}^{-1}$ ) nas raízes cerca de duas vezes a mais do que nas plantas mantidas na seca. Ressalta-se que este é o primeiro relato da presença e quantificação de liriodenina na espécie sob alagamento.

O acúmulo de alcaloides em determinadas situações pode indicar ajuste osmótico celular devido ao acúmulo de osmólitos precursores, como os aminoácidos, carboidratos e açúcares. Com isso, podem ocorrer mudanças no potencial hídrico da planta favorecendo a absorção de água mesmo sob estresse hídrico. Deste modo nesse experimento, mesmo em condições de redução de água no solo, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* não foram negativamente afetadas e ainda ocorreu a produção de alcaloides.

Ainda em relação a presença de osmólitos sob alagamento as plantas de *A. emarginata* acumularam açúcares totais, redutores e sacarose semelhante aos resultados encontrados por Henrique et al. [70] e, de acordo com esses autores, nesse tipo de estresse há redução na taxa de translocação de carboidratos das folhas para as raízes, além de diminuir o crescimento vegetal e reduzir as atividades metabólicas, dessa forma a demanda por carboidratos diminui levando ao acúmulo desses fotossintatos nas folhas.

Em contrapartida, a concentração de sacarose foi menor em plantas submetidas a seca e essa situação pode ser explicada, segundo Kuai et al. [71], pelo fato de que, esse açúcar pode ser utilizado de duas formas: i) diretamente via glicólise ou; ii) transcolado dentro da planta, através do floema para tecidos “sumidouros”, de tal modo que quando imposta a recuperação nas plantas, a concentração de sacarose não diferiu entre os tratamentos.

A seca provocou aumento na concentração de amido nas folhas de *A. emarginata* assim como relatado por Filho & Carvalho [72], não diferindo contudo do alagamento de maneira concomitante a Honorio et al. [58], esse carboidrato faz parte do “pool” móvel de carbono dentro da planta [72], vale ressaltar ainda que, em células fotossintéticas, o amido pode ser sintetizado e temporariamente armazenado nos cloroplastos, sendo este amido “transitório”, portanto, sintetizado e degradado em outros açúcares dentro de uma janela de 24 horas, influenciando a alocação de carbono por toda a planta e assim mitiga o efeito negativo do estresse [73–75].

Outro aspecto a ser observado quanto a capacidade das plantas de *A. emarginata* em tolerar o estresse hídrico foram os baixos teores de glicose e frutose no momento do estresse independente da condição de fornecimento de água, de acordo com Liu et al. [74] esses açúcares são utilizados na formação do amido “transitório”. O aumento da trealose nas folhas de *A. emarginata* submetidas a seca é semelhante ao que foi encontrado por Cortina & Culiñez-Macià [76], esse dissacarídeo, que atua como um soluto compatível com osmólitos, age na estabilização de enzimas, proteínas e membranas lipídicas contra a desnaturação em situações de restrição hídrica [76,77], além de reduzir a agregação de proteínas desnaturadas [78].

No que se refere a arabinose, a alta concentração desse monossacarídeo em plantas submetidas ao estresse seja por excesso ou por falta de água, corrobora com os resultados encontrados por Moore et al. [79], esses autores defendem que, o acúmulo desse açúcar induz a uma flexibilização das paredes celulares de células fotossintéticas durante o estresse hídrico, facilitando recuperação posterior das plantas, e esse pode ser um dos motivos pelo qual a concentração desse açúcar foi menor quando as plantas foram submetidas a recuperação.

A partir das condições de estresse estabelecidas não foi possível detectar diferenças significativas em relação a reflectância foliar, mesmo com o aparecimento de

sintomas de estresse como redução CRA e alterações nas trocas gasosas, ao contrário do que foi relatado por Cotrozzi et al. [27] em *Quercus oleoides* Schltl. & Cham., como também, Strabeli et al. [80] em eucalipto (*Eucalyptus* spp.), El-Hendawy et al. [33] com trigo (*Triticum* spp.) e Valverde et al. [81] em plântulas de *Gmelina arborea* Roxb., que de forma geral, estudaram como o conteúdo de água afeta o comportamento espectral nas plantas.

Vale ressaltar que, nos casos de estresses hídricos, alterações na reflectância somente serão indicadores de estresse quando as plantas estão sob severa desidratação foliar [82] e a espécie *A. emarginata* apresenta tolerância a solos secos, o que pode justificar o fato de não terem sido detectadas diferenças nas reflectâncias foliares. Deste modo, mesmo com características visuais de desidratação, tais alterações não foram suficientes para alterar metabolicamente o aparato foliar de modo a demonstrar variações significativas nas reflectâncias.

## 5. Conclusão

As plantas de *Annona emarginata* são afetadas pelas condições hídricas de seca e alagamento. O alagamento em geral causa maior dano nas trocas gasosas como também na fluorescência da clorofila *a*, no entanto provoca aumento na concentração do alcaloide liriodenina. Por outro lado, o estresse por seca causa menor dano aparato fotossintético, com maior capacidade de recuperação, e incrementou a produção de alcaloides totais. A *Annona emarginata*, embora seja espécie nativa da Mata atlântica, bioma com elevada disponibilidade hídrica, apresenta maior adaptação a períodos de seca do que alagamento.

## Referências

1. Chatrou, L.W.; Erkens, R.H.J.; Richardson, J.E.; Saunders, R.M.K.; Fay, M.F. The natural history of Annonaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* **2012**, *169*, 1–4, doi:10.1111/j.1095-8339.2012.01242.x.
2. Couvreur, T.L.P.; Helmstetter, A.J.; Koenen, E.J.M.; Bethune, K.; Brandão, R.D.; Little, S.A.; Sauquet, H.; Erkens, R.H.J. Phylogenomics of the major tropical plant family annonaceae using targeted enrichment of nuclear genes. *Front. Plant Sci.* **2019**, *9*, doi:10.3389/fpls.2018.01941.
3. Maas, P.J.M.; De Kamer, H.M.; Junikka, L.; De Mello-Silva, R.; Rainer, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. *Rodriguesia* **2001**, *52*, 61–94, doi:10.1590/2175-78602001528005.
4. Mimi, C.O.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Sousa, M.C.; Vieira, M.A.R.; Marques, M.O.M.; Ferreira, G.; Boaro, C.S.F. Chemophenetics as a Tool for Distinguishing Morphotypes of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. *Chem. Biodivers.* **2021**, *18*, 1–14, doi:10.1002/cbdv.202100544.
5. Neto, J.E.B.; Pio, R.; Bueno, S.C.S.; Bastos, D.C.; Scarpore Filho, J.A. Enraizamento de estacas dos porta-enxertos Araticum-de-Terra-Fria (*Rollinia* sp.) e Araticum-Mirim (*Rollinia emarginata* Schltdl.) para anonáceas. *Ciência e Agrotecnologia* **2006**, *30*, 1077–1082, doi:10.1590/s1413-70542006000600005.
6. Mantoan, L.P.B.; Ferreira, G.; Boaro, C.S.F. Chlorophyll a fluorescence in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer plants subjected to water stress and after rehydration. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **2015**, *184*, 23–30, doi:10.1016/j.scienta.2014.12.019.
7. Debnath, B.; Singh, W.S.; Das, M.; Goswami, S.; Singh, M.K.; Maiti, D.; Manna, K. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Mater. Today Chem.* **2018**, *9*, 56–72, doi:10.1016/j.mtchem.2018.05.001.
8. Gonçalves, M.A.; Lara, T.A.; Pimenta, L.P.S. Oxaporphynic alkaloids of *Annona crassiflora* wood Mart. *Annu. Meet. Brazilian Chem. Soc.* **2006**, *2*.
9. Costa, E.V.; Da Cruz, P.E.O.; De Lourenço, C.C.; De Souza Moraes, V.R.; De Lima Nogueira, P.C.; Salvador, M.J. Antioxidant and antimicrobial activities of aporphinoids and other alkaloids from the bark of *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae). *Nat. Prod. Res.* **2013**, *27*, 1002–1006, doi:10.1080/14786419.2012.688044.
10. De La Cruz Chacón, I.; González-Esquinca, A.R. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. *Nat. Prod. Res.* **2012**, *26*, 42–49, doi:10.1080/14786419.2010.533373.
11. González-Esquinca, A.R.; De-La-Cruz-Chacón, I.; Castro-Moreno, M.; Orozco-Castillo, J.A.; Riley-Saldaña, C.A. Alkaloids and acetogenins in Annonaceae development: biological considerations. *Rev. Bras. Frutic.* **2014**, *36*, 01–16, doi:10.1590/s0100-29452014000500001.
12. Sousa, M.C.; Bronzatto, A.C.; González-Esquinca, A.R.; Campos, F.G.; Dalanhol, S.J.; Boaro, C.S.F.; Martins, A.L.; da Silva Almeida, J.R.G.; Costa, E.V.; De-la-Cruz-Chacón, I.; et al. The production of alkaloids in *Annona cacans*

- seedlings is affected by the application of GA4+7 + 6-Benzyladenine. *Biochem. Syst. Ecol.* **2019**, *84*, 47–51, doi:10.1016/j.bse.2019.03.007.
13. Costa, E. V.; Pinheiro, M.L.B.; Xavier, C.M.; Silva, J.R.A.; Amaral, A.C.F.; Souza, A.D.L.; Barison, A.; Campos, F.R.; Ferreira, A.G.; Machado, G.M.C.; et al. A pyrimidine- $\beta$ -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 292–294, doi:10.1021/np050422s.
  14. Cota, L.G.; Vieira, F.A.; Melo Júnior, A.F.; Brandão, M.M.; Santana, K.N.O.; Guedes, M.L.; Oliveira, D.A. Genetic diversity of *Annona crassiflora* (Annonaceae) in northern Minas Gerais State. *Genet. Mol. Res.* **2011**, *10*, 2172–2180, doi:10.4238/vol10-3gmr1188.
  15. De Lima, J.P.S.; Pinheiro, M.L.B.; Antonio, A.M.; José, J.L.; Santos, D.M.F.; Barison, A.; Silva-Jardim, I.; Costa, E. V. In Vitro Antileishmanial and Cytotoxic Activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). *Rev. Virtual Quim.* **2012**, *4*, 692–702, doi:10.5935/1984-6835.20120052.
  16. Khan, T.M.; Gul, N.S.; Lu, X.; Wei, J.H.; Liu, Y.C.; Sun, H.; Liang, H.; Orvig, C.; Chen, Z.F. In vitro and in vivo anti-tumor activity of two gold(III) complexes with isoquinoline derivatives as ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *163*, 333–343, doi:10.1016/j.ejmech.2018.11.047.
  17. De-la-Cruz-Chacón, I.; López-Fernández, N.Y.; Riley-Saldaña, C.A.; Castro-Moreno, M.; González-Esquinca, A.R. Antifungal activity in vitro of *Sapranthus microcarpus* (Annonaceae) against phytopathogens. *Acta Bot. Mex.* **2019**, doi:10.21829/ABM126.2019.1420.
  18. Vinche, A.D.L.; De-la-Cruz-Chacón, I.; González-Esquinca, A.R.; Silva, J. de F. da; Ferreira, G.; Santos, D.C. dos; Garces, H.G.; Oliveira, D.V.M. de; Marçon, C.; Cavalcante, R. de S.; et al. Antifungal activity of liriodenine on agents of systemic mycoses, with emphasis on the genus *paracoccidioides*. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* **2020**, *26*, 1–12, doi:10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0023.
  19. Lúcio, A.S.S.C.; Almeida, J.R.G. da S.; da-Cunha, E.V.L.; Tavares, J.F.; Barbosa Filho, J.M. *Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation of Their Biological Activities*; 2015; Vol. 74; ISBN 9780128021583.
  20. Selmar, D.; Kleinwächter, M. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: The impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. *Plant Cell Physiol.* **2013**, *54*, 817–826, doi:10.1093/pcp/pct054.
  21. Gobbo-Neto, L.; Norberto P, L. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova* **2007**, *30*, 374–381, doi:10.1590/S0100-40422007000200026.
  22. Rezende, F.M. de; Rosado, D.; Moreira, F.A.; Carvalho, W.R.S. de *Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas*; 2016; ISBN 9788585658618.
  23. Daryanto, S.; Wang, L.; Jacinthe, P.A. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. *Agric. Water Manag.* **2017**, *179*, 18–33, doi:10.1016/j.agwat.2016.04.022.

24. Elliott, J.; Glotter, M.; Ruane, A.C.; Boote, K.J.; Hatfield, J.L.; Jones, J.W.; Rosenzweig, C.; Smith, L.A.; Foster, I. Characterizing agricultural impacts of recent large-scale US droughts and changing technology and management. *Agric. Syst.* **2018**, *159*, 275–281, doi:10.1016/j.agsy.2017.07.012.
25. Shao, H.B.; Chu, L.Y.; Jaleel, C.A.; Zhao, C.X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus - Biol.* **2008**, *331*, 215–225, doi:10.1016/j.crv.2008.01.002.
26. Martinazzo, E.G.; Perboni, A.T.; De Oliveira, P.V.; Bianchi, V.J.; Bacarin, M.A. Photosynthetic activity in japanese plum under water deficit and flooding. *Ciência Rural* **2013**, *43*, 35–41, doi:10.1590/S0103-84782012005000126.
27. Cotrozzi, L.; Couture, J.J.; Cavender-Bares, J.; Kingdon, C.C.; Fallon, B.; Pilz, G.; Pellegrini, E.; Nali, C.; Townsend, P.A. Using foliar spectral properties to assess the effects of drought on plant water potential. *Tree Physiol.* **2017**, *37*, 1582–1591, doi:10.1093/treephys/tpx106.
28. Couture, J.J.; Serbin, S.P.; Townsend, P.A. Spectroscopic sensitivity of real-time, rapidly induced phytochemical change in response to damage. *New Phytol.* **2013**, *198*, 311–319, doi:10.1111/nph.12159.
29. Kleinwächter, M.; Selmar, D. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. *Agron. Sustain. Dev.* **2015**, *35*, 121–131, doi:10.1007/s13593-014-0260-3.
30. Júnior, G. do N.A.; Gomes, F.T.; Silva, M.J. da; Jardim, A.M.F. da R.; Simões, V.J.L.P.; José, Izidro, L.P.S.; Leite, M.L. de M.V.; Teixeira, V.I.; Silva, T.G.F. da Estresse hídrico em plantas forrageiras : Uma revisão Water stress in forage plants : A review Estrés hídrico en plantas forrajeras : Una revisión. *Pubvet Med. VETERINÁRIA E Zootec.* **2019**, *13*, 1–10.
31. Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Bradstreet, E.D.; Hemmingsen, E.A. Sap pressure in vascular plants. *Science (80- )*. **1965**, *148*, 339–346, doi:10.1126/science.148.3668.339.
32. Smart, R.E.; Bingham, G.E. Rapid Estimates of Relative Water Content. *Plant Physiol.* **1974**, *53*, 258–260, doi:10.1104/pp.53.2.258.
33. El-Hendawy, S.E.; Al-Suhaibani, N.A.; Elsayed, S.; Hassan, W.M.; Dewir, Y.H.; Refay, Y.; Abdella, K.A. Potential of the existing and novel spectral reflectance indices for estimating the leaf water status and grain yield of spring wheat exposed to different irrigation rates. *Agric. Water Manag.* **2019**, *217*, 356–373, doi:10.1016/j.agwat.2019.03.006.
34. Ramirez, J.; Posada, J.M.; Handa, I.T.; Hoch, G.; Vohland, M.; Messier, C.; Reu, B. Near-infrared spectroscopy (NIRS) predicts non-structural carbohydrate concentrations in different tissue types of a broad range of tree species. *Methods Ecol. Evol.* **2015**, *6*, 1018–1025, doi:10.1111/2041-210X.12391.
35. Couture, J.J.; Singh, A.; Rubert-Nason, K.F.; Serbin, S.P.; Lindroth, R.L.; Townsend, P.A. Spectroscopic determination of ecologically relevant plant secondary metabolites. *Methods Ecol. Evol.* **2016**, *7*, 1402–1412, doi:10.1111/2041-210X.12596.

36. Yarce, C.J.; Rojas, G. Near infrared spectroscopy for the analysis of macro and micro nutrients in sugarcane leaves. *Zuckerindustrie* **2012**, *137*, 707–710, doi:10.36961/si13611.
37. Cunha, A.R. da; Martins, D. Climatic classification for the districts of Botucatu and São Manuel, SP. *Irriga* **2009**, *14*, 1–11, doi:10.15809/irriga.2009v14n1p1-11.
38. Kitajima, M.; Butler, W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *BBA - Bioenerg.* **1975**, *376*, 105–115, doi:10.1016/0005-2728(75)90209-1.
39. Genty, B.; Briantais, J.M.; Baker, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1989**, *990*, 87–92, doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
40. Bilger, W.; Björkman, O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth. Res.* **1990**, *25*, 173–185, doi:10.1007/BF00033159.
41. Demmig-Adams, B.; Adams, W.W.; Barker, D.H.; Logan, B.A.; Bowling, D.R.; Verhoeven, A.S. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol. Plant.* **1996**, *98*, 253–264.
42. Garcia, I.S.; Souza, A.; Barbedo, C.J.; Dietrich, S.M.C.; Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* LAM. (Brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the Brazilian atlantic forest. *Brazilian J. Biol.* **2006**, *66*, 739–745, doi:10.1590/s1519-69842006000400018.
43. Clegg, K.M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. *J. Sci. Food Agric.* **1956**, *7*, 40–44, doi:10.1002/jsfa.2740070108.
44. Morris, D.L. Quantitative Determination of Carbohydrates with Dreywood ' s Anthrone Reagent Author ( s ): Daniel Luzon Morris Published by : American Association for the Advancement of Science Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/1675449> Your use of the JSTOR arch. *Am. Assoc. Adv. Sci.* **1948**, *107*, 254–255.
45. Yemm, E.W.; Folkes, B.F. The Estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. *Int. J. Pharm. Pract.* **1954**, *57*, 508–514, doi:10.1111/j.2042-7174.1999.tb00969.x.
46. Miller, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* **1959**, *31*, 426–428, doi:10.1021/ac60147a030.
47. Passos, L.P. *Métodos Analíticos e Laboratoriais em Fisiologia Vegetal*; 1996;
48. Costa, J.R. Técnicas Experimentais aplicadas às Ciências Agrárias. *Embrapa Agrobiol.* **2003**, *54*.
49. Johnson, R.A.; Wichern, D.W. *Applied Multivariate Statistical Analysis*; 2007; ISBN 9780131877153.

50. Lawlor, D.W.; Cornic, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated PHOTOSYNTHESIS UNDER. *Regulation* **2002**, *44*, 275–294.
51. Oliveira,; ademir K.M. de; Gualtieri, S.C.J. TROCAS GASOSAS E GRAU DE TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO INDUZIDO EM PLANTAS JOVENS DE *Tabebuia aurea* (PARATUDO) SUBMETIDAS A ALAGAMENTO. *Ciência Florest.* **2017**, *27*, 181–191.
52. Sataloff, R.T.; Johns, M.M.; Kost, K.M.; Arndt, S.K.; Irawan, A.; Sanders, G.J.; Boanares, D.; Kozovits, A.R.; Lemos-Filho, J.P.; Isaias, R.M.S.; et al. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O<sub>3</sub>. *J. Exp. Bot.* **2014**, *69*, 907–912, doi:10.1071/pp9850213.
53. Wan, J.; Griffiths, R.; Ying, J.; McCourt, P.; Huang, Y. Development of drought-tolerant canola (*Brassica napus* L.) through genetic modulation of ABA-mediated stomatal responses. *Crop Sci.* **2009**, *49*, 1539–1554, doi:10.2135/cropsci2008.09.0568.
54. Mantoan, L.P.B.; Rolim de Almeida, L.F.; Macedo, A.C.; Ferreira, G.; Boaro, C.S.F. Photosynthetic adjustment after rehydration in *Annona emarginata*. *Acta Physiol. Plant.* **2016**, *38*, 1–11, doi:10.1007/s11738-016-2171-1.
55. Chaves, M.M.; Flexas, J.; Pinheiro, C. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* **2009**, *103*, 551–560, doi:10.1093/aob/mcn125.
56. Ashraf, M.; Harris, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica* **2013**, *51*, 163–190, doi:10.1007/s11099-013-0021-6.
57. Bogeat-Triboulot, M.B.; Brosché, M.; Renaut, J.; Jouve, L.; Le Thiec, D.; Fayyaz, P.; Vinocur, B.; Witters, E.; Laukens, K.; Teichmann, T.; et al. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiol.* **2007**, *143*, 876–892, doi:10.1104/pp.106.088708.
58. Honório, A.B.M.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Martínez-Vázquez, M.; da Silva, M.R.; Campos, F.G.; Martin, B.C.; da Silva, G.C.; Fernandes Boaro, C.S.; Ferreira, G. Impact of Drought and Flooding on Alkaloid Production in *Annona crassiflora* Mart. *Horticulturae* **2021**, *7*, 414, doi:10.3390/horticulturae7100414.
59. Kalaji, H.M.; Jajoo, A.; Oukarroum, A.; Brestic, M.; Zivcak, M.; Samborska, I.A.; Cetner, M.D.; Łukasik, I.; Goltsev, V.; Ladle, R.J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiol. Plant.* **2016**, *38*, doi:10.1007/s11738-016-2113-y.
60. Maxwell, K.; Johnson, G.N. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *J. Exp. Bot.* **2000**, *51*, 659–668.
61. Wilhelm, C.; Selmar, D. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *J. Plant Physiol.* **2011**, *168*, 79–87, doi:10.1016/j.jplph.2010.07.012.
62. Murchie, E.H.; Lawson, T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good

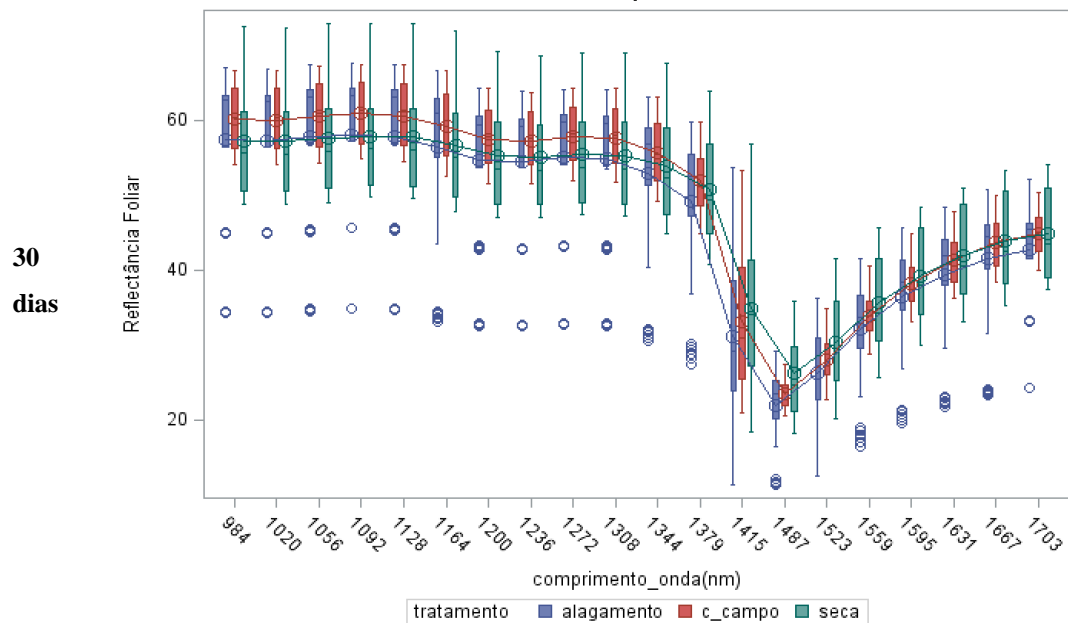
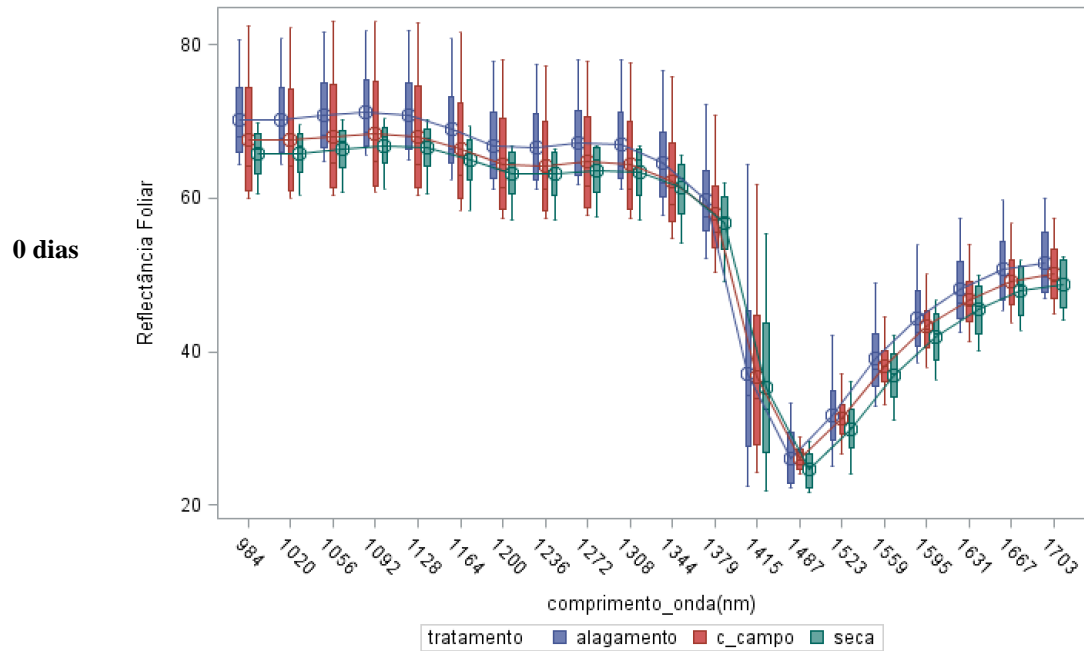
- practice and understanding some new applications. *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 3983–3998, doi:10.1093/jxb/ert208.
63. Tian, Y.; Ungerer, P.; Zhang, H.; Ruban, A. V. Direct impact of the sustained decline in the photosystem II efficiency upon plant productivity at different developmental stages. *J. Plant Physiol.* **2017**, *212*, 45–53, doi:10.1016/j.jplph.2016.10.017.
  64. Nilkens, M.; Kress, E.; Lambrev, P.; Miloslavina, Y.; Müller, M.; Holzwarth, A.R.; Jahns, P. Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **2010**, *1797*, 466–475, doi:10.1016/j.bbabi.2010.01.001.
  65. Corrêa, P.L.C.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Sousa, M.C.; Vieira, M.A.R.; Campos, F.G.; Marques, M.O.M.; Boaro, C.S.F.; Ferreira, G. Effect of Nitrogen Sources on Photosynthesis and Biosynthesis of Alkaloids and Leaf Volatile Compounds in *Annona sylvatica* A. St.-Hil. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2022**, *22*, 956–970, doi:10.1007/s42729-021-00705-8.
  66. Ghorbanpour, M.; Hatami, M. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turkish J. Biol.* **2013**, *37*, 350–360, doi:10.3906/biy-1209-12.
  67. Liu, Y.; Meng, Q.; Duan, X.; Zhang, Z.; Li, D. Effects of PEG-induced drought stress on regulation of indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *J. Plant Interact.* **2017**, *12*, 87–91, doi:10.1080/17429145.2017.1293852.
  68. Arango, O.; Pérez, E.; Granados, H.; Rojano, B.; Sáez, J. Inhibition of lipid peroxidation and free radical scavenging capacity of alkaloids isolated from two Annonaceae, *Xylopia amazonica* cf. *And Duguetia vallicola*. *Actual Biol* **2004**, *26*, 105–110.
  69. Castro-Moreno, M.; Tinoco-Ojangurén, C.L.; Cruz-Ortega, M. del R.; González-Esquinca, A.R. Influence of seasonal variation on the phenology and liriodenine content of *Annona lutescens* (Annonaceae). *J. Plant Res.* **2013**, *126*, 529–537, doi:10.1007/s10265-013-0550-x.
  70. Henrique, P. de C.; Alves, J.D.; Goulart, P. de F.P.; Deuner, S.; Silveira, N.M.; Zanandrea, I.; de Castro, E.M. Características fisiológicas e anatômicas de plantas de sibipiruna submetidas à hipoxia. *Ciência Rural* **2010**, *40*, 1–7, doi:10.1590/s0103-84782009005000221.
  71. Kuai, J.; Chen, Y.; Wang, Y.; Meng, Y.; Chen, B.; Zhao, W.; Zhou, Z. Effect of waterlogging on carbohydrate metabolism and the quality of fiber in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1–14, doi:10.3389/fpls.2016.00877.
  72. Filho, H.A.M.; Carvalho, R.D.C.M. Análise De Carboidratos Solúveis Em Plantas De Arroz. *Científic@ - Multidiscip. J.* **2020**, *7*, 1–8, doi:10.29247/2358-260x.2020v7i1.4118.
  73. Krasensky, J.; Jonak, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **2015**, *63*, 1593–1608,

doi:10.1093/jxb/err460.Drought.

74. Liu, K.; Zou, W.; Gao, X.; Wang, X.; Yu, Q.; Ge, L. Young seedlings adapt to stress by retaining starch and retarding growth through ABA-Dependent and -independent pathways in *Arabidopsis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2019**, *515*, 699–705, doi:10.1016/j.bbrc.2019.06.023.
75. Thalmann, M.; Santelia, D. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. **2017**, doi:10.1111/nph.14491.
76. Cortina, C.; Culiáñez-Macià, F.A. Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Sci.* **2005**, *169*, 75–82, doi:10.1016/j.plantsci.2005.02.026.
77. Paul, M.J.; Primavesi, L.F.; Jhurrea, D.; Zhang, Y. Trehalose metabolism and signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2008**, *59*, 417–441, doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092945.
78. Singer, M.A.; Lindquist, S. Thermotolerance in *Saccharomyces cerevisiae*: the Yin and Yang of trehalose. *TIBTECH* **1998**, *16*, 460–468.
79. Moore, J.P.; Nguema-Ona, E.E.; Vické-Gibouin, M.; Sørensen, I.; Willats, W.G.T.; Driouich, A.; Farrant, J.M. Arabinose-rich polymers as an evolutionary strategy to plasticize resurrection plant cell walls against desiccation. *Planta* **2013**, *237*, 739–754, doi:10.1007/s00425-012-1785-9.
80. Strabeli, T.F.; Fiorio, P.R.; Alvares, C.A.; Nakai, É.S. Conteúdo relativo de água afeta o comportamento espectral de folhas de *Eucalyptus* spp. *Sci. For.* **2020**, *48*, 1–15, doi:10.18671/scifor.v48n128.25.
81. Valverde, J.C.; Arias-Aguilar, D.; Montero-Zeledón, E.; Gutierrez-Fallas, D. Fluorescencia, reflectancia y respuesta fisiológica al estrés hídrico en plántulas de *Gmelina arborea* Roxb. *Uniciencia* **2021**, *35*, 320–334, doi:10.15359/ru.35-1.20.
82. Formaggio, A.R.; Sanches, I.D. *Sensoriamento Remoto em agricultura*; 2017; ISBN 9788579752773.

## 6. Material Suplementar

**Tabela 1.** Box-plots da reflectância foliar de *Annona emarginata* em função do comprimento de onda (nm) segundo tratamentos e tempo (dias) onde o tempo 0 dias antecede o início dos tratamentos e o tempo 30 dias corresponde ao pico do estresse.

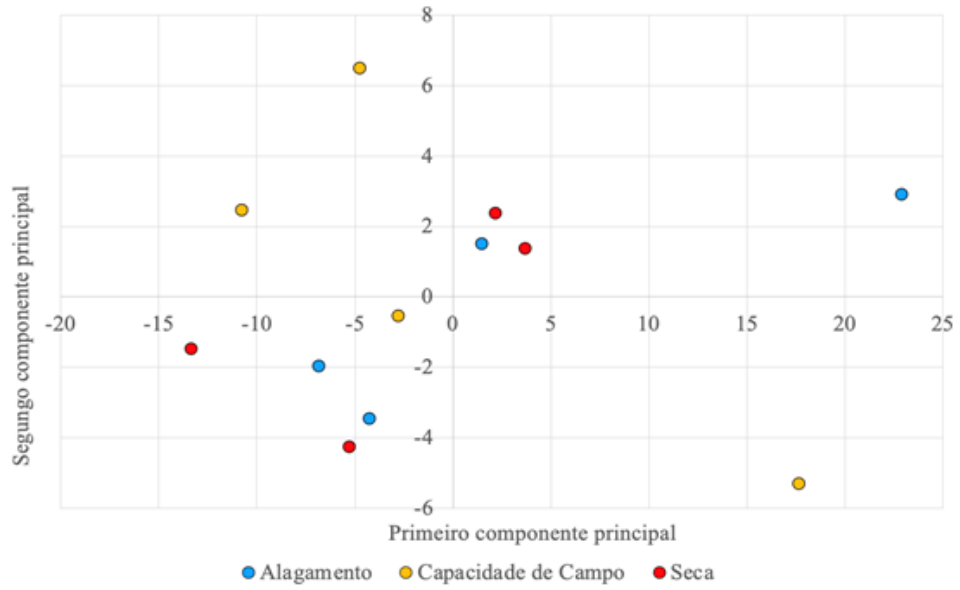


**Tabela 2.** Proporção (%) e proporção acumulada (%) dos autovetores baseado na matriz de correlação referente a redução da dimensionalidade dos dados de reflectância foliar de *Annona emarginata* pelo método multivariado dos dois primeiros componentes principais (Prin1 e Prin2), segundo tempo em dias, onde o tempo 0 dias antecede o início dos tratamentos e o tempo 30 dias corresponde ao pico do estresse.

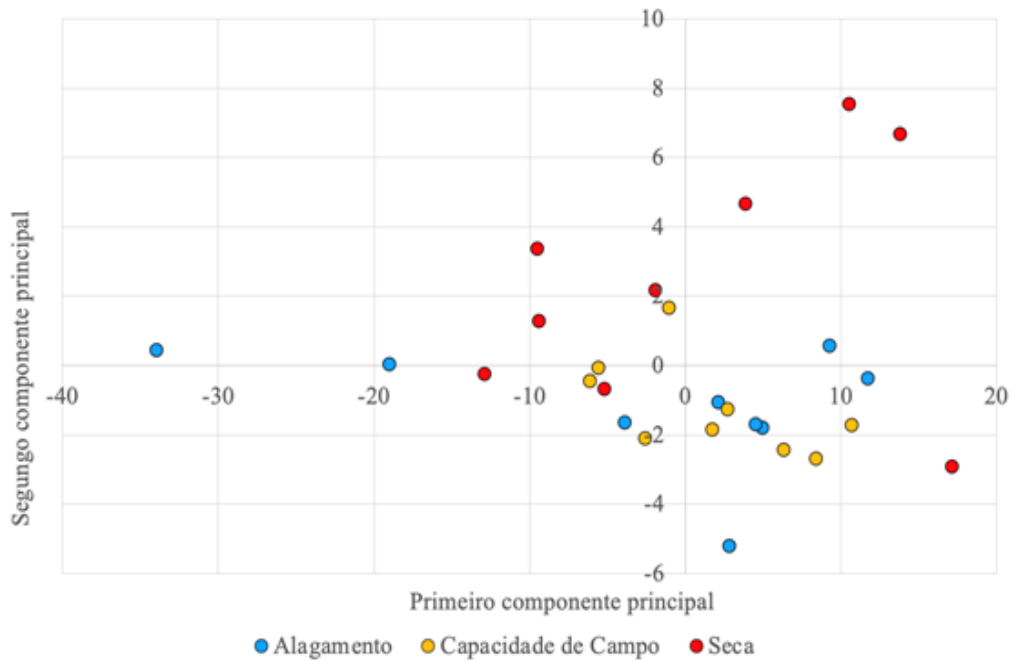
<b>Tempo (dias)</b>	<b>Componentes principais</b>	<b>Proporção (%)</b>	<b>Proporção Acumulada (%)</b>
0	1°	90,37	90,37
	2°	9,31	99,68
30	1°	93,43	93,43
	2°	6,49	99,92

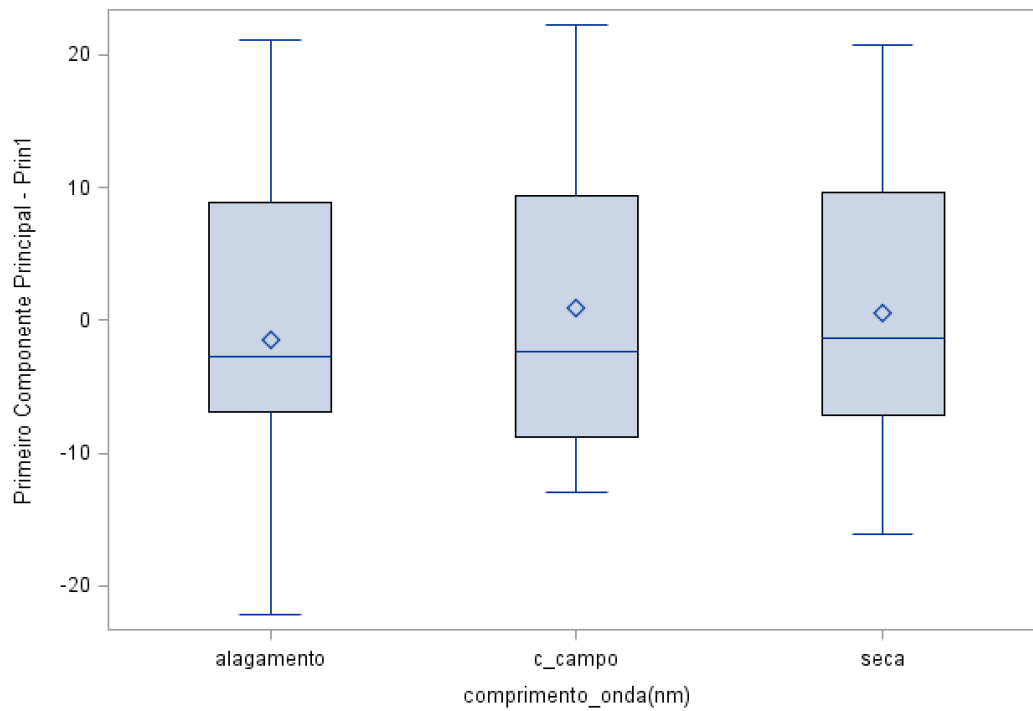
**Tabela 3.** Primeiros e segundos componentes principais referentes à redução da dimensionalidade dos dados de reflectância foliar de *Annona emarginata* segundo tratamentos e o tempo (dias), onde o tempo 0 dias antecede o início dos tratamentos e o tempo 30 dias corresponde ao pico do estresse.

0 dias



30 dias





**Figura 1.** Box-plots do primeiro componente principal médio (losangos) referente à redução da dimensionalidade da reflectância foliar de *Annona emarginata*, segundo tratamento, para o tempo de 30 dias após o início do experimento.

**Tabela 4.** Número de observações, percentual de classificação e taxa de erro da validação cruzada pela modelagem da função quadrática discriminante de Fisher pelo método da resubstituição, a partir dos dois primeiros componentes principais das combinações lineares das reflectâncias foliares de *Annona emarginata*, segundo tratamentos e o tempo (dias).

<b>Tempo (dias)</b>		<b>Tratamento classificado</b>				
		Alagamento	Capacidade de campo	Seca	Total	
<b>0</b>	<b>Tratamento original</b>	Alagamento	1 25,00%	0 0,00%	3 75,00%	4 100%
		Capacidade de campo	0 15,38%	3 76,92%	1 7,69	4 100%
		Seca	0 0,00%	0 0,00	4 100%	4 100%
		Total	1 8,33%	3 25,00%	8 66,67%	12 100%
		Taxa do erro	75,00%	25,00%	0,00%	33,33%
		<b>Tratamento classificado</b>				
		Alagamento	Capacidade de campo	Seca	Total	
<b>30</b>	<b>Tratamento original</b>	Alagamento	4 44,44%	4 44,44%	1 11,11%	9 100%
		Capacidade de campo	0 0,00%	8 88,89%	1 11,11	9 100%
		Seca	2 22,22%	2 22,22%	5 55,56%	9 100%
		Total	6 22,22%	14 51,85%	7 25,93	27 100%
		Taxa do erro	55,57%	11,11%	44,44%	37,04%

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo é inovador pois avaliou além da seca, também o alagamento pela primeira vez em ambas as espécies, visando tanto a produção de liriodenina, alcaloide mais abundante da família em mudas de *Annona crassiflora* Mart e *Annona emarginata* (Schltdl.) H., como também testou a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) em plantas de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer a fim de detectar variações no conteúdo de água que consequentemente leva a modificações no metabolismo vegetal.

Há também a possibilidade de as plantas desta família desempenharem um importante papel no controle biológico de pragas, levando em consideração que o alcaloide liriodenina apresenta atividade antifúngica, antiprotozoária e antibacteriana, indústrias farmacológicas, como também atuarem no reflorestamento de áreas degradadas.

Além disso, é importante frisar a capacidade dessas duas espécies de tolerar condições ambientais adversas, por isso, conhecer o desempenho das mesmas mediante a diferentes situações de disponibilidade hídrica norteou os objetivos desse trabalho.