



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO



BRUNO DE SANTANA SANTOS

**Autoalelopatia da polpa funicular de um cacto colunar que ocorre em diferentes
ecossistemas do Nordeste do Brasil**

São Cristóvão
Sergipe – Brasil

2025

BRUNO DE SANTANA SANTOS

**Autoalelopatia da polpa funicular de um cacto colunar que ocorre em diferentes
ecossistemas do Nordeste do Brasil**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado.

Co-Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Maria Furlan.

São Cristóvão
Sergipe – Brasil

2025

TERMO DE APROVAÇÃO

**Autoalelopatia da polpa funicular de um cacto colunar que ocorre em diferentes
ecossistemas do Nordeste do Brasil**

BRUNO DE SANTANA SANTOS

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

APROVADO pela banca examinadora:

PROF. DR. MARCOS VINICIUS MEIADO

Departamento de Biociências – Universidade Federal de Sergipe

PROF. DR. DANILO DE MENEZES DALOSO

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular – Universidade Federal do Ceará

PROF. DR. LUIZ PALHARES NETO

Departamento de Ciências Biológicas – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

São Cristóvão, Sergipe, 4 de fevereiro de 2025

*À primeira mulher que me ensinou Botânica, minha mãe,
Maria Lúcia dos Anjos de Santana (in memoriam).*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente à minha irmã Carina Santana da Silva e ao meu cunhado Ricardo Matos da Silva, por terem me acompanhado de perto e por todo o suporte durante minhas estadias em São Paulo, contribuindo para a execução das atividades do meu mestrado.

Ao meu amigo e orientador, o professor Dr. Marcos Vinicius Meiado, que me permitiu estar e crescer no mundo das pesquisas. Com você, eu não só aprendi conteúdos ligados à Germinação, Cactos e Estatística, mas também a ser um pesquisador e um ser humano melhor. Obrigado pela confiança que tem em mim e por todo auxílio nos meus momentos de dificuldade, tanto na vida pessoal quanto profissional.

À professora Dra. Cláudia Maria Furlan, muito obrigado pela confiança e coorientação durante as atividades do meu mestrado. Sou grato pelos ensinamentos com as novas técnicas incluindo os ensaios metabolômicos e a produção e análises dos extratos para os experimentos de fitoquímica. Foi muito gratificante trabalhar com você durante o mestrado e sou imensamente grato por tudo.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia de Sementes (LAFISE) da Universidade Federal de Sergipe, especialmente a Cristianne Santana Santos, Emerson Santos Guimarães e Guilherme Almeida Saturnino, por me auxiliarem nas atividades de coleta dos frutos em campo. A Ruth Gonçalves de Almeida, Éveli Mendonça Santana, Riclecia Fraga Santos e Igor Silva da Hora, obrigado pelo auxílio durante a montagem dos experimentos de germinação.

Aos amigos da sala 143 do Laboratório de Fitoquímica, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, em especial à Ivan Hurtado Caceres, “*muchas gracias*” por me ensinar e me auxiliar nos processamentos de dados metabolômicos e pelas inúmeras reuniões para discussão dos resultados. A Fernanda Anselmo Moreira, Bruno Ruiz Brandão da Costa e Adriana Lopes dos Santos, muito obrigado por me auxiliarem durante minhas experimentações de bancada durante as atividades no laboratório. Além dos ensinamentos que vocês me proporcionaram, obrigado pela amizade que construímos. Agradeço também às técnicas de laboratório, Aline Bertinatto e a Mourisa Maria de Sousa Ferreira, por todo auxílio durante as atividades de bancada.

Ao professor Dr. Sidney Feitosa Gouveia, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, agradeço pelo suporte para conquistar os auxílios das viagens solicitadas durante a execução do mestrado. Aos funcionários da divisão de transportes da Universidade,

Carlos Adelson Leandro Silva e Jeferson Ferreira Santos, agradeço pela condução das atividades de campo. À turma de mestrado em Ecologia e Conservação de 2023.1, obrigado pela parceria e amizade que construímos durante esses dois anos.

Aos professores Dr. Danilo de Menezes Daloso e o Dr. Luiz Palhares Neto, agradeço por aceitarem compor minha banca de dissertação de mestrado e pelas contribuições e sugestões, as quais tentarei atender na versão definitiva deste documento.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sob o número do processo 88887.835722/2023-00, pela concessão da bolsa de mestrado.

Por fim, agradeço a você que está lendo este documento.

A todos vocês, muito obrigado!

“A química não deve ser apenas para químicos.”

Miguel de Unamuno

RESUMO

A polpa funicular dos frutos presentes em algumas Cactaceae é conhecida por inibir a germinação de suas próprias sementes. Além disso, já foi relatado na literatura que os frutos podem produzir metabólitos tóxicos ou dissuasivos, frequentemente encontrados em concentrações e diversidades maiores do que em outros órgãos da planta, podendo, assim, impedir a germinação de suas próprias sementes. No entanto, ainda não foi descrito na literatura como as condições ambientais podem influenciar a dinâmica desse efeito autoalelopático. Portanto, o objetivo geral dessa dissertação foi avaliar a autoalelopata da polpa funicular de um cacto colunar que ocorre em diferentes ecossistemas do Nordeste do Brasil. Utilizamos como modelo de estudo a espécie *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae), que ocorre em áreas de Caatinga, uma região semiárida do Nordeste do Brasil; e em áreas de Restinga, na região da costa brasileira. Além disso, essa espécie de cacto colunar produz seus frutos nas estações seca e chuvosa. Para atender o objetivo geral dessa dissertação, esse trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, o objetivo do trabalho foi realizar o perfil de metabólitos da polpa funicular mucilaginosa dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* utilizando a técnica de metabolômica não-alvo por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas. Os resultados para esse capítulo, foi possível anotar 135 metabólitos pertencentes as 19 famílias químicas. Além disso, foi possível concluir que as condições ambientais influenciam diretamente o metabolismo da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* em diferentes ecossistemas, sendo as variações aqui observadas relacionadas à sazonalidade, resultando em diferenças entre as populações de uma mesma espécie. Já no segundo capítulo dessa dissertação, o objetivo do trabalho foi avaliar como a sazonalidade e o ecossistema de ocorrência influenciam a autoalelopata exercida pela polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* no comportamento germinativo de suas sementes. Os resultados para esse capítulo, foi possível observar que as sementes produzidas na estação chuvosa, em ambas as populações, apresentaram maior germinabilidade, menor tempo para germinação e maior sincronia, com menor incerteza e variação no processo germinativo. No entanto, os extratos de menor polaridade (AcOEt e Hex) influenciaram negativamente o comportamento germinativo à medida que as concentrações aumentaram durante a estação chuvosa, para ambas as populações. Portanto, podemos concluir para esse capítulo que o efeito da autoalelopata é dinâmico na natureza, sendo influenciado pelas estações de produção dos frutos e pelo ecossistema em que essas populações estão inseridas. Os

resultados encontrados nessa dissertação fornecem uma visão abrangente das respostas metabólicas dessa espécie às condições ambientais, destacando sua capacidade adaptativa e o papel das condições sazonais no direcionamento de seu metabolismo. Nesse contexto, as extrações realizadas com diferentes solventes orgânicos revelaram variações significativas nas concentrações dos compostos entre as estações e as populações, demonstrando que a sazonalidade não apenas regula a síntese metabólica, mas também influencia a distribuição e a predominância dos metabólitos, ajustando-os às condições ambientais de cada período influenciando de maneira diferente o efeito autoalelopático.

Palavras-chave: comportamento germinativo, metabolômica não alvo, condições ambientais.

ABSTRACT

The funicular pulp of fruits present in some Cactaceae is known to inhibit the germination of their own seeds. Furthermore, it has been reported in the literature that fruits can produce toxic or deterrent metabolites, often found in higher concentrations and diversities than in other plant organs, thus being able to prevent the germination of their own seeds. However, it has not yet been described in the literature how environmental conditions can influence the dynamics of this autoallelopathic effect. Therefore, the general objective of this dissertation was to evaluate the autoallelopathy of the funicular pulp of a columnar cactus that occurs in different ecosystems of Northeastern Brazil. We used as a study model the species *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae), which occurs in areas of Caatinga, a semiarid region of Northeastern Brazil; and in areas of Restinga, in the Brazilian coastal region. Furthermore, this columnar cactus species produces its fruits in the dry and rainy seasons. To achieve the general objective of this dissertation, this work was divided into two chapters. In the first chapter, the objective of the work was to perform the metabolite profile of the mucilaginous funicular pulp of the fruits of *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* using the non-targeted metabolomics technique by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry. The results for this chapter, it was possible to note 135 metabolites belonging to 19 chemical families. In addition, it was possible to conclude that environmental conditions directly influence the metabolism of the funicular pulp of the fruits of *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* in different ecosystems, with the variations observed here being related to seasonality, resulting in differences between populations of the same species. In the second chapter of this dissertation, the objective of the work was to evaluate how seasonality and the ecosystem of occurrence influence the autoallelopathy exerted by the funicular pulp of the fruits of *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* on the germination behavior of its seeds. The results for this chapter showed that the seeds produced in the rainy season, in both populations, presented higher germinability, shorter germination time and greater synchrony, with less uncertainty and variation in the germination process. However, the extracts of lower polarity (AcOEt and Hex) negatively influenced the germination behavior as the concentrations increased during the rainy season, for both populations. Therefore, we can conclude for this chapter that the effect of autoallelopathy is dynamic in nature, being influenced by the fruit production seasons and the ecosystem in which these populations are inserted. The results found in this dissertation provide a comprehensive view of the metabolic responses of this species to

environmental conditions, highlighting its adaptive capacity and the role of seasonal conditions in directing its metabolism. In this context, extractions performed with different organic solvents revealed significant variations in the concentrations of compounds between seasons and populations, demonstrating that seasonality not only regulates metabolic synthesis, but also influences the distribution and predominance of metabolites, adjusting them to the environmental conditions of each period, influencing the autoallelopathic effect differently.

Keywords: germination behavior, untargeted metabolomics, environmental conditions.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 20

Figura 1. Alterações metabólicas no pericarpo durante o amadurecimento dos frutos, utilizando como modelo de estudo *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). Os metabólitos listados estão codificados por cores: roxo indica aumento, verde representa diminuição, e preto aponta para ausências de mudanças significativas nos níveis dos compostos. Fonte: Adaptado de Quinet et al. (2019). Elaborado pelo próprio autor..... 24

Figura 2. Via de biossíntese das Betalaínas a partir da rota do chiquimato. Adaptado de Poturak & Aharoni (2018). Elaborado pelo próprio autor..... 28

Figura 3. *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae), mostrando diferentes estágios e partes da planta: (a) cladódio, (b) desenvolvimento do botão floral, (c) flor em antese, (d) fruto imaturo, (e) fruto em estágio de maturação com abertura na parte frontal, (f) fruto maduro visto de lado, (g) fruto maduro em corte transversal, exibindo a polpa violácea, (h) sementes, (i) plântula e (j) corte transversal do cladódio. Elaborado pelo próprio autor. 30

Figura 4. Diversidade filogenética para espécies de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae). Fonte: Lavor et al., 2020..... 36

Figura 5. Análise de agrupamento hierárquico para a distribuição de *Pilosocereus*: (a) análise biogeográfica utilizando as áreas geográficas de ocorrência de espécies do gênero. (b) evolução espaço-temporal do subgênero *Pilosocereus* reconstruída usando a análise Bayesiana de Dispersão-Extinção-Cladogênese. O clado *Pilosocereus* s.s. é mostrado na árvore filogenética AE2 MCC, obtida através do Beast. Os números abaixo dos ramos correspondem aos valores de probabilidade posteriores. Um retângulo colorido próximo aos nomes dos táxons indica suas distribuições atuais. Em cada nó, são apresentados cenários de herança de alcance, mostrando valores de probabilidade posterior para os intervalos ancestrais alternativos usando gráficos de pizza. Os quadrados representam os intervalos descendentes herdados imediatamente após a especiação para o cenário com a maior probabilidade posterior. Fonte: Lavor et al. (2019). 38

Figura 6. Distribuição dos registros de ocorrência das espécies de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae) no Brasil. Fonte: Lavor et al., 2020..... 39

Capítulo I. Variações no metabolismo da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionadas pela sazonalidade e o ecossistema de ocorrência..... 49

Figura 1. Mapa de precipitação (mm) para o Estado de Sergipe, Brasil, nos meses de junho e dezembro do ano 2023. Os frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] foram coletados nos municípios de Nossa Senhora da Glória, um ambiente de Caatinga, e no município de Aracaju, um ambiente de Restinga. Mapa elaborado no software QGIS a partir da interpolação de dados de precipitação das bases meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMT) (QGIS Development Team 2024; INMT, 2024). 68

Figura 2. Mapa de temperatura média para o Estado de Sergipe, Brasil, nos meses de junho e dezembro do ano 2023. Os frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] foram coletados nos municípios de Nossa Senhora da Glória, um ambiente de Caatinga, e no município de Aracaju, um ambiente de Restinga. Mapa elaborado no software QGIS a partir da interpolação de dados de temperatura média das bases meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMT) (QGIS Development Team 2024; INMT, 2024). 68

Figura 3. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) da fase polar dos metabólitos presentes na polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção ($VIP \geq 1$), dados expressos em mg/g de material vegetal escalonados em \log_{10} 68

Figura 4. Vias metabólicas (MetPA) mapeadas a partir dos metabólitos diferenciais detectados na fase polar da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados nos ecossistemas de Caatinga e Restinga durante a estação chuvosa (a) e seca (b). O eixo Y (-log (p)) representa o valor de p da análise de enriquecimento de vias metabólicas (cores mais escuras indicam o nível de significância do enriquecimento), enquanto o eixo X denota o fator de impacto da análise topológica (círculos maiores indicam maior impacto). 68

Figura 5. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) da fase não polar dos metabólitos presentes na polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção (VIP ≥ 1), dados expressos em mg/g de material vegetal escalonados em log₁₀. 68

Figura 6. Vias metabólicas (MetPA) mapeadas a partir dos metabólitos diferenciais detectados na fase não polar da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados nos ecossistemas de Caatinga e Restinga durante a estação chuvosa (a) e seca (b). O eixo Y (-log (p)) representa o valor de p da análise de enriquecimento de vias metabólicas (cores mais escuras indicam o nível de significância do enriquecimento), enquanto o eixo X denota o fator de impacto da análise topológica (círculos maiores indicam maior impacto). 69

Capítulo II. O impacto da autoalelopatia da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionados por fatores ambientais 93

Figura 1. Coleta dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) no município de Nossa Senhora de Glória, localizado no Alto Sertão do Estado de Sergipe, área de Caatinga e no município de Aracaju ambiente que pertence as Restingas da Costa Atlântica. As coletas foram realizadas entre os meses de junho de 2023, momento de maior precipitação para ambos os ecossistemas, variando entre 200,6 mm para Restinga e 85,6 mm para Caatinga, e no mês de dezembro com precipitações de 34,6 mm para Restinga e 6,8 mm para Caatinga (INMET, 2024). 125

Figura 2. Germinabilidade (%) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) postas para germinar em extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H₂O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Dados expressos em média \pm intervalo de confiança com nível de significância de p < 0,05. 125

Figura 3. Velocidade Média de Germinação (dias⁻¹) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) postas para germinar

em extractos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H₂O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de p < 0,05. 125

Figura 4. Coeficiente de Variação de Tempo CVt (%) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) postas para germinar em extractos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H₂O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de p < 0,05. 125

Figura 5. Sincronia das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) postas para germinar em extractos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H₂O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de p < 0,05..... 125

Figura 6. t_(50%) Farooq das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) postas para germinar em extractos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H₂O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de p < 0,05..... 126

Figure 7. Incerteza (bit) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) postas para germinar em extractos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOET), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H₂O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de p < 0,05..... 126

Figura 8. Comportamento germinativo de sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) caracterizados pelos parâmetros de

Germinabilidade (%), $t_{(50\%)}$ Farooq, Velocidade Média de Germinação (VMG), Coeficiente de Variação de Tempo (CVt), Sincronia e Incerteza. Postas para germinar em extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/mL. Os extratos foram produzidos a partir de frutos coletados no município de Nossa Senhora da Glória (Ecossistema de Caatinga) e em Aracaju (Ecossistema de Restinga) do Estado de Sergipe, Brasil, durante os meses de junho de 2023, momento de maior precipitação e em dezembro, momento de menor precipitação. Resultados para (a) Estação, (b) Ecossistema, (c) Extrato e (d) Concentração. 126

Figura 9. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) dos metabólitos presentes no extrato de AcOEt realizado a partir da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção ($VIP \geq 1$), dados expressos em mg/g de material vegetal escalonados em \log_{10} 126

Figura 10. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) dos metabólitos presentes no extrato de Hex realizado a partir da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção ($VIP \geq 1$), dados expressos em mg/g de material vegetal escalonados em \log_{10} 126

LISTA DE TABELA

Capítulo 2. O impacto da autoalelopatia da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionados pela sazonalidade e o ecossistema de ocorrência.....	93
Tabela 1. Valor de grau de liberdade (gl), R ² , Valor de Fisher (F) e de Pr(>F) para Análise de Variância Permutacional Multivariada para os fatores estação, população, extração e concentração para os parâmetros que caracterizam o comportamento germinativo.....	116
Tabela 2. Valor de grau de liberdade (gl), Valor de Fisher (F) e de Pr(>F) para Análise de Betadisper para os fatores estação, população, extração e concentração para os parâmetros que caracterizam o comportamento germinativo.....	117
Tabela 3. Metabólitos detectados via CG-MS para o extrato de Acetato de Etila (AcOEt) produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de [<i>Pilosocereus catingicola</i> (Gürke) Byles & Rowley subsp. <i>salvadorensis</i> (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados durante a estação chuvosa e seca nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga na região Nordeste do Brasil.....	118
Tabela 4. Metabólitos detectados via CG-MS para o extrato de Hexano (Hex) produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de [<i>Pilosocereus catingicola</i> (Gürke) Byles & Rowley subsp. <i>salvadorensis</i> (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados durante a estação chuvosa e seca nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga na região Nordeste do Brasil.....	122

SUMÁRIO

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
Capítulo I. Variações no metabolismo da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionadas pela sazonalidade e o ecossistema de ocorrência.....	49
Introdução	51
Material e Métodos	52
<i>Análises por CG-MS</i>	53
<i>Processamento de dados CG-MS.....</i>	54
<i>Análises Metabolômicas</i>	55
Resultados.....	56
<i>Metabólitos polares detectados via CG-MS</i>	56
<i>Metabólitos não polares detectados via CG-MS</i>	57
Discussão.....	57
Conclusão.....	61
Referências.....	62
Capítulo II. O impacto da autoalelopatia da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionados por fatores ambientais	93
Introdução	95
Materiais e Métodos.....	97
<i>Coleta dos frutos.....</i>	97
<i>Preparação dos extratos</i>	98
<i>Ensaios de germinação</i>	98
<i>Parâmetros germinativos e análise de dados</i>	98
<i>Análises químicas dos extratos por CG-MS</i>	100
<i>Processamento de dados por CG-MS</i>	100
<i>Análises estatísticas dos compostos químicos</i>	101
Resultados.....	102
<i>Comportamento germinativo</i>	102
<i>Composição química dos extratos</i>	104
Discussão.....	105
Conclusão.....	109
Referências.....	110

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado discute a autoalelopatia como um fenômeno dinâmico na natureza, sendo influenciado pelo local de ocorrência da espécie em diferentes ecossistemas, bem como pelo efeito da sazonalidade. Para isso, utilizamos como modelo de estudo a espécie *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae), que ocorre em áreas de Caatinga, uma região semiárida do Nordeste do Brasil; e em áreas de Restinga, na região da costa brasileira. Além disso, essa espécie de cacto colunar produz seus frutos nas estações seca e chuvosa. Utilizamos os frutos como órgão autoalelopático devido a literatura demonstrar que os frutos podem produzir metabólitos que podem ser tóxicos ou dissuasivos, frequentemente encontrados em concentrações e diversidade maiores do que em outros órgãos da planta, podendo assim, impedir a germinação de suas próprias sementes.

Essa dissertação está organizada em dois capítulos, apresentados no formato de artigo científico. O primeiro capítulo, destinado à submissão na revista internacional *Plant Physiology and Biochemistry*, tem como objetivo principal avaliar o perfil de metabólitos da polpa funicular mucilaginosa dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* utilizando a técnica de metabolômica não-alvo por Cromatografia a Gás acoplada à Espectrometria de Massas. Além disso, o estudo compara o perfil de metabólitos desses frutos coletados em áreas de Caatinga e Restinga durante as estações seca e chuvosa, com o intuito de avaliar as variações metabólicas na polpa funicular decorrentes da sazonalidade e das características dos ecossistemas onde ocorrem as populações dessa espécie.

No segundo capítulo, a ser submetido à revista *Functional Ecology*, o objetivo foi avaliar como a sazonalidade e o ecossistema de ocorrência influenciam a autoalelopatia exercida pela polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* no comportamento germinativo de suas sementes. Nesse estudo, consideramos como as condições ambientais às quais as diferentes populações estão expostas podem afetar, direta ou indiretamente, o desempenho autoalelopático. Isso ocorre porque variações na radiação ultravioleta, temperatura e disponibilidade hídrica são fatores determinantes na modulação do metabolismo vegetal. Assim, o efeito autoalelopático é influenciado pelas condições ambientais de três formas principais: por alterações nas concentrações dos compostos sintetizados, pela sua biodisponibilidade e pelo impacto exercido sobre as espécies-alvo.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

a. Alelopatia x Autoalelopatia

A alelopatia foi citada pela primeira vez na literatura pelo professor austríaco Hans Molisch, um biólogo que, em seu livro “*Der Einfluss einer Pflanze auf die andere – Allelopathie*”, apresentou a definição de alelopatia como: “*inibição por compostos químicos produzidos e liberados que afetam outras plantas*” (Molisch, 1937). No entanto, foi apenas em 1969 que o termo alelopatia foi formalmente definido e reconhecido pela International Allelopathy Society como: “*fenômeno abrangente, que envolve processos biológicos mediados por metabólitos que atuam como aleloquímicos. Esses metabólitos são produzidos por plantas, micro-organismos, vírus e fungos e exercem influência significativa, tanto positiva quanto negativa, no crescimento e desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos*” (Shan et al., 2023). Portanto, os aleloquímicos são substâncias derivadas do metabolismo secundário vegetal ou de produtos da decomposição de microrganismos, sendo considerados os agentes ativos da alelopatia. De acordo com Rice (2012), esses compostos são classificados com base em sua similaridade química e incluem: ácidos orgânicos solúveis em água; álcoois de cadeia linear, aldeídos alifáticos e cetonas; lactonas insaturadas simples; ácidos graxos de cadeia longa e poliacetilenos; benzoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas; ácido benzoico e seus derivados; ácido cinâmico e seus derivados; cumarinas; flavonoides; taninos; terpenoides e esteroides; aminoácidos e peptídeos; alcaloides e cianoidrinas; sulfetos e glucosinolatos; além de purinas e nucleosídeos (Rice, 2012).

O metabolismo secundário desempenha um papel crucial na biossíntese de compostos que atuam como sinalizadores em situações de estresses bióticos e abióticos, promovendo mecanismos de defesa nas plantas. A diversidade química desses compostos está diretamente associada à capacidade de biossíntese das espécies, sendo resultado de adaptações e estratégias específicas desenvolvidas dentro de contextos filogenéticos particulares (Wink, 2003). Esses compostos são sintetizados em diferentes compartimentos celulares e sua síntese é regulada por diversos fatores, incluindo sinais de estresses ambientais, como luz, temperatura, disponibilidade de nutrientes e água, além de estímulos hormonais e de desenvolvimento (Akula & Ravishankar, 2011; Yang et al., 2018). Isso ocorre porque as condições do ambiente podem influenciar a expressão dos genes relacionados à produção de metabólitos secundários, sendo modulada por fatores de transcrição específicos e outros mecanismos regulatórios genéticos (Liu et al., 2021). Assim que são

sintetizados, seja pelas raízes, caules, folhas, pólen, flores, frutos, sementes e brotos (Weston & Duke, 2003), os metabólitos são liberados no ambiente ao longo do tempo por meio de processos como volatilização, lixiviação de partes aéreas, exsudação de raízes e decomposição de resíduos vegetais no solo (Latif et al., 2017).

Nesse contexto, os metabólitos produzidos pelas plantas ou organismo precursor desempenham um papel significativo, interferindo ou beneficiando os organismos receptores, que podem pertencer à mesma espécie ou a espécies diferentes. Quando o organismo receptor é da mesma espécie que o precursor, observa-se o fenômeno conhecido como autoalelopacia. Trata-se de um processo no qual uma planta gera e libera compostos com o intuito de inibir o crescimento ou desenvolvimento de suas próprias sementes ou plântulas. Essa estratégia visa reduzir a competição intraespecífica por recursos limitados, tais como nutrientes e água (Harborne, 2014; Mattos et al., 2018).

Dentro da comunidade vegetal, os indivíduos da mesma espécie competem entre si, sendo um dos princípios centrais da teoria da coexistência baseada em modelos de interações entre os indivíduos competidores (Chesson, 2000). Esse princípio afirma que a competição intraespecífica é mais intensa do que a competição interespecífica para qualquer par de espécies coexistentes de maneira estável (Alder et al., 2018). No entanto, a autoalelopacia exerce influência sobre diversos aspectos, incluindo a germinação, o desenvolvimento, o crescimento e a sobrevivência das plântulas pertencentes à mesma espécie, ou seja, esse fenômeno é considerado uma estratégia adaptativa importante para a sobrevivência em ambientes altamente competitivos entre as populações (Santos et al., 2019).

Já estão descritos na literatura os efeitos da autoalelopacia em sistemas agrícolas, como no caso dos cultivares de alfafa [*Medicago sativa* L. (Fabaceae)], que não podem ser semeados em plantações com o objetivo de aumentar a densidade populacional da espécie. Assim, ao tentar realizar essa prática, visando aumentar o rendimento da produtividade, ou mesmo após o término de uma plantação anterior, o plantio resultará em impacto negativo na germinação, estabelecimento dos indivíduos e desenvolvimento das plântulas (Wang et al., 2022). Além disso, esse comportamento é observado em espécies exóticas invasoras, exemplificado em *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), que coloniza solos altamente degradados e prospera em condições extremas e de baixa fertilidade, resultado do desenvolvimento de diversos mecanismos adaptativos às condições estressantes do ambiente (Nuñez, 1989). Adicionalmente, nas comunidades

colonizadas por essa espécie, há uma baixa taxa de recrutamento de indivíduos jovens em populações já bem estabelecidas, fenômeno explicado pelos efeitos da autoalelopatia (Lobón et al., 2019).

Em frutos de algumas espécies do gênero *Pilosocereus* já foi detectada a presença de moléculas, como flavonoides, taninos, ácidos orgânicos, antociáninas, esteroides e terpenoides, especialmente nas espécies *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D. Rowley (Gonçalves et al., 2015), *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter (Souza et al., 2015; Brito-Filho et al., 2017) e *Xiquexique gounellei* (F.A.C. Weber) Lavor & Calvente subsp. *gounellei*, que apresenta alta concentração de compostos fenólicos (Nascimento et al., 2011; Maciel et al., 2016). Essas características são possíveis indicadoras de respostas alelopáticas, como observado por Santos et al. (2019), que demonstraram em seu estudo que a polpa funicular dos frutos de *X. gounellei* subsp. *gounellei* afeta significativamente a germinação das sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae) e da própria espécie, causando, assim, um efeito de alelopatia e autoalelopatia, respectivamente. É possível observar que o metabolismo dos frutos se ajusta à medida que alcançam o processo de maturação, tornando-se atrativos para os animais frugívoros. No entanto, os frutos podem produzir metabólitos que podem ser tóxicos ou dissuasivos, frequentemente encontrados em concentrações e diversidade maiores do que em outros órgãos da planta (Whitehead et al., 2013; Whitehead et al., 2016).

b. Metabolismo Geral de Frutos

Nas angiospermas, o processo de formação dos frutos inicia-se com a fecundação do óvulo, que ocorre logo após a polinização e o crescimento do tubo polínico até o óvulo. Após o grão de pólen depositar-se no estigma, ele hidrata-se e desenvolve o tubo polínico, que se alonga em direção ao óvulo, guiado por pequenas proteínas presentes no estilete, como adesina rica em cisteína no estigma/estilete e quimiocianina (Taiz et al., 2017). Ao alcançar a micrópila, o tubo penetra o saco embrionário, onde cessa seu crescimento e rompe-se bruscamente na sinérgide, liberando as duas células espermáticas. Uma célula funde-se com a oosfera, formando o zigoto que desenvolverá o embrião, enquanto a outra se funde com a célula central, criando um núcleo triploide que originará o endosperma, tecido de reserva que sustentará o embrião após a sua dispersão no ambiente (Taiz et al., 2017).

O embrião, após a fecundação, começa o seu desenvolvimento dentro do ovário, que é a estrutura originada pela fusão dos carpelos na flor. A parede dos carpelos, que envolve o embrião em desenvolvimento, passa a ser chamada de pericarpo e, à medida que o fruto se forma, o pericarpo se transforma na camada protetora ao redor das sementes. As sementes, por sua vez, estão fixadas à placenta, uma estrutura interna do ovário que as conecta e nutre durante o desenvolvimento, permitindo a transferência de nutrientes essenciais para o embrião até que as sementes estejam completamente formadas (Taiz et al., 2017). Durante o desenvolvimento, o pericarpo passa por estágios de divisão e expansão celular, formando as camadas denominadas de endocarpo, mesocarpo e exocarpo; esses três tecidos juntos compõem o pericarpo. À medida que os frutos se desenvolvem, eles desempenham um papel crucial na proteção das sementes em formação contra herbívoros, predadores de sementes e patógenos, garantindo o sucesso desse processo (Tiansawat et al., 2017). Quando atingem a maturidade completa, os frutos consumidos por animais frugívoros tornam-se atrativos, estabelecendo uma relação mutualística. Nesse processo, as sementes pequenas, ingeridas juntamente com a polpa dos frutos, são transportadas para locais distantes da planta-mãe e dispersas junto às fezes dos animais (Schupp et al., 2010; Ruxton et al., 2014). De acordo com Whitehead et al. (2022), o fruto é o único órgão que viaja por ambientes tão variáveis e interage com comunidades tão complexas de mutualistas e antagonistas ao longo de seu desenvolvimento e vida útil, sendo a sua composição química o principal responsável por mediar essas interações.

Durante o desenvolvimento inicial dos frutos, os açúcares são transportados para as células predominantemente via simplasto, graças à presença de plasmodesmos e conexões celulares (Ruan & Patrick, 1995). Nessa etapa, apenas pequenas quantidades de sacarose são descarregadas e, posteriormente, transportadas para o interior das células por meio da ação de enzimas invertases e transportadores de hexoses (Beckles et al., 2012). Com o avanço do desenvolvimento dos frutos, a glicose e a frutose tornam-se os principais açúcares acumulados (Figura 1) (Gilbert, 2009). Além disso, os açúcares fosfatados desempenham um papel crucial na síntese de amido e pectinas, sendo o acúmulo de amido nos tecidos do pericarpo e da columela um fator determinante para o conteúdo final de sólidos solúveis nos frutos maduros (Figura 1) (Carrari & Fernie, 2006). Ao atingirem o ápice da maturação, os frutos acumulam hexoses, proteínas e enzimas envolvidas no ciclo de Krebs e na glicólise (Figura 1). Isso ocorre porque, nesse estádio de desenvolvimento, parte do amido

acumulado passa a ser degradado, tornando-se a principal fonte de hexoses e servindo como substrato para a respiração celular (Biais et al., 2014).

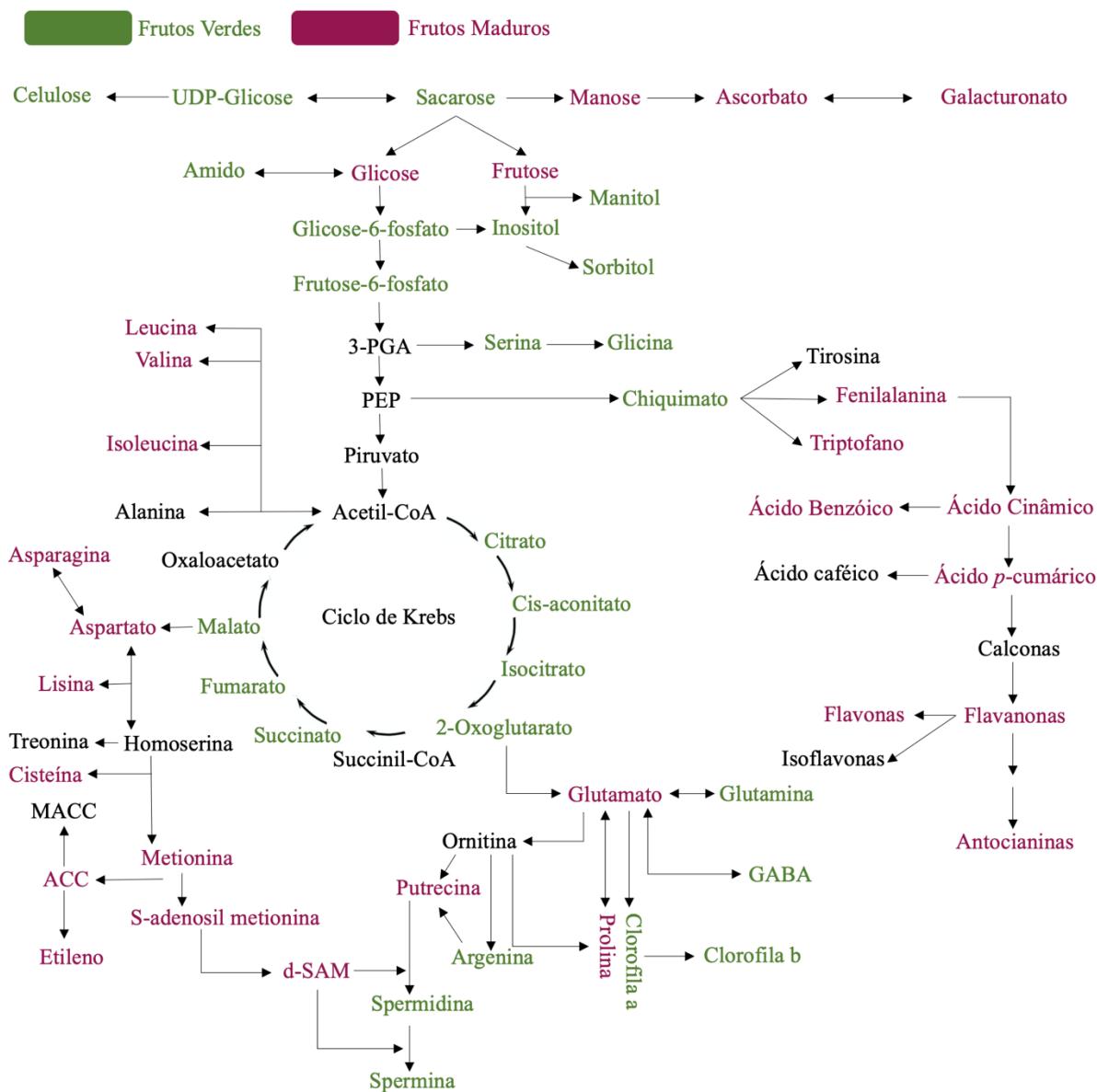


Figura 1. Alterações metabólicas no pericarpo durante o amadurecimento dos frutos, utilizando como modelo de estudo *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae). Os metabólitos listados estão codificados por cores: roxo indica uma maior presença dos metabólitos nos frutos maduros, verde representa maior concentração quando os frutos estão verdes, e preto aponta para ausência de mudanças significativas nos níveis dos compostos. Fonte: Adaptado de Quinet et al. (2019). Elaborado pelo próprio autor.

Além dos açúcares, os ácidos orgânicos também são sintetizados e desempenham funções celulares. Durante a fase de divisão celular e a formação dos tecidos do fruto (endocarpo,

mesocarpo e exocarpo), ocorre uma elevada síntese de ácidos orgânicos (Beauvoit et al., 2014). Especula-se que essa síntese elevada, em conjunto com açúcares solúveis, contribua para a redução do potencial hídrico celular, favorecendo a absorção de água (Quinet et al., 2019). Contudo, além dessa função osmótica, os ácidos orgânicos exercem um papel crucial no nível celular, participando de diversas rotas bioquímicas, principalmente a via do ciclo de Krebs (Quinet et al., 2019).

Os aminoácidos também são metabólitos importantes no desenvolvimento dos frutos, com destaque para o glutamato, asparagina, treonina e o ácido γ -aminobutírico (GABA). Apesar do GABA não ser um aminoácido proteico, ele contribui para o controle do pH citosólico sob carga ácida por meio da via do desvio do GABA. Esse composto está presente em altas concentrações em frutos verdes, mas declina progressivamente durante os processos de amadurecimento (Klee & Giovannoni, 2011). Outro aminoácido que também apresenta declínio durante o amadurecimento dos frutos é a treonina, que pode ser metabolizada em piruvato, envolvido com o gliceraldeído-3-fosfato na síntese de pirofosfato de isopentenila, atuando como precursor de carotenoides (Quinet et al., 2019). A maioria dos outros aminoácidos livres, no entanto, aumenta durante o amadurecimento, enquanto o conteúdo proteico diminui, devido ao incremento na atividade de exopeptidases e no padrão de atividade de proteases não específicas (Sorrequieta et al., 2010).

Os lipídeos também estão presentes nos frutos e sua biossíntese é caracterizada por várias vias envolvendo enzimas que requerem oxigênio para sua atividade, como as envolvidas na biossíntese de esteróis e na insaturação de ácidos graxos (Harwood, 1988; Ohlrogge & Browse, 1995). Os ácidos graxos participam da formação da membrana celular, contribuindo para formação de uma barreira semipermeável que representa um meio fluido acessível para moléculas/complexos lipofílicos e uma matriz para enzimas que catalisam diferentes reações metabólicas (Brizzolara et al., 2020).

O metabolismo primário dos frutos está envolvido na manutenção e na sobrevivência das células, garantindo a divisão celular e o desenvolvimento adequado dos tecidos. Por outro lado, o metabolismo secundário dos frutos é responsável principalmente pela biossíntese de compostos como pigmentos e flavonoides, que promovem a mudança de coloração à medida que os frutos amadurecem; e compostos voláteis, que emitem odores perceptíveis com o objetivo de atrair animais frugívoros. Uma das estratégias mais eficazes das plantas para atrair dispersores de sementes é, além da produção de frutos carnosos, a produção de compostos químicos responsáveis

pela atração (pigmentos e voláteis) e recompensas nutricionais (açúcares e proteínas) (Nelson & Whitehead, 2021).

Os frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, ao chegarem no ápice da maturação, apresentam coloração violácea devido a presença de pigmentos. Os pigmentos responsáveis por essa coloração são as betalaínas, compostos sintetizados a partir da tirosina, um aminoácido aromático derivado da via do chiquimato. A hipótese mais aceita é que esses compostos são sintetizados no citoplasma e no retículo endoplasmático, sendo eventualmente armazenados no vacúolo das células (Chen et al., 2017). De acordo com Barbosa et al. (2017), os frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* apresentam as seguintes betalaínas: betanina, 2'-*O*-apiosil-isobetanina, isobetanina, 17-decarboxibetanina, 15-decarboxi-betanina, isofilocactina, 6'-*O*-malonil-2-decarboxibetanina, filocactina, 2'-*O*-apiosil-filocactina, 2'-(5"-*O*-E-Feruloilapiosil) betanina e lamprantina II.

Esses pigmentos são sintetizados a partir da tirosina, que é hidroxilada, formando 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) (Steglich & Strack, 1990). Em seguida, a L-DOPA é convertida em ácido betalâmico pela ação da enzima DOPA 4,5-dioxigenase (Christinet et al., 2004), um composto chave para a síntese de todas as betalaínas. Além disso, a L-DOPA também pode ser oxidada e ciclizada para formar ciclo-DOPA, que posteriormente é condensada em ácido betalâmico, tornando-se precursor das betalaínas (Schliemann et al., 1999). Por fim, a betanidina é glicosilada nas posições 5'*O* ou 6'*O* para formar a betanina, que pode passar por reações de glicosilação e acilação, levando à síntese de uma ampla variedade de betacianinas (Strack et al., 2003) (Figura 2). Esses metabólitos são responsáveis pela fotoproteção contra o excesso de luz UV, que regulam positivamente a expressão de genes que codificam *R2R3 MYB* e fatores de transcrição como *bHLH*, responsáveis pela estruturação da via de fenilpropanoides (Nakashima, 2011; Du Plessis et al. 2017).

c. Formação de Frutos e Sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*

As flores das Cactaceae, especialmente de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, são relativamente curtas, com até 65 mm de comprimento, actinomorfas, hermafroditas, robustas, tubulares e amplamente abertas, com antese ocorrendo durante a noite (Locatteli et al., 1997). O perianto varia de esverdeado a esbranquiçado e os estames, em grande número, produzem abundante pólen. O estilete pode atingir 55 mm de comprimento, com cerca de 10 lóbulos

estigmáticos projetados além dos estames. A câmara de néctar é suborbicular, larga na base, medindo aproximadamente 5 x 10 mm e produzindo até 440 µL de néctar (Locatelli et al., 1997). Essas características, como a antese noturna, flores expostas, perianto claro e grande produção de pólen, são típicas da síndrome de polinização por morcegos [*Glossophaga soricina* (Pallas, 1766) (Phyllostomidae)] e mariposas da família Sphingidae (Leal et al., 2017; Domingos-Melo et al., 2023). As flores são produzidas continuamente ao longo do ano, com maior floração e frutificação durante os meses de maior precipitação, estendendo-se também pela estação seca (Lima & Meiado, 2018).

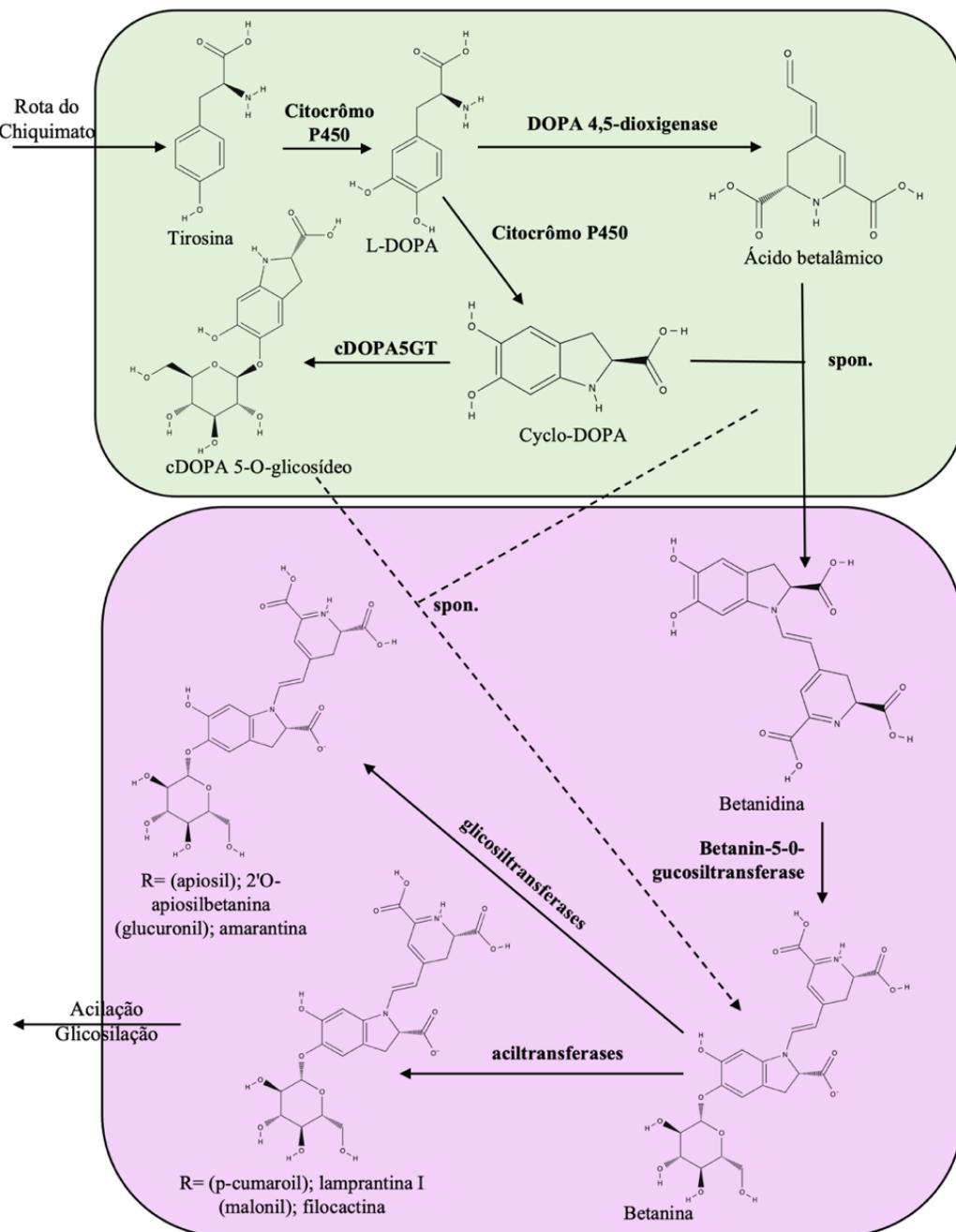


Figura 2. Rota de síntese de betacianinas a partir da rota do chiquimato. Adaptado de Poturak & Aharoni (2018). Elaborado pelo próprio autor.

Após a polinização, os frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* são formados e levam cerca de 35 dias, após a fecundação, para chegar até a completa maturação (Figura 3) (Locatelli et al., 1997). O fruto é globoso-depresso, deiscente por uma fenda central ou lateral, com o pericarpo arroxeados e polpa funicular de cor magenta e sementes pretas (Figura 3) (Locatelli et al., 1997). Os frutos maduros apresentam uma organização anatômica que se inicia com a epiderme, a camada

mais externa, formada por células alongadas e arredondadas, dispostas de forma unisseriada. Essa epiderme é glabra, com paredes periclinais externas ligeiramente espessas, possivelmente ricas em substâncias lipídicas (Barbosa, 2015). Logo abaixo da epiderme, encontra-se o parênquima, cujas células são maiores e localizadas próximas ao colênquima. Essas células vão gradualmente diminuindo de tamanho à medida que se aproximam da região dos feixes vasculares (Barbosa, 2015). O mesofilo, por sua vez, é dividido em duas regiões distintas: uma camada externa, composta por parênquima clorofiliano, com células amplas e aproximadamente isodiamétricas; e uma camada interna, onde as células parenquimáticas são aclorofiladas e gradualmente mais alongadas sob a epiderme interna. Nesse mesofilo, são encontrados grãos de amido, além de drusas e células secretoras de mucilagem, conhecidas como formações crisalíferas (Barbosa, 2015).

A vascularização do pericarpo ocorre por feixes vasculares de diferentes portes. Os feixes maiores localizam-se na região mediana do fruto, enquanto os menores estão situados mais internamente (Barbosa, 2015). O mesofilo é predominantemente parenquimático, com células de paredes delgadas e formatos variados. Na camada parenquimática sob a epiderme interna, observa-se a ocorrência de divisões periclinais e essa região contém feixes vasculares dorsais, ventrais e laterais do tipo colateral, além de algumas células secretoras (Barbosa, 2015). O pericarpo maduro é composto por um epicarpo unisseriado, cuticularizado, glabro e sem estômatos, com células levemente prismáticas e de paredes delgadas. O mesocarpo apresenta uma estrutura mista, composta por células colenquimáticas e parenquimáticas. Na porção interna do mesocarpo, há poucas células mucilaginosas e cavidades secretoras que, com o tempo, se fundem formando uma faixa mucilaginosa que envolve várias camadas de células parenquimáticas (Barbosa, 2015). Na maturidade do fruto, a polpa é composta por uma massa mucilaginosa de cor magenta, resultante do rompimento das cavidades secretoras, restos de células e a presença de feixes vasculares. Esse conteúdo mucilaginoso, combinado com os restos celulares, forma a polpa característica do fruto maduro (Barbosa, 2015).

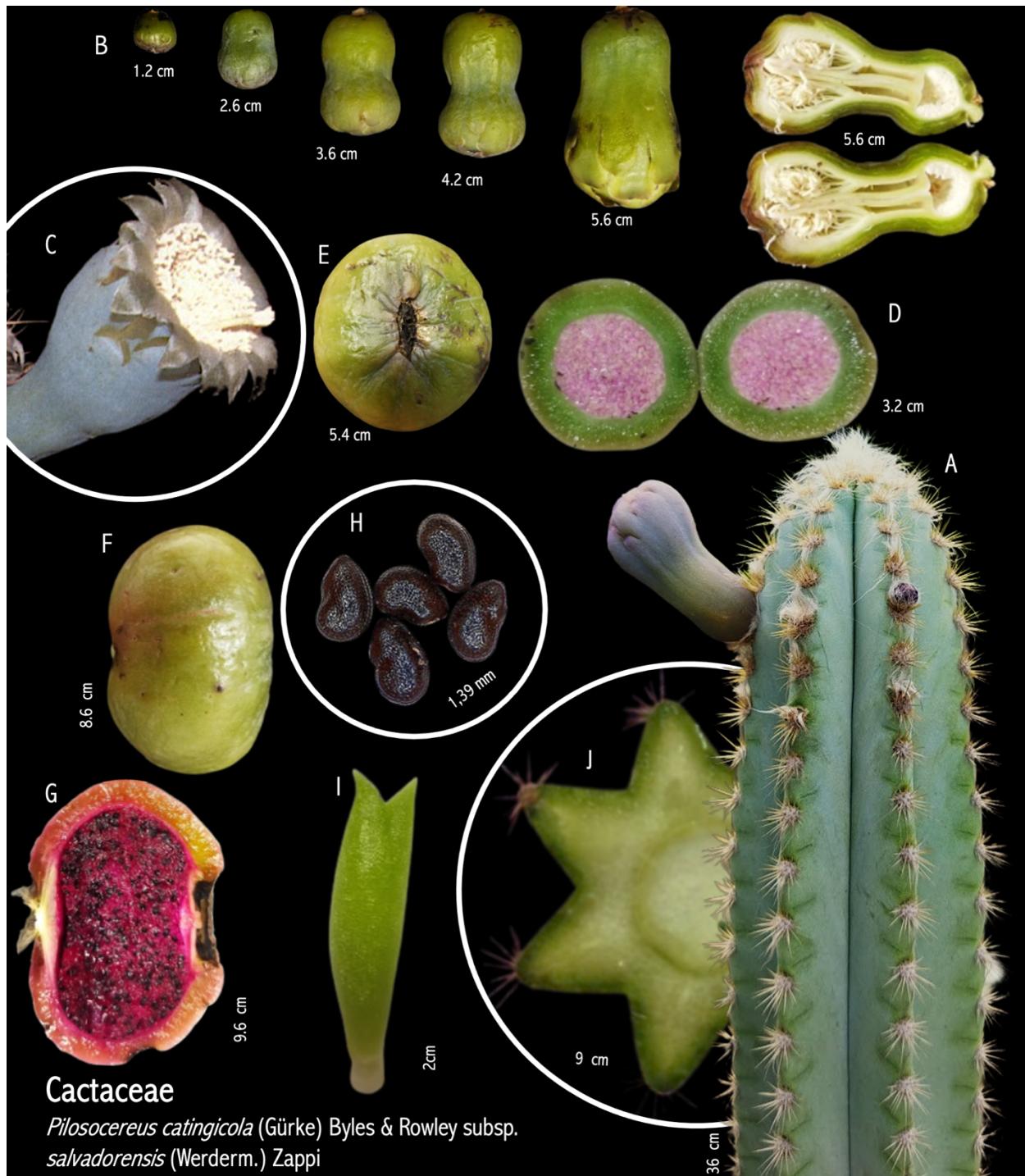


Figura 3. *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae), mostrando diferentes estágios e partes da planta: (A) cladódio, (B) desenvolvimento do botão floral, (C) flor em antese, (D) fruto imaturo, (E) fruto em estágio de maturação com abertura na parte frontal, (F) fruto maduro visto de lado, (G) fruto maduro em corte transversal, exibindo a polpa violácea, (H) sementes, (I) plântula e (J) corte transversal do cladódio. Elaborado pelo próprio autor.

Ao atingirem a maturação completa, os frutos apresentam uma fenda na posição frontal, que se abre e expõe a polpa funicular magenta. Essa polpa é consumida por diversos animais frugívoros, como o lagarto *Tropidurus semitaeniatus* (Spix, 1825) (Squamata: Tropiduridae) (Lima-Silva et al., 2021) e várias espécies de aves, incluindo *Forpus xanthopterygius* (Spix, 1824) (Psittacidae), *Mimus saturninus* (Lichtenstein, 1823) (Mimidae), *Paroaria dominicana* (Linnaeus, 1758) (Thraupidae), *Tangara sayaca* (Linnaeus, 1766) (Thraupidae) e *Tachyphonus rufus* (Boddaert, 1783) (Thraupidae) (Santos et al., 2019). Esses estudos indicam que os frutos são consumidos por uma variedade de aves e também por lagartos, sugerindo que atuam como importante recurso alimentar. Além disso, esses animais podem contribuir para a dispersão das sementes, embora sejam necessários estudos específicos para avaliar a eficácia da germinação das sementes após a passagem pelo trato digestivo das aves, a fim de identificar quais espécies realmente promovem uma dispersão eficiente (Gomes et al., 2017).

As sementes das espécies de *Pilosocereus* possuem formato ligeiramente obovado-oblíquo (Abud et al., 2010). O embrião, cilíndrico e de tamanho relativamente grande, tornando-se facilmente visível quando a semente está hidratada. O embrião presenta coloração branca e ocupa quase todo o espaço interno da semente. O tecido de reserva é cotiledonar, também de coloração branca e com consistência firme. Essas sementes, possuem comprimento médio de 1,55 mm e, cerca de 96 horas após a semeadura, observa-se a protrusão radicular através da abertura do opérculo (Abud et al., 2010). As sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* são fotoblástica positiva com melhor desempenho do processo germinativo quando colocadas à uma temperatura constante de 25 °C (Meiado et al., 2008).

A germinação das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* varia de acordo com a população estudada e também pela sazonalidade. Medeiros et al. (2015), ao analisarem a germinação das sementes dessa espécie em três populações localizadas na Caatinga, no interior da Paraíba, observaram que as sementes coletadas no município de Arara (80,5%) e Boa Vista (79,2%) apresentaram taxas de germinação superiores às de Areial (56,7%), quando testadas em condições controladas. Lima & Meiado (2017), ao compararem a germinação das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* em duas populações localizadas em áreas de Caatinga e Restinga, no Estado de Sergipe, observaram que as sementes produzidas na Caatinga apresentaram 20% de germinação, enquanto as sementes da Restinga alcançaram 80%. Os autores atribuem essas diferenças no comportamento germinativo da espécie entre as populações a diversos fatores: (1) à

ampla distribuição da espécie, que ocorre desde o Recôncavo Baiano até o Ceará e conta com populações de centenas de indivíduos (Zappi et al., 2016; Lavor et al., 2020); (2) à autoincompatibilidade, que exige polinização cruzada entre diferentes indivíduos para a produção de sementes (Rocha et al., 2007); (3) à idade dos indivíduos, uma vez que frutos foram coletados de plantas com diferentes idades, o que pode afetar a quantidade e a qualidade das sementes produzidas (Lima & Meiado, 2017); (4) à necessidade da hidratação descontínua que algumas sementes dessa espécie apresentam para ativar seu processo germinativo (Lima & Meiado, 2017; 2023) e (5) ao padrão contínuo de floração e frutificação ao longo do ano, que expõe os indivíduos às variações sazonais do ambiente durante seu período reprodutivo (Lima & Meiado, 2017).

Esses dois últimos fatores atribuído por Lima & Meiado (2017) foram testados em sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* produzidas na Caatinga durante as estações seca e chuvosa. Os resultados indicaram que as sementes formadas na estação chuvosa e dispersas no início da estação seca apresentam cerca de 30% de germinação, enquanto as sementes produzidas na estação seca e dispersas no início da estação chuvosa mostram aproximadamente 20% de germinação sem a passagem das sementes pela hidratação descontínua (Lima & Meiado, 2023). Embora as sementes dessa população apresentem baixa germinabilidade, observa-se a expressão de uma “*memória de hidratação de sementes*”. De acordo com Lima & Meiado (2017, 2023), após passarem por ciclos de hidratação e desidratação (ciclos de HD), as sementes aumentam sua taxa de germinação, podendo alcançar até 90% de germinabilidade. Portanto, as sementes não são dispersas inviáveis, mas requerem condições específicas para germinarem no ambiente, as quais estão relacionadas à hidratação descontínua. Nesse sentido, Lima & Meiado (2023) concluíram que as sementes produzidas na estação seca são submetidas a ciclos de HD, mesmo durante a estação chuvosa, devido à disponibilidade hídrica limitada nas camadas superficiais do solo onde essas sementes são dispersas. Durante esse processo, as sementes aumentam sua capacidade germinativa e desenvolvem maior tolerância a condições de déficit hídrico, melhorando suas chances de estabelecimento e sobrevivência na estação seca seguinte. Em contrapartida, as sementes produzidas na estação chuvosa passam por ciclos de HD também durante a estação seca, quando ainda há baixa precipitação, o que aumenta suas taxas de germinação e suas chances de estabelecimento na estação chuvosa subsequente, uma vez que essas sementes são menos tolerantes ao déficit hídrico (Lima & Meiado, 2023).

d. Adaptações Morfológicas

Cactaceae é uma família que pertence à ordem Caryophyllales e é a mais conhecida por ser uma família que apresenta espécies com ampla distribuição em habitats áridos e semiáridos, adaptados às condições estressantes desses ecossistemas. Os cactos são representados por mais de 1800 espécies agrupadas em 129 gêneros, que se distribuem quase que exclusivamente por todo continente americano, desde o Canadá até a Patagônia (Nyffeler & Eggli, 2010). A única exceção é *Rhipsalis baccifera* (J.M.Muell.) Stearn, que ocorre tanto na região Neotropical como na África, Madagascar e Ceilão (Zappi & Taylor, 2023). Essas espécies estão agrupadas em cinco subfamílias: Leuenbergerioideae, Pereskioideae, Opuntioideae, Maihuenoideae e Cactoideae (Taylor & Zappi, 2004; Mayta & Molinari-Novoa, 2015). Atualmente, 37 gêneros e 275 espécies são reconhecidos no Brasil (Zappi & Taylor, 2023), dos quais 14 gêneros e 188 espécies são endêmicos, com grande porcentagem de espécies ameaçadas de extinção (Meiado & Almeida, 2022; Zappi & Taylor, 2023).

Uma característica morfológica marcante desse grupo é a suculência, que é descrita como uma adaptação essencial para a sobrevivência em climas áridos, permitindo resistir a longos períodos de seca. A suculência envolve modificações anatômicas, morfológicas, celulares e metabólicas (Pérez-López et al., 2023), e pode estar presente em diferentes órgãos da planta. Algumas espécies como, por exemplo, *Cereus aethiops* Haw. e outras pertencentes aos gêneros *Peniocereus* (A.Berger) Britton & Rose e *Tephrocactus* Lem. apresentam suculência nas raízes (Mauseth & Stone-Palmquist, 2001; Stone-Palmquist & Mauseth, 2002). Já as espécies da subfamília Pereskioideae manifestam essa característica nas folhas. No entanto, a maioria das espécies de cactos possui adaptações para armazenamento de água na medula e no córtex, apresentando caules grossos, verdes e com capacidade fotossintética (Schwager et al., 2013). Nas angiospermas, os tecidos de suporte geralmente ficam na periferia das estruturas colunares ou tubulares eretas, o que aumenta a rigidez e a resistência à flexão, além de prevenir a flambagem, melhorando o segundo momento axial da área (Schwager et al., 2013). No entanto, nos cactos, o tecido vascular lignificado, responsável pelo suporte, está localizado de forma centralizada nos brotos. Ao redor desse tecido condutor e das fibras, estão os tecidos corticais suculentos, que são responsáveis pelo armazenamento de água, assimilação e transpiração (Schwager et al., 2013).

Na epiderme há uma forte cutinização, sendo composta por ácidos graxos de cadeia longa polimerizados, formando, assim, as camadas espessas de cera em sua superfície externa do

cladódio (Barbosa, 2015). Essa cera é responsável pela coloração esbranquiçada, azulada ou glauca observada em algumas espécies do gênero *Pilosocereus*. Logo abaixo da epiderme, localiza-se a hipoderme, que se distingue estruturalmente da epiderme e pode ser composta por várias camadas de células com paredes espessas e alta ductilidade. Essas células desempenham um papel importante na proteção e resistência mecânica da haste. O córtex é formado principalmente por células não especializadas, que realizam a fotossíntese (clorênquima) e atuam no armazenamento de água (parênquima). Nas células hipodérmicas, encontram-se cristais de oxalato de cálcio, uma adaptação que contribui para aumentar a capacidade de armazenamento de água (Sajeva & Mauseth, 1991). Além disso, os estômatos são tipicamente do tipo paracítico, o que significa que suas células subsidiárias estão alinhadas paralelamente às células-guarda (Anderson, 2001). Em um estudo realizado por Lima et al. (2015), que avaliou atributos morfológicos em três populações de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* distribuídas nas áreas de Caatinga, Mata Atlântica e Restinga, no Estado de Sergipe, foram observadas diferenças significativas no diâmetro do caule, no cilindro central e no número de costelas entre as populações. Os cactos das áreas de Caatinga e Restinga apresentaram um número de costelas significativamente diferente em comparação com os da Mata Atlântica, sendo que os indivíduos dessa última região exibiram o menor número de costelas entre todas as populações avaliadas (Lima et al., 2015).

Os cactos também apresentam aréolas, que são estruturas exclusivas da família Cactaceae. O meristema areolar dos cactos é equivalente à gema axilar das outras angiospermas e tem a capacidade de formar diversos órgãos, como raízes, novos segmentos caulinares e flores (Arruda & Melo-de-Pinna, 2010). Estruturalmente, o meristema areolar é semelhante ao meristema apical caulinar e está dividido em quatro zonas distintas. Assim como ocorre em outras angiospermas, o meristema apical das Cactaceae possui uma camada de túnica, chamada zona 1, que dá origem à protoderme. O corpo do meristema é composto por três zonas adicionais: a zona 2, ou inicial; a zona 3, ou periférica, responsável pela formação dos feixes vasculares do estelo, do córtex e das estruturas foliares; e a zona 4, ou central, que origina a medula e os feixes medulares a partir de porções de procâmbio. Essas zonas são conhecidas como zona central, zona periférica e zona medular, de acordo com as descrições de Foster (1939) para angiospermas. As aréolas das Cactaceae podem variar morfologicamente dependendo da presença ou ausência de estruturas derivadas. Em algumas espécies da subfamília Cactoideae, por exemplo, observa-se a presença

apenas de espinhos e tricomas, demonstrando a diversidade dessas adaptações nas plantas da família (Arruda & Melo-de-Pinna, 2010).

O meristema areolar pode sofrer histodiferenciação, dando origem a brotos florais. O modelo mais aceito para angiospermas sugere que, durante a transição reprodutiva, os meristemas vegetativos recebem sinais que induzem sua conversão em meristemas reprodutivos. Esses sinais são frequentemente mediados por genes florígenos, como *CONSTANS*, *FLOWERING LOCUS T* e *FLOWERING LOCUS D* (Corbesier & Coupland, 2006). À medida que os meristemas vegetativos se tornam competentes para a produção de estruturas reprodutivas, ocorre sua transformação em meristemas de inflorescência, permitindo o desenvolvimento de órgãos florais.

Uma pista para elucidar essa questão pode estar na compreensão da origem do ovário inferior, para o qual duas hipóteses têm sido propostas. A primeira é a hipótese de uma origem apendicular, que sugere que a parede externa do ovário se formou pela fusão das bases do cálice, corola, androceu e gineceu (Rosas-Reinhold et al., 2021). A segunda hipótese é a origem receptacular, que propõe que a parede externa do ovário possui uma natureza axial-vegetativa. Embora ambas as hipóteses tenham sido discutidas para diferentes grupos de plantas, incluindo as Cactaceae, a hipótese receptacular parece ser a mais adequada para explicar a formação do ovário inferior nessa família (Mauseth, 2016). Nas Cactaceae, o tecido axial recobre o ovário inferior, enquanto estames e tépalas estão embutidos nessa estrutura, o que reforça o entendimento de que a flor dos cactos é frequentemente chamada de “*broto de flor*”, devido à sua origem vegetativa, que se conecta à transformação do meristema areolar em um meristema reprodutivo. No entanto, a ontogenia exata desse tecido ainda é incerta (Rosas-Reinhold et al., 2021).

e. A Origem, Evolução e o Estabelecimento de Populações: o caso dos *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae)

A origem e as divergências dentro de Cactaceae têm sido elucidadas por meio da aplicação de relógios moleculares em reconstruções filogenéticas. Atualmente, a hipótese mais aceita pela comunidade científica propõe que os cactos surgiram durante o Evento de Resfriamento Eoceno-Oligoceno Tardio, há aproximadamente 35 milhões de anos (Hernández-Hernández et al., 2014). No entanto, eventos geológicos ocorridos ao longo do Neógeno (~23–2,6 Ma), como o soerguimento dos Andes setentrionais e o surgimento do Istmo do Panamá, provocaram mudanças

significativas na vegetação global. Esses fenômenos, juntamente com a queda nas temperaturas e o aumento nos níveis de CO₂, impulsionaram a expansão de habitats áridos e semiáridos em várias regiões do mundo, incluindo a região Nordeste do Brasil (Antonelli & Sanmartín, 2011; Arakaki et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2014). Posteriormente, durante a transição entre o Plioceno e o Pleistoceno (~2,8 Ma), muitos gêneros de cactos, incluindo os *Pilosocereus* Byles & Rowley, tiveram sua origem reportada e a expansão em diferentes habitats xéricos do Novo Mundo, sendo que, atualmente, a região Nordeste do Brasil é o maior centro de diversidade filogenética de *Pilosocereus* (Figura 4) (Arakaki et al., 2011; Hernández-Hernández et al., 2014).

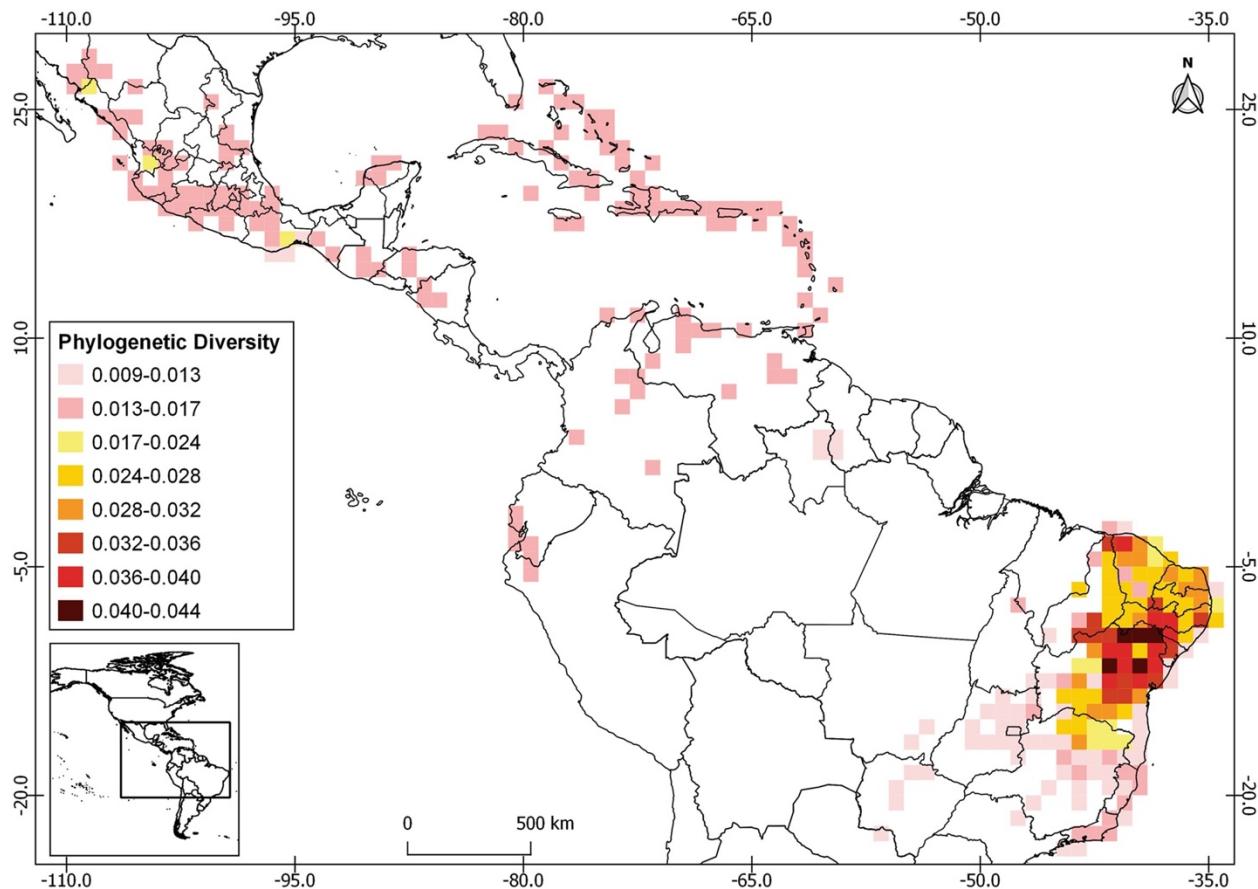


Figura 4. Diversidade filogenética para espécies de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae). Fonte: Lavor et al., 2020.

Recentemente, Lavor et al. (2019) propuseram a hipótese de que *Pilosocereus* tenha se originado na América Central (~2,8 Ma – Plioceno) e migrado para Caatinga, uma Floresta Tropical Sazonalmente Seca localizada na região Nordeste do Brasil. Essa migração ocorreu por meio de eventos de especiação *in situ*, além de migrações da Caatinga para microhabitats xerófitos

dentro de Savanas lenhosas (~1,5 Ma – Pleistoceno) e ecossistemas de Florestas Tropicais Úmidas (~1,5 Ma – Pleistoceno), como afloramentos rochosos no Cerrado e solos arenosos na Mata Atlântica, respectivamente. O primeiro evento de migração registrado é oriundo da Caatinga (~2,0 Ma), que é considerada a possível área ancestral do clado *Pilosocereus* subg. *Pilosocereus* s.s. (Cardoso & Queiroz, 2011; Lavor et al., 2019).

Durante o Quaternário, a Caatinga manteve uma estabilidade climática significativa, atuando como área de origem para eventos de dispersão para microhabitats xerófitos de regiões vizinhas, como o Cerrado. Na Mata Atlântica, também se observam ancestrais comuns que conectam espécies que, atualmente, estão distribuídas na Caatinga e Mata Atlântica (Figura 5) (Lavor et al., 2019). Pelo fato de os cactos em geral serem sensíveis ao fogo, sua distribuição não seria esperada em áreas de Cerrado devido à ocorrência de incêndios naturais nesse ambiente. Porém, *Pilosocereus* constitui uma exceção. Isso se deve ao fato de suas espécies estarem restritas à afloramentos rochosos, locais onde o fogo não consegue penetrar, sendo essas espécies muito abundantes no Planalto Central do Brasil (Taylor & Zappi, 2004). As migrações de espécies do Cerrado e da Caatinga em direção ao litoral brasileiro, especificamente para áreas de Restingas da Mata Atlântica, podem ter sido facilitadas pela formação de uma planície costeira chamada “Portal de Torres”, que atuou como um corredor ecológico durante o Pleistoceno Médio (~0,4 Ma). Esse corredor permitiu a expansão de várias populações de cactos como, por exemplo, *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, a espécie modelo deste estudo que, atualmente, apresenta populações distribuídas na Caatinga e na Mata Atlântica. Com a posterior expansão das Florestas Úmidas, essas populações acabaram isoladas em refúgios semelhantes a “ilhas” dentro da Mata Atlântica, o que contribuiu para seu isolamento geográfico (Silva et al., 2018).

Atualmente, a literatura registra a ocorrência de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* desde o Recôncavo Baiano até o norte do Ceará, com maior número de registros nos estados de Sergipe e Alagoas, onde a espécie ocorre em áreas de Caatinga, Mata Atlântica e Restinga (Figura 6) (Lavor et al., 2020). A hipótese amplamente aceita até o momento sugere que as espécies de *Pilosocereus* chegaram às regiões de Restinga por meio de eventos de gargalo em múltiplos refúgios, especialmente entre grandes rios, seguidos por uma rápida expansão populacional e geográfica (Menezes et al., 2016). Nesse cenário, acredita-se que *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* tenha alcançado as áreas de Restinga através da Costa Atlântica Seca, o que acrescenta uma camada de complexidade ao entendimento de sua dinâmica e adaptação nesses dois ambientes distintos

(Menezes et al., 2016). Além disso, eventos como a queda do nível do mar e os períodos de alta umidade durante as glaciações podem ter desempenhado um papel importante na evolução e dispersão das plantas xerófitas da Caatinga, que provavelmente chegaram a essas áreas costeiras por meio dessa rota do Atlântico (Menezes et al, 2016).

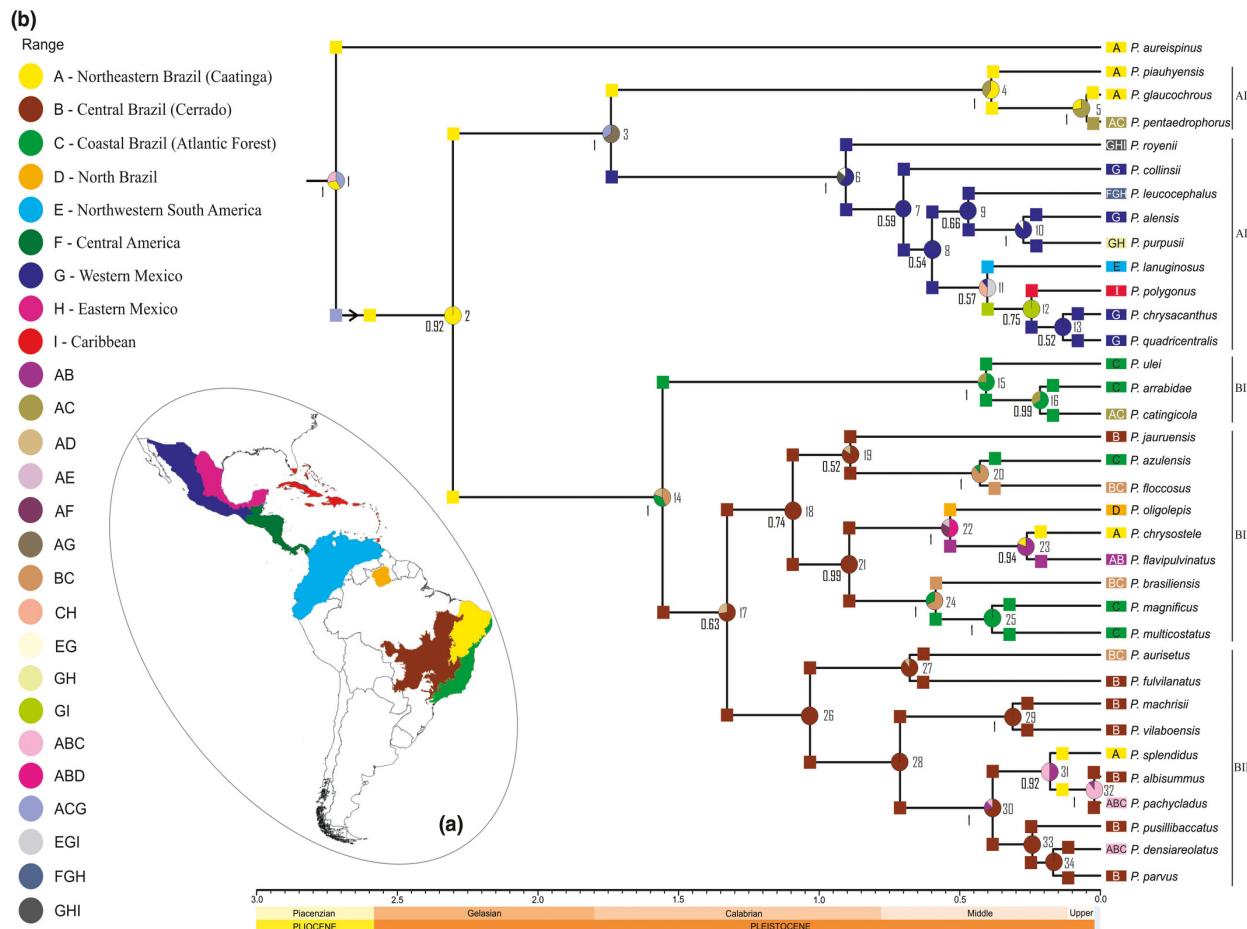


Figura 5. Análise de agrupamento hierárquico para a distribuição de *Pilosocereus*: (a) análise biogeográfica utilizando as áreas geográficas de ocorrência de espécies do gênero. (b) evolução espaço-temporal do subgênero *Pilosocereus* reconstruída usando a análise Bayesiana de Dispersão-Extinção-Cladogênese. O clado *Pilosocereus s.s.* é mostrado na árvore filogenética AE2 MCC, obtida através do Beast. Os números abaixo dos ramos correspondem aos valores de probabilidade posteriores. Um retângulo colorido próximo aos nomes dos táxons indica suas distribuições atuais. Em cada nó, são apresentados cenários de herança de alcance, mostrando valores de probabilidade posterior para os intervalos ancestrais alternativos usando gráficos de pizza. Os quadrados representam os intervalos descendentes herdados imediatamente após a especiação para o cenário com a maior probabilidade posterior. Fonte: Lavor et al. (2019).

Fundamentação Teórica

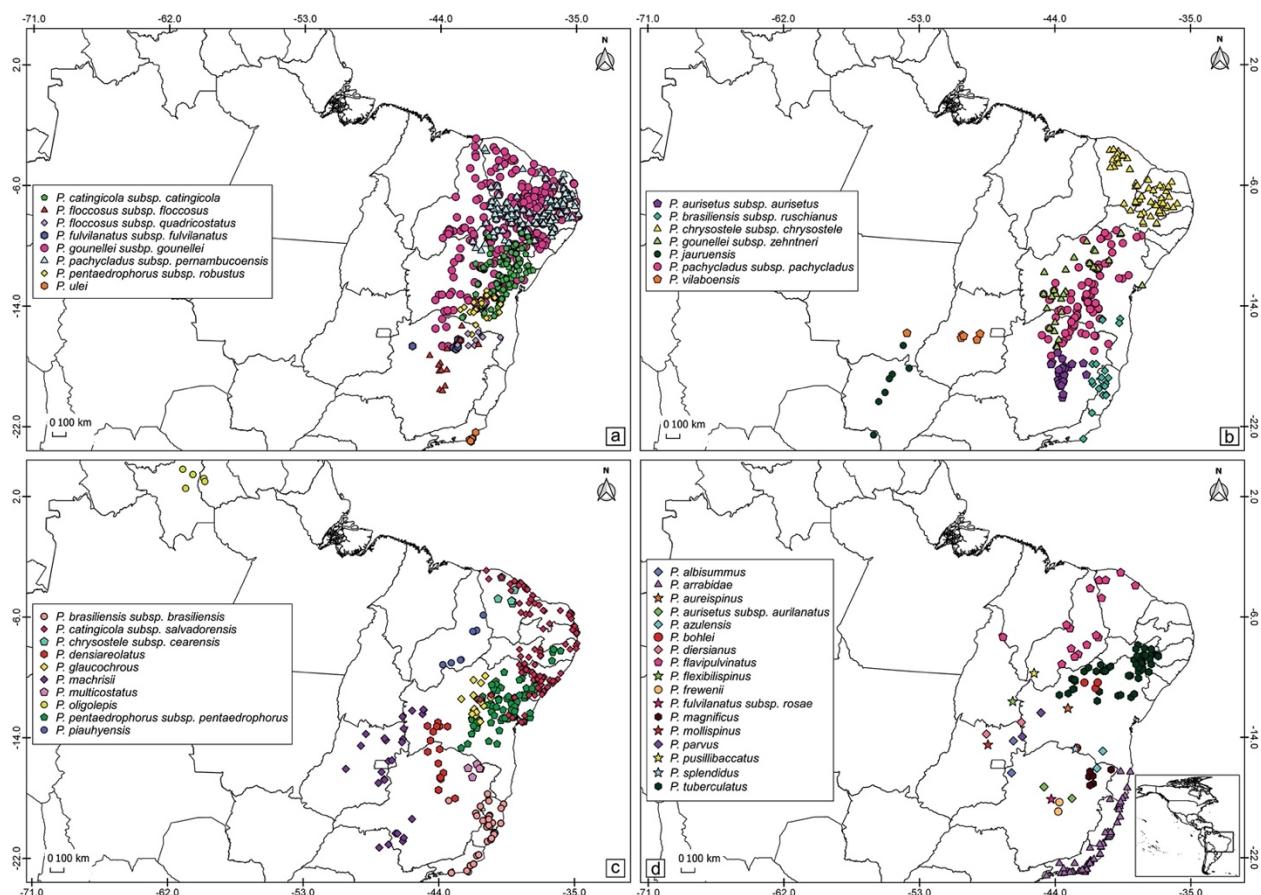


Figura 6. Distribuição dos registros brasileiros de ocorrência das espécies de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae). Fonte: Lavor et al., 2020.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abud, H. F., Gonçalves, N. R., Reis, R. D. G. E., Pereira, D. D. S., & Bezerra, A. M. E. (2010). Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. *Revista Ciência Agronômica*, 41, 468-474.
- Adler, P. B., Smull, D., Beard, K. H., Choi, R. T., Furniss, T., Kulmatiski, A., ... & Veblen, K. E. (2018). Competition and coexistence in plant communities: intraspecific competition is stronger than interspecific competition. *Ecology Letters*, 21(9), 1319-1329.
- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Antonelli, A., & Sanmartín, I. (2011). Why are there so many plant species in the Neotropics?. *Taxon*, 60(2), 403-414.
- Arakaki, M., Christin, P. A., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R. M., ... & Edwards, E. J. (2011). Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8379-8384.
- Arruda, E., & Melo-de-Pinna, G. F. (2009). Aréolas: Desenvolvimento e estruturas derivadas em espécies de *Opuntia* Miller. *Anais do 60º Congresso Nacional de Botânica*.
- Barbosa, A. D. S. (2016). Ecologia populacional, características anatômicas e perfil metabolômico de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae). Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba.
- Beauvoit, B. P., Colombié, S., Monier, A., Andrieu, M. H., Biais, B., Bénard, C., ... & Gibon, Y. (2014). Model-assisted analysis of sugar metabolism throughout tomato fruit development reveals enzyme and carrier properties in relation to vacuole expansion. *The Plant Cell*, 26(8), 3224-3242.
- Beckles, D. M., Hong, N., Stamova, L., & Luengwilai, K. (2012). Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: a review. *Fruits*, 67(1), 49-64.
- Biais, B., Bénard, C., Beauvoit, B., Colombié, S., Prodhomme, D., Ménard, G., ... & Gibon, Y. (2014). Remarkable reproducibility of enzyme activity profiles in tomato fruits grown under contrasting environments provides a roadmap for studies of fruit metabolism. *Plant Physiology*, 164(3), 1204-1221.

- Brito-Filho, S. G. D., Maciel, J. K. D. S., Teles, Y. C. F., Fernandes, M. M. M. D. S., Chaves, O. S., Ferreira, M. D. L., ... & Souza, M. D. F. V. D. (2017). Phytochemical study of *Pilosocereus pachycladus* and antibiotic-resistance modifying activity of syringaldehyde. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 453-458.
- Brizzolara, S., Manganaris, G. A., Fotopoulos, V., Watkins, C. B., & Tonutti, P. (2020). Primary metabolism in fresh fruits during storage. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1-16.
- Cardoso, D. B. O. S., & Queiroz, L. D. (2011). Caatinga no contexto de uma metacomunidade: evidências da biogeografia, padrões filogenéticos e abundância de espécies em Leguminosas. *Biogeografia da América do Sul: padrões e processos*. São Paulo, Roca, 241-260.
- Carrari, F., & Fernie, A. R. (2006). Metabolic regulation underlying tomato fruit development. *Journal of Experimental Botany*, 57(9), 1883-1897.
- Chen, N., Yu, Z. H., & Xiao, X. G. (2017). Cytosolic and nuclear co-localization of betalain biosynthetic enzymes in tobacco suggests that betalains are synthesized in the cytoplasm and/or nucleus of betalainic plant cells. *Frontiers in Plant Science*, 8, 831.
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual review of Ecology and Systematics*, 31(1), 343-366.
- Christinet, L., Burdet, F. X., Zaiko, M., Hinz, U., & Zryd, J. P. (2004). Characterization and functional identification of a novel plant 4, 5-extradiol dioxygenase involved in betalain pigment biosynthesis in *Portulaca grandiflora*. *Plant Physiology*, 134(1), 265-274.
- Corbesier, L., & Coupland, G. (2006). The quest for florigen: a review of recent progress. *Journal of Experimental Botany*, 57(13), 3395-3403.
- Domingos-Melo, A., Albuquerque-Lima, S., Diniz, U. M., Lopes, A. V., & Machado, I. C. (2023). Bat pollination in the Caatinga: A review of studies and peculiarities of the system in the new world's largest and most diverse seasonally dry tropical forest. *Flora*, 305, 152332.
- Du Plessis, K., Young, P. R., Eyéghé-Bickong, H. A., & Vivier, M. A. (2017). The transcriptional responses and metabolic consequences of acclimation to elevated light exposure in grapevine berries. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1261.
- Foster, A. S. (1939). Problems of structure, growth and evolution in the shoot apex of seed plants. *Botanical Review*, 5(8), 454-470.

- Gomes, V. G. N., Meiado, M. V., Quirino, Z. G. M., de Araujo, H. F. P., & Machado, I. C. (2017). Synchronous fruiting and common seed dispersers of two endemic columnar cacti in the Caatinga, a dry forest in Brazil. *Plant Ecology*, 218, 1325-1338.
- Gonçalves, A. S. M., Peixe, R. G., Sato, A., Muzitano, M. F., de Souza, R. O. M. A., de Barros Machado, T., ... & Leal, I. C. R. (2015). *Pilosocereus arrabidae* (Byles & Rowley) of the Grumari Sandbank, RJ, Brazil: Physical, chemical characterizations and antioxidant activities correlated to detection of flavonoids. *Food Research International*, 70, 110-117.
- Harborne, J. B. (2014). Introduction to ecological biochemistry. Academic press.
- Harwood, J. L. (1988). Fatty acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39(1), 101-138.
- Hernández-Hernández, T., Brown, J. W., Schlumpberger, B. O., Eguiarte, L. E., & Magallón, S. (2014). Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. *New Phytologist*, 202(4), 1382-1397.
- Klee, H. J., & Giovannoni, J. J. (2011). Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. *Annual Review of Genetics*, 45(1), 41-59.
- Latif, S., Chiapusio, G., & Weston, L. A. (2017). Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 82, pp. 19-54). Academic Press.
- Lavor, P., Calvente, A., Versieux, L. M., & Sanmartin, I. (2019). Bayesian spatio-temporal reconstruction reveals rapid diversification and Pleistocene range expansion in the widespread columnar cactus *Pilosocereus*. *Journal of Biogeography*, 46(1), 238-250.
- Lavor, P., Pereira, M. A., Pinto, M. P., Versieux, L. M., & Calvente, A. (2020). Conservation, spatial distribution, and endemism of *Pilosocereus* cacti in xeric environments of the Neotropics. *Journal for Nature Conservation*, 55, 125825.
- Leal, I. R., Lopes, A. V., Machado, I. C., & Tabarelli, M. (2017). Plant–animal interactions in the Caatinga: overview and perspectives. Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America, 255-278.
- Lima-Silva, T., Santos Carvalho, G. D., Xavier, M. A., Lima, J. O., & dos Reis Dias, E. J. (2021). First record of *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata: Tropiduridae) ingesting a fruit of the cactus *Pilosocereus catingicola* in northeastern Brazil. *Herpetology Notes*, 14, 345-348.

- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2017). Discontinuous hydration alters seed germination under stress of two populations of cactus that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. *Seed Science Research*, 27(4), 292-302.
- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2018). Effects of seed hydration memory on initial growth under water deficit of cactus from two populations that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. *Plant Species Biology*, 33(4), 268-275.
- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2023). Changes in seed hydration memory expression in *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & GD Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) seeds produced during rainy and dry season. *Plant Ecology*, 224(8), 705-714.
- Lima, A.T., Santos, C.S., & Meiado, M.V. (2015). Variação interpopulacional de caracteres morfoanatômicos em cladódios de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletado em três ecossistemas do Estado de Sergipe. *Gaia Scientia*, 9(2), 202-206.
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Yin, H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12824.
- Locatelli, E., Machado, I. C., & Medeiros, P. (1997). Floral biology and bat pollination in *Pilosocereus catingicola* (Cactaceae) in northeastern Brazil. *Bradleya*, 15, 28-34.
- Maciel, J. K., Chaves, O. S., Brito Filho, S. G., Teles, Y. C., Fernandes, M. G., Assis, T. S., ... & De Souza, M. D. F. V. (2015). New alcamide and anti-oxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). *Molecules*, 21(1), 11.
- Mattos, R. F. D. J., Lima, I. F. D. C., Meiado, M. V., & Lima, A. T. (2018). Intraspecific allelopathic activity on seed germination of *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae). *Abrates*, 28(1), 32-36.
- Mauseth, J. D. (2006). Structure–function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Annals of Botany*, 98(5), 901-926.
- Mauseth, J. D. (2016). Many cacti have leaves on their “flowers”. *Cactus and Succulent Journal*, 88(2), 60-65.
- Mauseth, J. D. (2016). Many cacti have leaves on their “flowers”. *Cactus and Succulent Journal*, 88(2), 60-65.

- Mauseth, J. D., & Stone-Palmquist, M. E. (2001). Root wood differs strongly from shoot wood within individual plants of many Cactaceae. *International Journal of Plant Sciences*, 162(4), 767-776.
- Medeiros, R. L. S., Souza, V. C., Azeredo, G. D., Pereira, E. M., Barbosa Neto, M. A., Medeiros, V. S., & Barbosa, A. S. (2015). Germinação e vigor de sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (cactaceae) da caatinga paraibana. *Gaia Scientia*, 9(2), 61-66.
- Meiado, M. V., & Almeida, T. S. (2022). Are endangered cacti safe in Brazil?. *Bradleya*, 40, 122-138.
- Meiado, M. V., Albuquerque, L. S. C., Rocha, E. A., & Leal, I. R. (2008). Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Pilosocereus catingicola* subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas*, 5(2), 9-12.
- Menezes, M. O., Zappi, D. C., Moraes, E. M., Franco, F. F., Taylor, N. P., Costa, I. R., & Loiola, M. I. (2016). Pleistocene radiation of coastal species of *Pilosocereus* (Cactaceae) in eastern Brazil. *Journal of Arid Environments*, 135, 22-32.
- Nakashima, T., Araki, T., & Ueno, O. (2011). Photoprotective function of betacyanin in leaves of *Amaranthus cruentus* L. under water stress. *Photosynthetica*, 49, 497-506.
- Nascimento, V. T., De Moura, N. P., da Silva Vasconcelos, M. A., Maciel, M. I. S., & De Albuquerque, U. P. (2011). Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Food Research International*, 44(7), 2112-2119.
- Nelson, A. S., & Whitehead, S. R. (2021). Fruit secondary metabolites shape seed dispersal effectiveness. *Trends in Ecology & Evolution*, 36(12), 1113-1123.
- Nyffeler, R., & Eggli, U. (2010). An up-to-date familial and suprafamilial classification of succulent plants. *Bradleya*, 28, 125-144.
- Ohlrogge, J., & Browse, J. (1995). Lipid biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 957.
- Pérez-López, A. V., Lim, S. D., & Cushman, J. C. (2023). Tissue succulence in plants: Carrying water for climate change. *Journal of Plant Physiology*, 154081.
- Polturak, G., & Aharoni, A. (2018). “La Vie en Rose”: biosynthesis, sources, and applications of betalain pigments. *Molecular Plant*, 11(1), 7-22.

- Quinet, M., Angosto, T., Yuste-Lisbona, F. J., Blanchard-Gros, R., Bigot, S., Martinez, J. P., & Lutts, S. (2019). Tomato fruit development and metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1554.
- Rice, E. L. (2012) Allelopathy. 2° ed, Orlando, FL: Academic Press.
- Rosas-Reinhold, I., Piñeyro-Nelson, A., Rosas, U., & Arias, S. (2021). Blurring the boundaries between a branch and a flower: potential developmental venues in Cactaceae. *Plants*, 10(6), 1134.
- Rocha, E.A., Machado, I.C., Zappi, D. (2007) Fenologia, biologia da polinização e da reprodução de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae) no Nordeste do Brasil. Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas 4, 5–7.
- Ruan, Y. L., & Patrick, J. W. (1995). The cellular pathway of postphloem sugar transport in developing tomato fruit. *Planta*, 196, 434-444.
- Ruxton, G. D., Wilkinson, D. M., Schaefer, H. M., & Sherratt, T. N. (2014). Why fruit rots: theoretical support for Janzen's theory of microbe–macrobe competition. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1782), 20133320.
- Sajeva, M., & Mauseth, J. D. (1991). Leaf-like structure in the photosynthetic, succulent stems of cacti. *Annals of Botany*, 68(5), 405-411.
- Santos, A. P., Hassemer, G., & Meiado, M. V. (2019). Study of the allelopathic potential of the fruit pulp of *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 146(3), 174-181.
- Santos, L. D. A. N., Pereira, I. M., Ribeiro, J. R., & Las-Casas, F. M. (2019). Frugivoria por aves em quatro espécies de Cactaceae na Caatinga, uma floresta seca no Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 109, e2019034.
- Schupp, E. W., Jordano, P., & Gómez, J. M. (2010). Seed dispersal effectiveness revisited: a conceptual review. *New phytologist*, 188(2), 333-353.
- Schwager, H., Masselter, T., Speck, T., & Neinhuis, C. (2013). Functional morphology and biomechanics of branch–stem junctions in columnar cacti. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1772), 20132244.
- Shan, Z., Zhou, S., Shah, A., Arafat, Y., Arif Hussain Rizvi, S., & Shao, H. (2023). Plant allelopathy in response to biotic and abiotic factors. *Agronomy*, 13(9), 2358.

- Silva, A. B., Goodger, J. Q., Woodrow, I. E., de Andrade, A. P., Bruno, R. D. L. A., & de Souza Aquino, I. (2017). Elucidation of the betalainic chromoalkaloid profile of *Pilosocereus catingicola* (Grke) Byles Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) from Parába, Brazil. *African Journal of Agricultural Research*, 12(14), 1236-1243.
- Silva, G. A. R., Antonelli, A., Lendel, A., Moraes, E. D. M., & Manfrin, M. H. (2018). The impact of early Quaternary climate change on the diversification and population dynamics of a South American cactus species. *Journal of Biogeography*, 45(1), 76-88.
- Silva, T. L. (2022) *Tropidurus hygomi* e *Melocactus violaceus* subsp. *margaritaceus*: sauracoria envolvendo duas espécies ameaçadas de extinção da restinga - Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Naturais) – Universidade Federal de Sergipe, Itabaiana.
- Sorrequieta, A., Ferraro, G., Boggio, S. B., & Valle, E. M. (2010). Free amino acid production during tomato fruit ripening: a focus on L-glutamate. *Amino acids*, 38, 1523-1532.
- Souza, R. L. A., Santana, M. F., de Macedo, E. M., de Brito, E. S., & Correia, R. T. (2015). Physicochemical, bioactive and functional evaluation of the exotic fruits *Opuntia ficus-indica* and *Pilosocereus pachycladus* Ritter from the Brazilian caatinga. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 7329-7336.
- Steglich, W., & Strack, D. (1990). Betalains. In The alkaloids: Chemistry and pharmacology (Vol. 39, pp. 1-62). Academic Press.
- Stone-Palmquist, M. E., & Mauseth, J. D. (2002). The structure of enlarged storage roots in cacti. *International Journal of Plant Sciences*, 163(1), 89-98.
- Strack, D., Vogt, T., & Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62(3), 247-269.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Artmed Editora.
- Taylor, N. P., & Zappi, D. C. (2004). Cacti of Eastern Brazil. London, UK: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Tiansawat, P., Beckman, N. G., & Dalling, J. W. (2017). Pre-dispersal seed predators and fungi differ in their effect on *Luehea seemannii* capsule development, seed germination, and dormancy across two Panamanian forests. *Biotropica*, 49(6), 871-880.

- Wang, C., Liu, Z., Wang, Z., Pang, W., Zhang, L., Wen, Z., ... & Yang, C. (2022). Effects of autotoxicity and allelopathy on seed germination and seedling growth in *Medicago truncatula*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 908426.
- Weston, L. A., & Duke, S. O. (2003). Weed and crop allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(3-4), 367-389.
- Whitehead, S. R., Jeffrey, C. S., Leonard, M. D., Dodson, C. D., Dyer, L. A., & Bowers, M. D. (2013). Patterns of secondary metabolite allocation to fruits and seeds in *Piper reticulatum*. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 1373-1384.
- Whitehead, S. R., Quesada, M. F. O., & Bowers, M. D. (2016). Chemical tradeoffs in seed dispersal: defensive metabolites in fruits deter consumption by mutualist bats. *Oikos*, 125(7), 927-937.
- Whitehead, S. R., Schneider, G. F., Dybzinski, R., Nelson, A. S., Gelambi, M., Jos, E., & Beckman, N. G. (2022). Fruits, frugivores, and the evolution of phytochemical diversity. *Oikos*, 2022(2), 1-16.
- Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.
- Zappi, D., & Taylor, N. P. (2023). Cactaceae in Flora e Funga do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Available online: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB70> (accessed on 23 October 2024).

ARTIGO

A ser submetido a Plant Physiology and Biochemistry

Artigo Original

Variações no metabolismo da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionadas pela sazonalidade e o ecossistema de ocorrência

Bruno de Santana Santos^{1,2,*}, Ivan Hurtado Caceres³, Cláudia Maria Furlan³ & Marcos Vinicius Meiado^{1,2}

¹Laboratório de Fisiologia de Sementes, Departamento de Biociências, Universidade Federal de Sergipe, Itabaiana, SE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil.

³Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor para Correspondência: Bruno de Santana Santos (bios17@outlook.com)

Laboratório de Fisiologia de Sementes, Departamento de Biociências, Universidade Federal de Sergipe. Av. Vereador Olímpio Grande, s/n, Bloco D, Campus Professor Alberto Carvalho, Bairro Porto, Itabaiana, Sergipe, Brasil. CEP: 49510-200.

Resumo - Aspectos químicos dos frutos de cactos, como investigações que buscam avaliar os efeitos da sazonalidade e o habitat de ocorrência em diferentes populações de uma mesma espécie, sob o perfil de metabólitos, ainda são pouco exploradas, mas são promissoras. Portanto, o objetivo desse trabalho foi verificar as variações no metabolismo da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi proporcionadas pela sazonalidade e pelo ecossistema de ocorrência de suas populações. Frutos maduros foram coletados durante as estações chuvosa (junho) e seca (dezembro) de 2023 nos municípios de Nossa Senhora da Glória (Caatinga) e Aracaju (Restinga), no estado de Sergipe, Brasil. As amostras foram extraídas utilizando clorofórmio:metanol:água para separar as fases polar e não polar, seguidas de derivatização e análise por Cromatografia a gás acoplada à Espectrometria de Massas (GC-EI MS Agilent Technologies) com uma coluna capilar HP-5MS. Os metabólitos foram anotados por meio do fluxo de trabalho GC Library Search/Molecular Network na plataforma GNPS, e submetidos a análises quimiométricas no MetaboAnalyst. Foi possível anotar 135 metabólitos distribuídos em 19 subclasses químicas. Além disso, nossos resultados demonstraram que as condições ambientais influenciam diretamente no metabolismo da polpa funicular dos frutos, com diferenças associadas à sazonalidade e ao ecossistema de ocorrência. Essas variações refletem as respostas adaptativas das populações às condições ambientais enfrentadas em seus respectivos habitats de ocorrência.

Palavras-chave: Metabolômica não alvo · Polpa funicular · GC-MS · Caatinga · Restinga.

Introdução

Os cactos presentes em ecossistemas áridos e semiáridos desempenham um papel crucial nas redes de frugivoria, fornecendo uma variedade de frutos com polpa mucilaginosa, disponíveis como recurso alimentar nas estações seca e chuvosa (Vázquez-Castillo et al., 2019; Paixão et al., 2023). Esses frutos são consumidos por diversos animais frugívoros presentes nos diferentes habitats de ocorrência dessas espécies, os quais exercem um importante papel na dispersão das sementes (Gomes et al., 2017; Santos et al., 2019). Atualmente, os estudos realizados com esse grupo estão, em grande parte, focados na compreensão da dinâmica populacional, interações planta-animal, crescimento e sucesso reprodutivo (Gomes et al., 2019; Paixão et al., 2023; Fernández-Muñiz et al., 2024; Meiado & Leal, 2024). No entanto, aspectos químicos dos frutos em cactos, como investigações que buscam avaliar os efeitos da sazonalidade e o habitat de ocorrência em diferentes populações de uma espécie sob o perfil de metabólitos ainda são promissoras e pouco exploradas (Santos-Díaz & Camarena-Rangel, 2019).

A região Nordeste do Brasil é caracterizada por ser um dos centros de diversidade de Cactaceae da América do Sul e Central (Ortega-Baes & Godínez-Alvarez, 2006). Dentro dessa diversidade, encontra *Pilosocereus* Byles & Rowley que tive sua origem no final do Plioceno (~2.7 Ma) e está distribuído nos diferentes ecossistemas do Nordeste no Brasil (Lavor et al. 2019). Algumas espécies como, por exemplo, *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi romperam as barreiras geográficas e ecológicas e emergiram suas populações em diferentes ecossistemas (Menezes et al., 2016). Atualmente, a hipótese aceita é que eventos de gargalos em refúgios múltiplos, principalmente entre rios principais, seguidos de expansão populacional e geográfica, fizeram com que a espécie, inicialmente distribuída na Caatinga, alcançasse as regiões de Restinga através da Costa Atlântica Seca (Menezes et al., 2016).

O sucesso reprodutivo dessa espécie é garantido, em partes, pelo seu padrão de interações planta-animal e pelo sucesso durante o processo germinativo. Ao atingir a maturação, os frutos mucilaginosos se abrem e a polpa funicular de coloração magenta fica exposta, servindo de atração visual para animais frugívoros, como aves, lagartos e mamíferos que consomem a polpa junto com as sementes e, consequentemente, as dispersam para longe da planta parental (Moraes et al., 2014; Gomes et al., 2017; Silva et al., 2020; Pereira et al., 2021). Assim que são dispersas no ambiente, as sementes passam naturalmente por eventos de hidratação descontinua o que lhe conferem o aumento no número de sementes germinadas e aquisição de tolerância ao déficit hídrico, o que

garante o sucesso durante o processo germinativo e o estabelecimento inicial das plântulas (Lima & Meiado, 2017; 2023). No entanto, algumas lacunas permanecem em aberto, em relação a composição química desses frutos e as variações na concentração desses metabólitos majoritários frente às variações das condições ambientais proporcionados pelos diferentes ecossistemas onde essa espécie distribui suas populações.

O metabolismo central dos frutos é composto por açúcares, polióis, ácidos orgânicos, aminoácidos e ácidos graxos que podem atuar como moléculas de sinalização e osmoproteção contra os estresses causados pelo calor e seca. As variações nas concentrações desses metabólitos estão correlacionadas com as variações nas condições ambientais (Renth et al., 2016; Rauina et al., 2020). Além disso, os metabólitos primários atuam como percursos dos metabólitos secundários, como os polifenóis, oriundos das vias do chiquimato e do malonato, estando envolvidos na proteção contra excesso de luz ultravioleta e sequestro de radicais livres (Ayenew et al., 2015; Pott et al., 2019). Portanto, neste trabalho, nós realizamos o perfil de metabólitos da polpa funicular mucilaginosa dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* utilizando a técnica de metabolômica não-alvo via Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas. Além disso, nós também comparamos o perfil de metabólitos desses frutos, coletados em áreas de Caatinga e Restinga, durante a estação seca e chuvosa, a fim de responder os seguintes questionamentos: (i) há variação na concentração dos metabólitos majoritários presentes nas polpas funiculares dos frutos coletados nas diferentes populações? (ii) essa variação também é observada entre os frutos coletados nas diferentes estações? Para isso, nós propusemos as seguintes hipóteses: (i) existe diferença nas variações das concentrações dos metabólitos nas duas diferentes populações, inseridas nos diferentes ecossistemas, e (ii) a sazonalidade também afeta a concentração desses metabólitos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi verificar as variações no metabolismo da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* proporcionadas pela sazonalidade e pelo ecossistema de ocorrência de suas populações.

Material e Métodos

Coleta de frutos

Os frutos maduros de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* foram coletados em dois ecossistemas diferentes localizados na região Nordeste do Brasil, durante os períodos de alta e baixa precipitação no ano de 2023. Os frutos foram coletados no município de Nossa Senhora da

Glória, localizado na região do Alto Sertão do Estado de Sergipe, que está inserido na Caatinga, um ecossistema pertencente à Floresta Tropical Sazonalmente Seca. O segundo local de coleta foi na Praia de Aruana, no município de Aracaju, Sergipe, um ambiente que pertence às Restingas da Costa Atlântica, que são Florestas Costeiras Arenosas únicas localizadas na Costa Leste do Brasil. As coletas foram realizadas em junho de 2023, o período de maior precipitação para ambos os ecossistemas, variando de 200,6 mm para a Restinga e temperatura média de 23 °C e 85,6 mm para a Caatinga com temperatura de 22,3 °C, e em dezembro com precipitações de 34,6 mm para a Restinga com temperatura de 27 °C e 6,8 mm para a Caatinga, com 27,2 °C (Figuras 1 e 2) (INMET, 2024).

Análises por GC-MS

As análises foram conduzidas seguindo a metodologia proposta por Roessner et al. (2001), com adaptações realizadas por Sala-Carvalho et al. (2023). Inicialmente, a polpa funicular dos frutos foi congelada e triturada em nitrogênio líquido para separar a polpa das sementes. Em seguida, foi realizada a extração a partir de 20 mg do material moído em 500 µL de clorofórmio:metanol:água (12:5:1). Durante a extração, foram adicionados 60 µL de adonitol (0,2 mg mL⁻¹) e 10 µL de ácido tridecanoico (0,2 mg mL⁻¹) como padrões internos. As amostras foram incubadas por 60 minutos a 65 °C, seguidas de agitação e centrifugação por 5 minutos a 11.000 g. Posteriormente, o sobrenadante foi coletado e transferido para novos microtubos, sendo adicionados 350 µL de água ultrapura. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas por 5 minutos a 2.200 g, separando as fases polares e não polares.

A fase polar foi derivatizada usando 28 µL de cloridrato de metoxiamina (37 °C por 2 horas) e 48 µL de MSTFA (N-Metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida) (37 °C por 30 minutos). As amostras foram analisadas utilizando um sistema de Cromatografia a Gás acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS Agilent Technologies), equipado com uma coluna capilar HP5-MS (Agilent, 30 m x 250 µm x 0,25 µm). O volume de injeção foi de 1 µL, com hélio como fase móvel (a 1,0 mL min⁻¹). A temperatura foi programada para ser isotérmica a 70 °C por 5 minutos, seguida de um aumento de 5°C min⁻¹ até 320 °C, com um tempo total de execução de 55 minutos. As temperaturas do injetor, da fonte de íons e do quadrupolo foram de 230 °C, 200 °C e 150 °C, respectivamente. Além disso, as amostras foram ionizadas por impacto eletrônico a 70 eV, e o

espectrômetro de massas operou no modo de aquisição de varredura completa, variando de 50 a 600 m/z , com uma taxa de varredura de 2,66 ciclos de varredura por segundo.

A fase não polar foi derivatizada com 25 μL de piridina e 25 μL de BSTFA (N, O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida) por 1 hora a 70 °C. O volume de injeção foi de 1 μL , utilizando hélio como fase móvel ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$) no sistema de GC-MS equipado com uma coluna capilar HP5-MS (Agilent, comprimento de 30 m x 250 μm x 0,25 μm). A temperatura inicial da coluna foi ajustada para 100 °C por 5 minutos e, em seguida, aumentada a uma taxa de 5 °C min^{-1} até uma temperatura final de 320 °C. A temperatura de injeção foi de 300 °C; a temperatura da fonte de íons de 230 °C; e a temperatura do quadrupolo de 150 °C. Além disso, a ionização por impacto eletrônico foi de 70 eV, operando no modo de aquisição de varredura completa, variando de 50 a 600 m/z , com uma taxa de varredura de 2,66 ciclos de varredura por segundo.

Processamento de dados GC-MS

Os cromatogramas das fases polar (Figura S1) e não polar (Figura S2) foram analisados separadamente. O processamento de dados dos espectros de massas para cada conjunto [deconvolução, alinhamento de picos e cálculo do índice de retenção linear (IRL) utilizando o padrão de alcanos (C₈ a C₄₀), juntamente com a anotação e desreplicação de compostos] foram realizados usando o fluxo de trabalho GC Library Search/Molecular Network no GNPS (<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/static/gnps-splash.jsp>) (Wang et al., 2016). Isso gerou uma tabela de “*features*” contendo a área do pico, o íon molecular (m/z), o tempo de retenção (TR) e a anotação putativa para cada composto. Um escore mínimo de cosseno de 0,65 e uma janela de IRL de 10 foram aplicados para anotar os compostos.

As anotações de metabólitos foram realizadas seguindo as diretrizes da Metabolomics Standards Initiative (MSI) (Valli et al., 2019), usando os critérios de Nível 2, ou seja, anotação apoiada por um banco de dados espectral. Portanto, o IRL dos compostos anotados foi comparado com três bancos de dados: Golm Metabolome Database (<http://gmd.mpimp-golm.mpg.de>), MassBank Europe (<https://massbank.eu/MassBank/>) e o National Institute of Standards and Technology (<https://webbook.nist.gov>). Além disso, algumas anotações foram confirmadas por uma biblioteca interna de tempos de retenção e espectros de massa de padrões comerciais, sendo o critério de Nível 1. Devido ao fato das amostras da estação chuvosa e seca terem sido analisadas em momentos diferentes, visando manter a integridade dos metabolitos das amostras, nós

comparamos os espectros de massas dos metabólitos anotados para os dois momentos de análises, principalmente no caso de diferenças nos tempos de retenção. Esse procedimento possibilitou uma anotação e comparação dos perfis metabólicos das amostras com maior poder de confiabilidade.

Análises Metabolômicas

Uma matriz de dados foi construída utilizando o Microsoft Excel®, abrangendo as intensidades de área de pico, “*features*” e metadados das amostras, estabelecendo a base para análises estatísticas subsequentes. Seguindo a metodologia descrita por Shah et al. (2023), as variações biológicas nas amostras de plantas foram avaliadas. Um passo fundamental nesse processo envolveu o refinamento dos dados, onde características que apresentam uma razão de abundância Branco/Amostra superior a 1:3 foram sinalizadas como contaminantes putativos e, posteriormente, removidas. Outro passo envolveu a imputação de valores, substituindo zeros através de uma análise da frequência de distribuição da abundância a partir da tabela de quantificação das características e seguindo a estratégia de imputação conhecida como Abaixo do Limite de Detecção.

A tabela de quantificação de características foi filtrada e normalizada (.csv) e carregada no site do MetaboAnalyst versão 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) (Pang et al., 2024) para realizar análises multivariadas utilizando o pacote MetaboAnalystR. A base de dados foi transformada em raiz cúbica e escalonada pelo método de Pareto para a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) (Szymanska et al., 2011). Para a análise de metabólitos diferenciais, a seleção de metabólitos significativamente diferentes foi baseada nos escores de importância da variável na projeção (VIP) obtidos a partir do modelo PLS-DA ($VIP \geq 1$) (Szymanska et al., 2011). No entanto, como a análise PLS-DA é uma técnica discriminante suscetível a *overfitting*, a robustez e o desempenho do modelo foram avaliados por meio de validação cruzada e testes de permutação. Por fim, foi realizada uma análise de vias metabólicas utilizando o MetPA (Análise de Vias Metabólicas), uma funcionalidade integrada no conjunto de ferramentas do MetaboAnalystR, aproveitando as vias metabólicas estabelecidas no Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/>) para [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae)] como o principal recurso para elucidação de vias em plantas derivadas. As representações gráficas foram geradas nos Softwares MetaboAnalyst 6.0 e R Studio (R Core Team, 2024).

Resultados

Metabólitos polares detectados via GC-MS

A polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* coletados em diferentes populações durante as estações seca e chuvosa analisada por GC-MS, permitiu a detecção e anotação de 80 metabólitos na fase polar (Tabelas S1 e S2). Esses metabólitos pertencem às classes de ácidos orgânicos, aminoácidos, compostos nitrogenados, feniletanoides, nucleosídeos, entre os derivados de açúcar, ácidos de açúcares, fosfatos de açúcares, álcoois de açúcares (polióis), mono, di e trissacarídeos, e outros metabólitos.

Os resultados para essa análise de PLS-DA permitiram identificar diferenças significativas no perfil de metabólitos da polpa funicular dos frutos (Figura 3a), evidenciadas pelos fatores da estação e população. A validação cruzada apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,55, demonstrando que o modelo conseguiu capturar de forma efetiva a variabilidade observada nos dados. Além disso, o coeficiente de predição cruzada (Q^2) foi de 0,4, indicando uma boa precisão preditiva (Figura S3a). O teste de permutação revelou um valor de p empírico de 5^{-04} (0/2000), confirmando que a separação gerada pelo modelo PLS-DA não ocorreu ao acaso (Figura S3b). Os valores dos VIPs foram considerados elementos essenciais nessa diferenciação, permitindo identificar os metabólitos que contribuíram de forma crucial para a classificação e discriminação das amostras ($VIP \geq 1$) (Figura 3b).

As diferenças aqui observadas estão diretamente relacionadas à sazonalidade, permitindo variações intraespécificas entre as populações. Durante a estação chuvosa, o metabolismo de carboidratos destacou-se como o mais regulado nas comparações entre as populações, com ênfase nas vias de biossíntese de galactose, amido e sacarose, no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), bem como nos açúcares amino e nucleosídeos. Além disso, o metabolismo de aminoácidos e glicerolipídeos também se evidenciaram entre as amostras comparadas (Figura 4a).

Durante a estação seca, observou-se um impacto reduzido nas vias metabólicas destacadas anteriormente (Figura 4b). Os metabólitos associados à via da galactose, não apresentaram diferenças significativas nas concentrações entre os frutos coletados nas populações da Caatinga e da Restinga. Nas vias metabólicas de glicerolipídeos, ciclo do TCA e metabolismo de amido e sacarose também não foram observadas alterações significativas nas concentrações dos metabólitos majoritários detectados. Portanto, o impacto no metabolismo da polpa funicular dos

frutos está diretamente associado à sazonalidade, sendo a variação intraespecífica atribuída às diferenças nas condições ambientais às quais essas populações estão expostas.

Metabólitos não polares detectados via GC-MS

Na fase não polar, foram anotados 45 metabólitos (Tabelas S3 e S4), distribuídos entre as seguintes classes químicas: alcanos, ácidos orgânicos, ácidos graxos e seus derivados, dissacarídeos, flavonoides, fitoesteróis, polióis, polissacarídeos, terpenos e outros compostos.

Os resultados para análise de PLS-DA permitiu identificar diferenças significativas nos perfis dos metabólitos da polpa dos frutos entre os grupos comparados (Figura 5a), evidenciadas pelos fatores da estação e população. A validação cruzada apresentou um R^2 de 0,52, demonstrando que o modelo conseguiu capturar de forma efetiva a variabilidade observada nos dados. No entanto, Q^2 foi de 0,22, indicando uma baixa precisão preditiva, sendo influenciado pela variabilidade entre as repetições e pelo baixo número de metabólitos que auxiliaram nas diferenciações entre os grupos (Figura S3c). Os resultados para o teste de permutação revelaram um valor de p empírico de 5^{-04} (0/2000), confirmando que a separação gerada pelo modelo PLS-DA não ocorreu ao acaso (Figura S3d). Visto que o nosso modelo de PLS-DA, criado para analisar o perfil de metabólitos na fase não polar, evidenciou uma discriminação significativa e confiável, mesmo com o baixo número de metabólitos que apresentaram $VIP \geq 1$ (Figura 5b).

Durante a estação chuvosa, observou-se um impacto significativo nas vias metabólicas relacionadas à biossíntese de cutina, suberina e ceras, além do metabolismo do ácido linoleico e dos ácidos graxos (Figura 6a). Em contraste, na estação seca, o impacto nessas vias foi reduzido. Nesse período, destacaram-se compostos tipicamente encontrados na fase polar, associados ao metabolismo da galactose e ao metabolismo de amido e sacarose, que se mostraram os principais influenciadores das vias metabólicas analisadas (Figura 6b).

Discussão

Na polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, foi possível identificar a presença de diversos açúcares em altas concentrações, principalmente glicose e frutose. Durante a fase inicial do desenvolvimento dos frutos, os açúcares são predominantemente transportados para as células via simplasto, um processo facilitado pela presença de plasmodesmos e conexões celulares (Zang & Turgeon, 2018). Nesse período, pequenas quantidades de sacarose são

descarregadas no apoplasto e subsequentemente transportadas para o interior das células através da ação de transportadores de hexoses e invertases, que hidrolisam a sacarose em glicose e frutose (Julius et al., 2017). Dentro das células, a sacarose também pode ser metabolizada por sacarose sintases (SuSy), que catalisam sua conversão em UDP-glicose e frutose. Esse processo é crucial para a síntese de polímeros de carboidratos, como amido, pectinas ou celulose e para a geração de energia. Esses metabólitos são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento dos frutos, além de contribuírem para a produção de compostos envolvidos na maturação e na dispersão de sementes (Braun et al., 2014).

Durante o processo de maturação dos frutos, ocorre uma série de mudanças metabólicas significativas. O amido acumulado durante as fases anteriores do desenvolvimento começa a ser degradado por enzimas amilolíticas, como a α e β -amilase, gerando maltose, trealose e glicose (Futon et al., 2008; Xiao et al., 2017). Esses açúcares tornam-se a principal fonte de carbono e energia para o metabolismo celular, corroborando com os nossos resultados aqui encontrados, visto que observamos na fase polar uma maior concentração e atividade do metabolismo de carboidratos. Ao mesmo tempo, as células dos frutos intensificam a expressão de proteínas e enzimas envolvidas no ciclo do TCA (Vallarino & Osorio, 2019). Esse ciclo é essencial para a respiração celular, convertendo os produtos da degradação do amido em energia na forma de ATP, além de produzir intermediários metabólicos necessários para a biossíntese de compostos secundários e precursores aromáticos (Zang & Fernie, 2018). É durante essa etapa que se observa um aumento nas concentrações de ácidos orgânicos, como ácido málico e ácido cítrico, que são intermediários no ciclo do TCA (Walker & Famiani, 2018), também observado em nossos resultados. Esses compostos desempenham papel duplo: contribuem para a manutenção da respiração celular e influenciam as características organolépticas dos frutos, como sabor e acidez (Biais et al., 2014).

O glicerol e o glicerato, ambos estão associados ao metabolismo de glicerolipídeos, desempenhando papéis interconectados nos frutos maduros, refletindo a complexidade das vias metabólicas envolvidas. Isso ocorre porque durante a hidrólise de triacilgliceróis catalisada por lipases, ocorre a liberação de ácidos graxos livres e glicerol, que pode atuar como precursor para várias vias metabólicas (Xiu & Shanklin, 2016). O glicerol é fosforilado pelo glicerol quinase, formando glicerol-3-fosfato, que é posteriormente oxidado pela glicerol-3-fosfato desidrogenase, gerando diidroxiacetona fosfato (DHAP) (Xiu & Shanklin, 2016). Esse intermediário conecta

diretamente o glicerol à via glicolítica e, indiretamente, ao ciclo do TCA, fornecendo energia e precursores para outras biossínteses. Por outro lado, o glicerato pode surgir como intermediário em processos metabólicos relacionados, como a oxidação do glicerol ou no metabolismo de compostos derivados de carboidratos (Igamberdiev & Kleczkowski, 2018). A presença simultânea de glicerol e glicerato nos frutos sugere uma regulação dinâmica no metabolismo de glicerolipídeos, equilibrando a utilização de lipídeos armazenados para energia, respiração celular e formação de novos compostos bioquímicos essenciais para a maturação e dispersão dos frutos (Carrari & Fernie, 2006), sendo possível observar a presença desses compostos na polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*.

Este trabalho é o segundo a reportar metabólitos relacionados ao metabolismo de ácidos graxos, incluindo ácido esteárico (C_{18:0}), ácido *cis*-oleico (C_{18:1;9}), ácido *trans*-oleico (C_{18:1;9}), ácido linoleico (C_{18:2}), ácido palmítico (C_{16:0}) e ácido araquídico (C_{20:0}) em frutos de cactos. O primeiro relato desses compostos em frutos de Cactaceae foi realizado em *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Andreu-Coll et al., 2019). O metabolismo dos ácidos graxos desempenha papéis fisiológicos fundamentais nas células, atuando tanto na geração de energia quanto na formação de estruturas relacionados à membrana celular. Esses metabólitos são compostos por uma cadeia de hidrocarbonetos e um grupo carboxílico, que geralmente se liga ao glicerol, formando acilglicerídeos (mono-, di- ou triglycerídeos). Além disso, os ácidos graxos podem ser classificados como saturados ou insaturados, dependendo das características da cadeia de hidrocarbonetos (Mornar et al., 2014). Outros lipídeos detectados na polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* foram os esteróides. Esteróides são lipídeos anfipáticos produzidos a partir da acetil-coenzima A e estão presentes nas membranas das células vegetais (Bradford & Awad, 2007). O único registro de esteróides em cactos foi em *O. ficus-indica*, onde foram identificados β-sitosterol e β-campesterol em cládodios (Pragasam et al., 2013; Boz, 2015).

Nossos resultados mostram que os metabólitos presentes na fase polar e não polar da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* coletados durante a estação chuvosa apresentaram concentrações significativamente maiores na população da Caatinga em comparação com os frutos da Restinga. Essa diferença pode ser atribuída às condições climáticas contrastantes entre os dois ecossistemas, sendo que a Restinga registrou maior índice de precipitação em relação à Caatinga no mesmo período. Por outro lado, durante a estação seca, foi observada uma estabilidade nas concentrações dos metabólitos detectados, sem diferenças significativas entre as

populações de ambos os ecossistemas. Esse padrão reflete as condições climáticas semelhantes, particularmente em relação à precipitação e temperatura, registradas para os dois ambientes nesse período.

Essas variações nas concentrações dos metabólitos refletem expressões fenotípicas das diferentes populações, resultado da combinação de características funcionais específicas de cada espécie. Esse ajuste permite a modulação do metabolismo para assegurar funções bioquímicas e fisiológicas otimizadas, mantendo um estado homeostático frente à disponibilidade de recursos no ambiente (Gargallo-Garriga et al., 2020; Pang et al., 2021). Além desse ajuste metabólico, cada espécie ou população dentro de uma mesma espécie apresenta um grau de plasticidade fenotípica, essencial para lidar com mudanças ambientais, como as variações sazonais no clima (Peñuelas et al., 2018). Como genótipos singulares, moldados pelo processo evolutivo para sobreviver em condições ambientais específicas, as espécies exibem combinações exclusivas de estratégias para utilização eficiente de recursos. Esse comportamento é regulado por múltiplas vias metabólicas que operam em diferentes níveis, otimizando o uso de nutrientes, luz e água, promovendo uma aclimatação eficiente às condições ambientais dinâmicas, garantindo os mecanismos de defesa contra os fatores de estresses ambientais (Peñuelas et al., 2018).

Nesse sentido, as variações aqui observadas, na síntese e degradação de metabólitos desempenham um papel fundamental no ajuste do metabolismo das plantas às adversidades ambientais (Sardans et al., 2020). Espécies com populações distribuídas em ecossistemas semiáridos, como a Caatinga, que enfrentam historicamente eventos climáticos de secas devido as condições de baixa disponibilidade hídrica e altas temperaturas que caracterizam o ecossistema. Nessas condições, é esperado um aumento significativo nos metabólitos relacionados ao metabolismo de carboidratos, especialmente durante períodos de seca mais intensa, acompanhado por aumentos nas concentrações de ácidos orgânicos derivados do metabolismo do ciclo do TCA (Feng & Fu, 2013; Ullah et al., 2017; Llanes et al., 2018). Esse comportamento ocorre como resposta ao déficit hídrico, quando diversas plantas ativam vias metabólicas da glicose para produzir compostos como xilulose, xilose, inositol e vários polióis (Bianco et al., 2000). Os polióis por sua vez, desempenham papéis cruciais como osmoprotetores e, em alguns casos, como o manitol, atuam como protetores enzimáticos, preservando enzimas reguladas por tiol contra a inativação causada pelas espécies reativas de oxigênio (Shen et al., 1997), o qual é observado em nossos resultados a sua presença durante os frutos coletados na estação seca, independente da

população estudada. Esse mecanismo é especialmente importante para combater o aumento do radical hidroxila, que se torna mais abundante durante o estresse oxidativo induzido pela seca (Chaves et al., 2003).

Além disso, durante a estação seca, foi detectada na polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* a presença de monoacilgliceróis saturados derivados dos ácidos palmítico e esteárico, como 1 e 2-monopalmitina e 1 e 2-monoestearina. Sob condições de déficit hídrico, ocorre um aumento na saturação dos ácidos graxos da membrana plasmática, resultando em maior rigidez da membrana (Lopez-Perez et al., 2009). Os ácidos graxos saturados desempenham um papel essencial na modulação da fluidez da membrana em resposta a condições ambientais adversas, enquanto o aumento nas quantidades desses ácidos graxos, como o ácido palmítico, está relacionado tanto à manutenção da fluidez da membrana quanto à síntese de lipídios complexos, funcionando como uma estratégia adaptativa frente ao estresse causado pela seca (Ullah et al., 2022).

Conclusão

Com os resultados do presente estudo é possível concluir que as condições ambientais influenciam diretamente o metabolismo da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* em diferentes ecossistemas. As variações aqui observadas estão relacionadas à sazonalidade, resultando em diferenças entre as populações de uma mesma espécie. Durante a estação chuvosa, o metabolismo de carboidratos é ajustado, com destaque para as vias de biossíntese de galactose, amido e sacarose, o ciclo do TCA e os açúcares amino e nucleosídeos. Também se evidenciaram alterações no metabolismo de aminoácidos e glicerolipídeos, além de um impacto significativo nas vias relacionadas à biossíntese de cutina, suberina e ceras, bem como no metabolismo do ácido linoleico e dos ácidos graxos. Em contraste, na estação seca, o impacto nessas vias foi reduzido, com predominância de compostos da fase não polar associados a presença de monoacilgliceróis. Assim, o metabolismo da polpa funicular dos frutos da espécie estudada está diretamente associado à sazonalidade em que foram produzidos, com a variação intraespecífica refletindo as diferenças nas condições ambientais enfrentadas pelas diferentes populações, o que corrobora as hipóteses apresentadas neste estudo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – Brasil) pela concessão da bolsa de nível mestrado concedida ao primeiro autor sob o número do processo 88887.835722/2023-00.

Contribuições dos autores

Conceitualização: Bruno de Santana Santos; Cláudia Maria Furlan e Marcos Vinicius Meiado. Investigação, Metodologia e Curadoria de Dados: Bruno de Santana Santos; Ivan Hurtado Caceres e Cláudia Maria Furlan. Redação – rascunho original: Bruno de Santana Santos. Redação – revisão e edição: Cláudia Maria Furlan e Marcos Vinicius Meiado. Supervisão: Cláudia Maria Furlan e Marcos Vinicius Meiado.

Disponibilidade de Dados

Todos os dados gerados a partir desta pesquisa podem ser disponibilizados mediante solicitação ao autor correspondente.

Análise de Dados

Library Search/Networking Polar Estação Chuvosa

<<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=046029d1a3a94c7e85e2c23dab2ac96d>>

Library Search/Networking Não Polar Estação Chuvosa

<<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=046029d1a3a94c7e85e2c23dab2ac96d>>

Library Search/Networking Não Polar Estação Seca

<<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=d7f5175ae4d048dc96cb33eccee16162>>

Library Search/Networking Polar Estação Sea

<<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=f298148035094468bd86de30736a0abb>>

Declarações

Conflitos de interesse

Até onde sabemos, nenhum conflito de interesse, financeiro ou não financeiro, foi identificado para esta pesquisa.

Referências

- Andreu-Coll, L., Cano-Lamadrid, M., Sendra, E., Carbonell-Barrachina, A., Legua, P., & Hernandez, F. (2019). Fatty acid profile of fruits (pulp and peel) and cladodes (young and old) of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] from six Spanish cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84, 103294.
- Ayenew, B., Degu, A., Manela, N., Perl, A., Shamir, M. O., & Fait, A. (2015). Metabolite profiling and transcript analysis reveal specificities in the response of a berry derived cell culture to abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 6, 728.
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., & Abderrabba, M. (2021). Bioactive compounds of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Bioactive compounds in underutilized vegetables and legumes*, 171-209.
- Boz, H. (2015). p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(11), 2323-2328.
- Bradford, P. G., & Awad, A. B. (2007). Phytosterols as anticancer compounds. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(2), 161-170.
- Braun, D. M., Wang, L., & Ruan, Y. L. (2014). Understanding and manipulating sucrose phloem loading, unloading, metabolism, and signalling to enhance crop yield and food security. *Journal of experimental botany*, 65(7), 1713-1735.
- Carrari, F., & Fernie, A. R. (2006). Metabolic regulation underlying tomato fruit development. *Journal of Experimental Botany*, 57(9), 1883-1897.
- Du Plessis, K., Young, P. R., Eyéghé-Bickong, H. A., & Vivier, M. A. (2017). The transcriptional responses and metabolic consequences of acclimation to elevated light exposure in grapevine berries. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1261.
- Fernández-Muñiz, T., Mandujano, M. C., & Bürquez, A. (2024). Trade-off dynamics in a rare cactus: What are the demographic consequences of temporal variation in fitness?. *Journal of Arid Environments*, 221, 105135.
- Fulton, D. C., Stettler, M., Mettler, T., Vaughan, C. K., Li, J., Francisco, P., ... & Zeeman, S. C. (2008). β -AMYLASE4, a noncatalytic protein required for starch breakdown, acts upstream of three active β -amylases in *Arabidopsis* chloroplasts. *The Plant Cell*, 20(4), 1040-1058.

- Gomes, V. G. N., Meiado, M. V., Quirino, Z. G. M., de Araujo, H. F. P., & Machado, I. C. (2017). Synchronous fruiting and common seed dispersers of two endemic columnar cacti in the Caatinga, a dry forest in Brazil. *Plant Ecology*, 218, 1325-1338.
- Gomes, V. G. N., Valiente-Banuet, A., & Araujo, A. C. (2019). Reproductive phenology of cacti species in the Brazilian Chaco. *Journal of Arid Environments*, 161, 85-93.
- Igamberdiev, A. U., & Kleczkowski, L. A. (2018). The glycerate and phosphorylated pathways of serine synthesis in plants: the branches of plant glycolysis linking carbon and nitrogen metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 9, 318.
- Julius, B. T., Leach, K. A., Tran, T. M., Mertz, R. A., & Braun, D. M. (2017). Sugar transporters in plants: new insights and discoveries. *Plant and Cell Physiology*, 58(9), 1442-1460.
- Lavor, P., Calvente, A., Versieux, L. M., & Sanmartin, I. (2019). Bayesian spatio-temporal reconstruction reveals rapid diversification and Pleistocene range expansion in the widespread columnar cactus *Pilosocereus*. *Journal of Biogeography*, 46(1), 238-250.
- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2018). Effects of seed hydration memory on initial growth under water deficit of cactus from two populations that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. *Plant Species Biology*, 33(4), 268-275.
- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2023). Changes in seed hydration memory expression in *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & GD Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) seeds produced during rainy and dry season. *Plant Ecology*, 224(8), 705-714.
- López-Pérez, L., del Carmen Martínez-Ballesta, M., Maurel, C., & Carvajal, M. (2009). Changes in plasma membrane lipids, aquaporins and proton pump of broccoli roots, as an adaptation mechanism to salinity. *Phytochemistry*, 70(4), 492-500.
- Lombardo, V. A., Osorio, S., Borsani, J., Lauxmann, M. A., Bustamante, C. A., Budde, C. O., ... & Drincovich, M. F. (2011). Metabolic profiling during peach fruit development and ripening reveals the metabolic networks that underpin each developmental stage. *Plant Physiology*, 157(4), 1696-1710.
- Meiado, M. V., & Leal, I. R. (2024). Biotic and abiotic factors affect soil seed bank of cacti in the Caatinga, a Seasonally Dry Tropical Forest. *Bradleya*, 2024(42), 46-57.

- Menezes, M. O., Zappi, D. C., Moraes, E. M., Franco, F. F., Taylor, N. P., Costa, I. R., & Loiola, M. I. (2016). Pleistocene radiation of coastal species of *Pilosocereus* (Cactaceae) in eastern Brazil. *Journal of Arid Environments*, 135, 22-32.
- Moraes, B. L. C., Da Silva Souto, A., & Schiel, N. (2014). Adaptability in stone tool use by wild capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*). *American Journal of Primatology*, 76(10), 967-977.
- Nakashima, T., Araki, T., & Ueno, O. (2011). Photoprotective function of betacyanin in leaves of Amaranthus cruentus L. under water stress. *Photosynthetica*, 49, 497-506.
- Ortega-Baes, P., & Godínez-Alvarez, H. (2006). Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity & Conservation*, 15, 817-827.
- Paixão, V. H. F., Gomes, V. G. N., de Souza, C. S., & Venticinque, E. M. (2023). Cactus height increases the modularity of a plant-frugivore network in the Caatinga dry forest. *Biotropica*, 55(4), 877-887.
- Pereira, M. R. S., da Silva, T. G., do Amaral Ramos, G. J., & Correia, C. C. (2021). Visitantes florais em duas espécies do gênero *Pilosocereus* (Cactaceae Juss.) em área de Caatinga. *Diversitas Journal*, 6(1), 584-600.
- Pott, D. M., Osorio, S., & Vallarino, J. G. (2019). From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 835.
- Pott, D. M., Osorio, S., & Vallarino, J. G. (2019). From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 835.
- Pragasam, S. J., Venkatesan, V., & Rasool, M. (2013). Immunomodulatory and anti-inflammatory effect of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol on experimental inflammation in rats. *Inflammation*, 36, 169-176.
- Reshef, N., Walbaum, N., Agam, N., & Fait, A. (2017). Sunlight modulates fruit metabolic profile and shapes the spatial pattern of compound accumulation within the grape cluster. *Frontiers in Plant Science*, 8, 70.

- Rienth, M., Torregrosa, L., Sarah, G., Ardisson, M., Brillonet, J. M., & Romieu, C. (2016). Temperature desynchronizes sugar and organic acid metabolism in ripening grapevine fruits and remodels their transcriptome. *BMC Plant Biology*, 16, 1-23.
- Rouina, Y. B., Zouari, M., Zouari, N., Rouina, B. B., & Bouaziz, M. (2020). Olive tree (*Olea europaea* L. cv. *Zelmati*) grown in hot desert climate: Physio-biochemical responses and olive oil quality. *Scientia Horticulturae*, 261, 108915.
- Sala-Carvalho, W. R., Montessi-Amaral, F. P., Esposito, M. P., Campestrini, R., Rossi, M., Peralta, D. F., & Furlan, C. M. (2022). Metabolome of *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., a cosmopolitan moss: the influence of seasonality. *Planta*, 255(4), 77.
- Santos-Díaz, M. D. S., & Camarena-Rangel, N. G. (2019). Cacti for production of metabolites: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(21), 8657-8667.
- Santos, L. D. A. N., Pereira, I. M., Ribeiro, J. R., & Las-Casas, F. M. (2019). Frugivoria por aves em quatro espécies de Cactaceae na Caatinga, uma floresta seca no Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 109, e2019034.
- Shen, B., Jensen, R. G., & Bohnert, H. J. (1997). Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiology*, 115(2), 527-532.
- Silva, A. C., & Souza, A. F. (2018). Aridity drives plant biogeographical sub regions in the Caatinga, the largest tropical dry forest and woodland block in South America. *PLoS One*, 13(4), e0196130.
- Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K., & Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. *Metabolomics*, 8, 3-16.
- Ullah, S., Khan, M. N., Lodhi, S. S., Ahmed, I., Tayyab, M., Mehmood, T., ... & Akram, M. (2022). Targeted metabolomics reveals fatty acid abundance adjustments as playing a crucial role in drought-stress response and post-drought recovery in wheat. *Frontiers in Genetics*, 13, 972696.
- Vallarino, J. G., & Osorio, S. (2019). *Organic acids*. In *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* (pp. 207-224). Woodhead Publishing.

- Valli, M., Russo, H. M., Pilon, A. C., Pinto, M. E. F., Dias, N. B., Freire, R. T., ... & Bolzani, V. D. S. (2019). Computational methods for NMR and MS for structure elucidation II: database resources and advanced methods. *Physical Sciences Reviews*, 4(11), 20180167.
- Vázquez-Castillo, S., Miranda-Jácome, A., & Ruelas Inzunza, E. (2019). Patterns of frugivory in the columnar cactus *Pilosocereus leucocephalus*. *Ecology and Evolution*, 9(3), 1268-1277.
- Walker, R. P., & Famiani, F. (2018). Organic acids in fruits: metabolism, functions and contents. *Horticultural Reviews*, 45, 371-430.
- Wang, M., Carver, J. J., Phelan, V. V., Sanchez, L. M., Garg, N., Peng, Y., ... & Bandeira, N. (2016). Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, 34(8), 828-837.
- Xiao, Y. Y., Kuang, J. F., Qi, X. N., Ye, Y. J., Wu, Z. X., Chen, J. Y., & Lu, W. J. (2018). A comprehensive investigation of starch degradation process and identification of a transcriptional activator Mab HLH 6 during banana fruit ripening. *Plant Biotechnology Journal*, 16(1), 151-164.
- Xu, C., & Shanklin, J. (2016). Triacylglycerol metabolism, function, and accumulation in plant vegetative tissues. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1), 179-206.
- Zhang, C., & Turgeon, R. (2018). Mechanisms of phloem loading. *Current Opinion in Plant Biology*, 43, 71-75.
- Zhang, Y., & Fernie, A. R. (2018). On the role of the tricarboxylic acid cycle in plant productivity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(12), 1199-1216.

INFORMAÇÃO DE SUPORTE

Apêndice S1. Figuras Suplementares

Apêndice S2. Tabelas Suplementares

LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1. Mapa de precipitação (mm) para o Estado de Sergipe, Brasil, nos meses de junho e dezembro do ano 2023. Os frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] foram coletados nos municípios de Nossa Senhora da Glória, um ambiente de Caatinga, e no município de Aracaju, um ambiente de Restinga. Mapa elaborado no software QGIS a partir da interpolação de dados de precipitação das bases meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMT) (QGIS Development Team 2024; INMT, 2024).

Figura 2. Mapa de temperatura média para o Estado de Sergipe, Brasil, nos meses de junho e dezembro do ano 2023. Os frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] foram coletados nos municípios de Nossa Senhora da Glória, um ambiente de Caatinga, e no município de Aracaju, um ambiente de Restinga. Mapa elaborado no software QGIS a partir da interpolação de dados de temperatura média das bases meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMT) (QGIS Development Team 2024; INMT, 2024).

Figura 3. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) da fase polar dos metabólitos presentes na polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção ($VIP \geq 1$), dados expressos em mg/g de material vegetal escalonados em \log_{10} .

Figura 4. Vias metabólicas (MetPA) mapeadas a partir dos metabólitos diferenciais detectados na fase polar da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados nos ecossistemas de Caatinga e Restinga durante a estação chuvosa (a) e seca (b). O eixo Y (-log (p)) representa o valor de p da análise de enriquecimento de vias metabólicas (cores mais escuras indicam o nível de significância do enriquecimento), enquanto o eixo X denota o fator de impacto da análise topológica (círculos maiores indicam maior impacto).

Figura 5. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) da fase não polar dos metabólitos presentes na polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da

Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção (VIP ≥ 1), dados expressos em mg/g de material vegetal escalonados em \log_{10} .

Figura 6. Vias metabólicas (MetPA) mapeadas a partir dos metabólitos diferenciais detectados na fase não polar da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catenicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados nos ecossistemas de Caatinga e Restinga durante a estação chuvosa (a) e seca (b). O eixo Y (-log (p)) representa o valor de p da análise de enriquecimento de vias metabólicas (cores mais escuras indicam o nível de significância do enriquecimento), enquanto o eixo X denota o fator de impacto da análise topológica (círculos maiores indicam maior impacto).

FIGURAS

Figura 1.

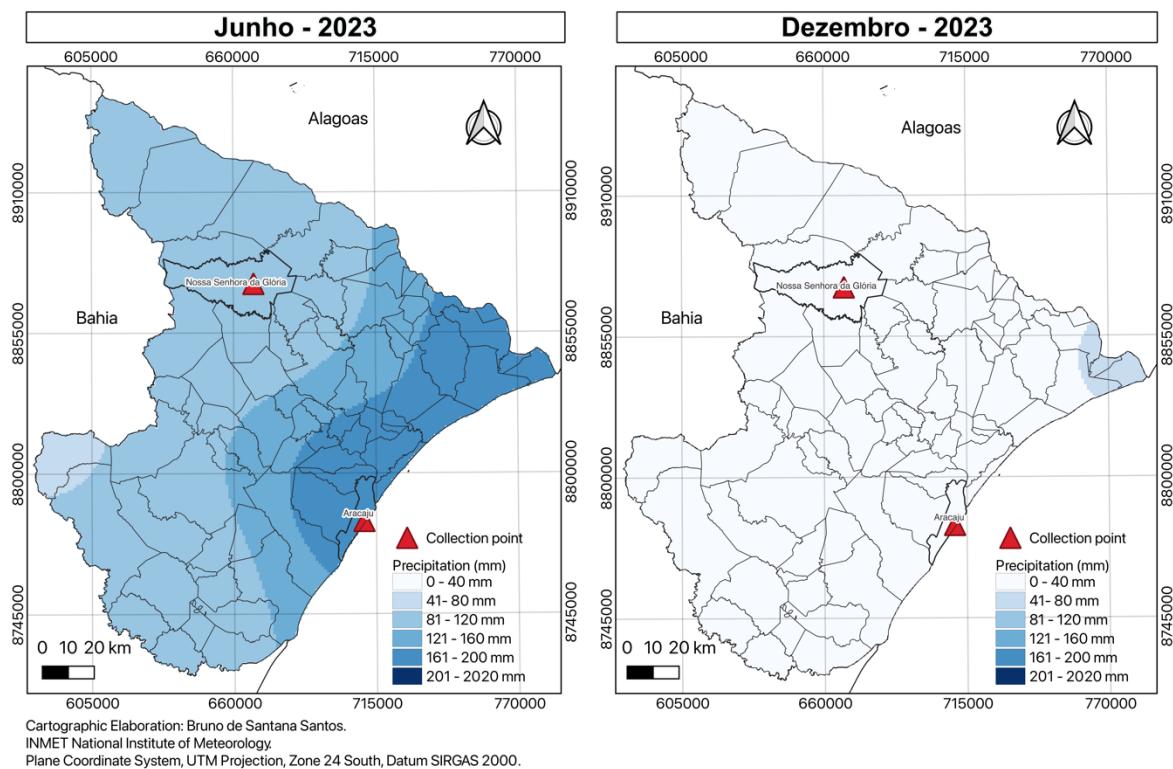
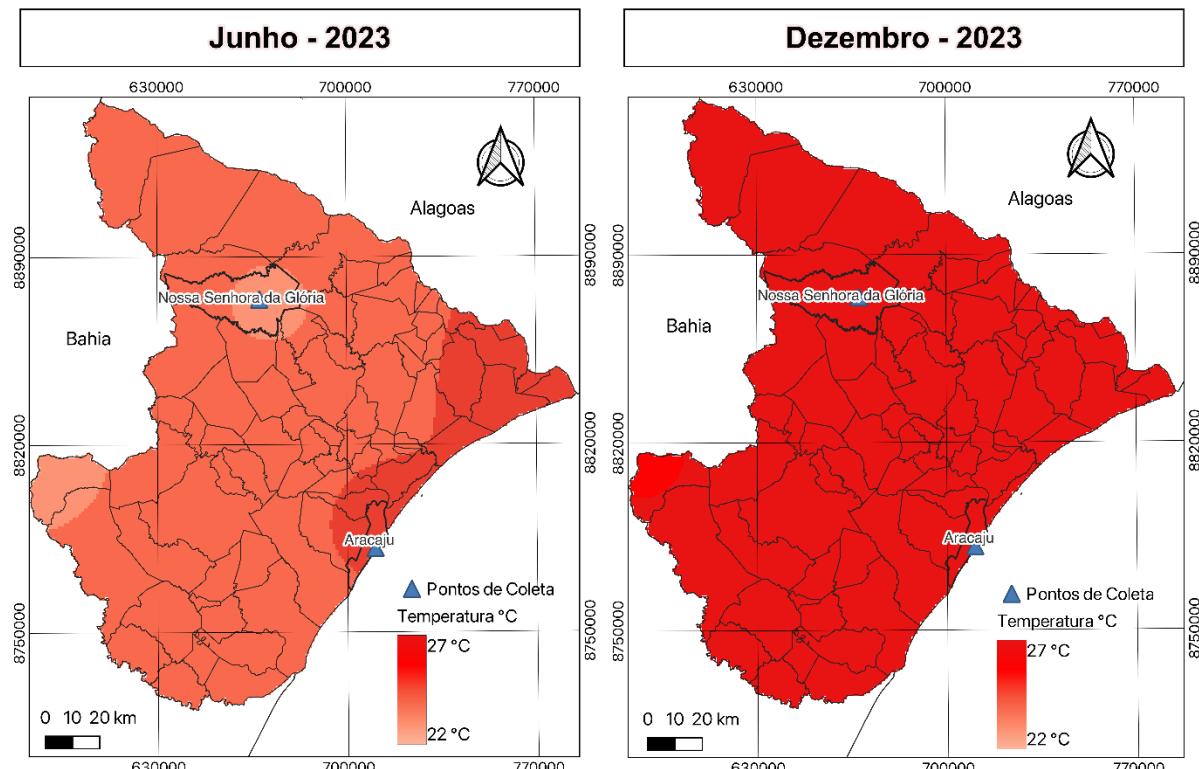


Figura 2.



Elaboração Cartográfica: Bruno de Santana Santos

INMET Instituto Nacional de Meteorologia

Sistema de Coordenadas Planas, Projeção UTM, Zona 24 Sul, Datum SIRGAS 2000.

Figura 3.

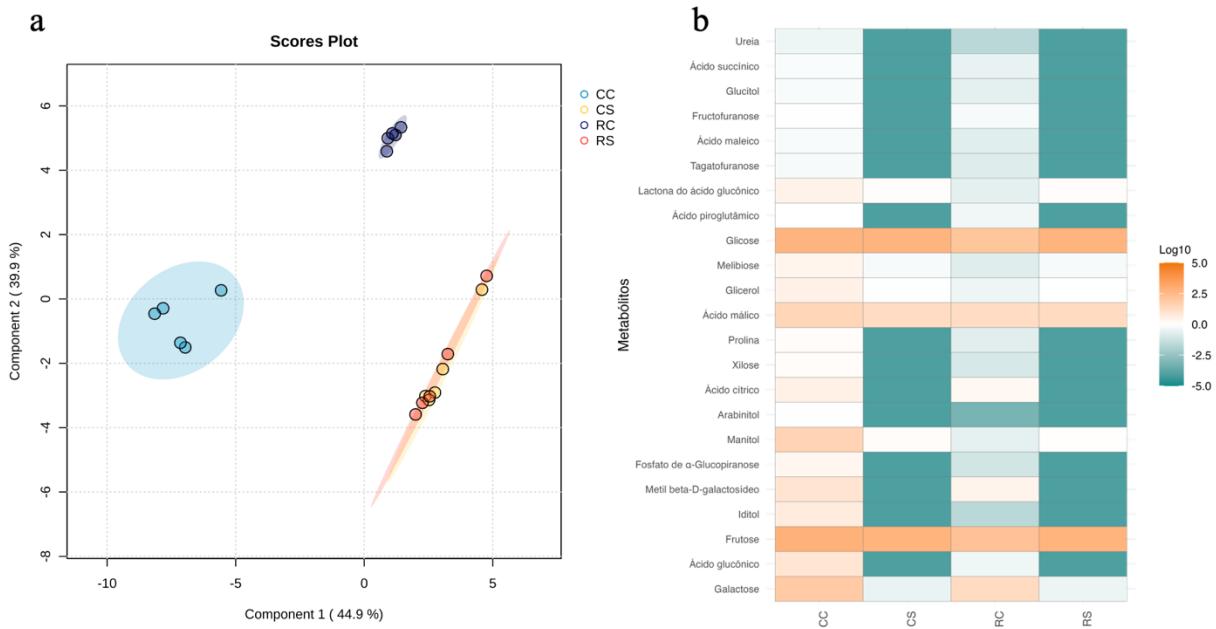


Figura 4.

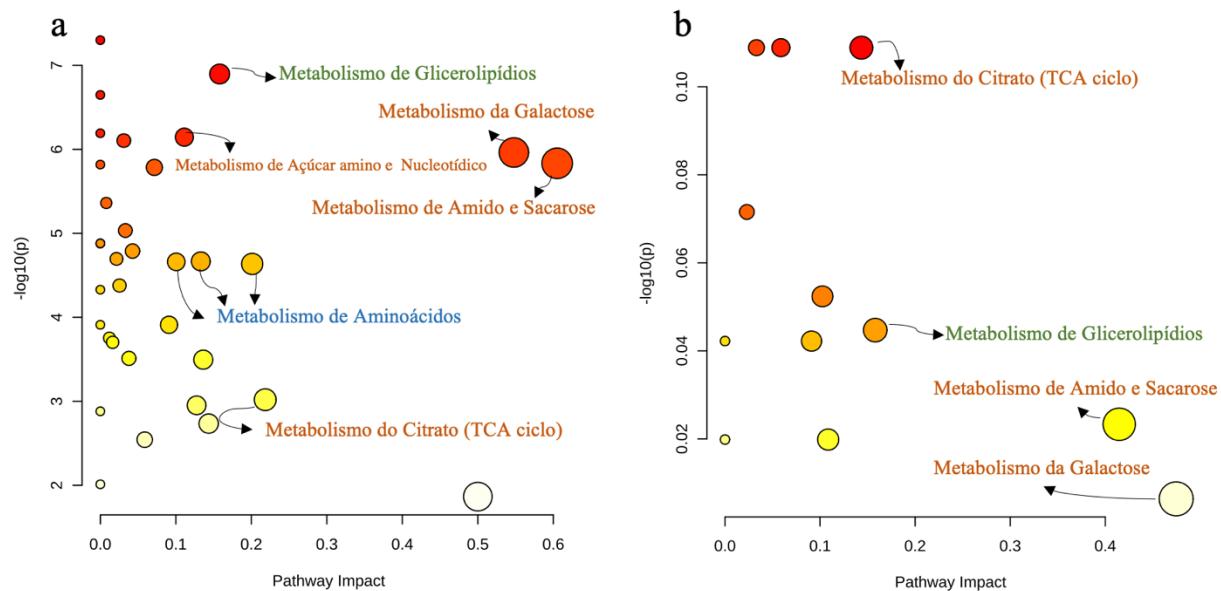


Figura 5.

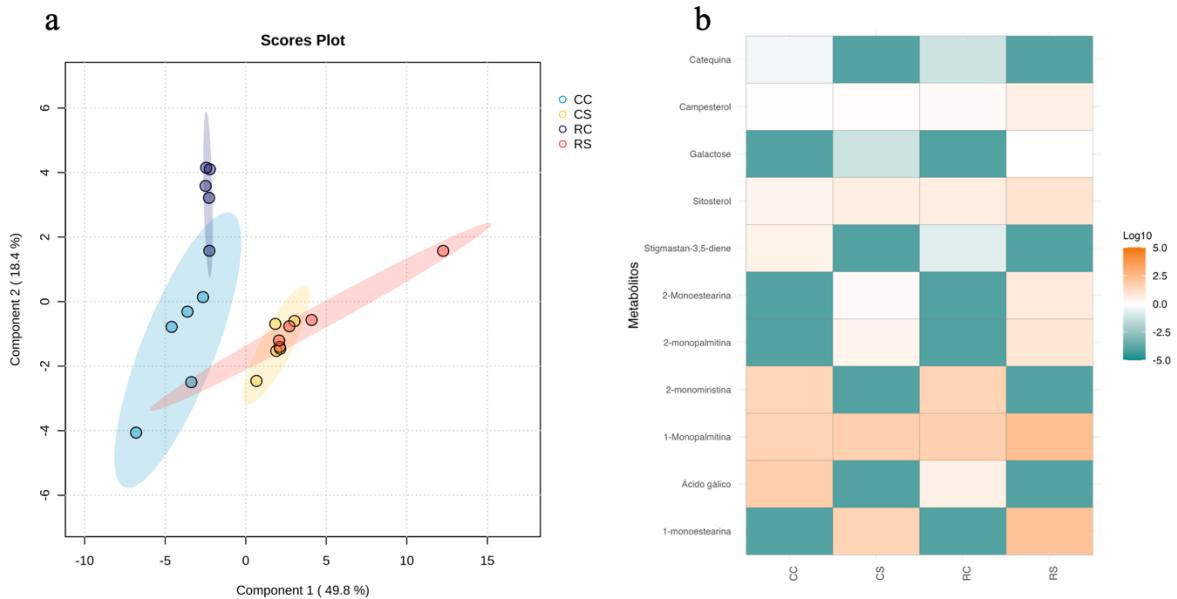
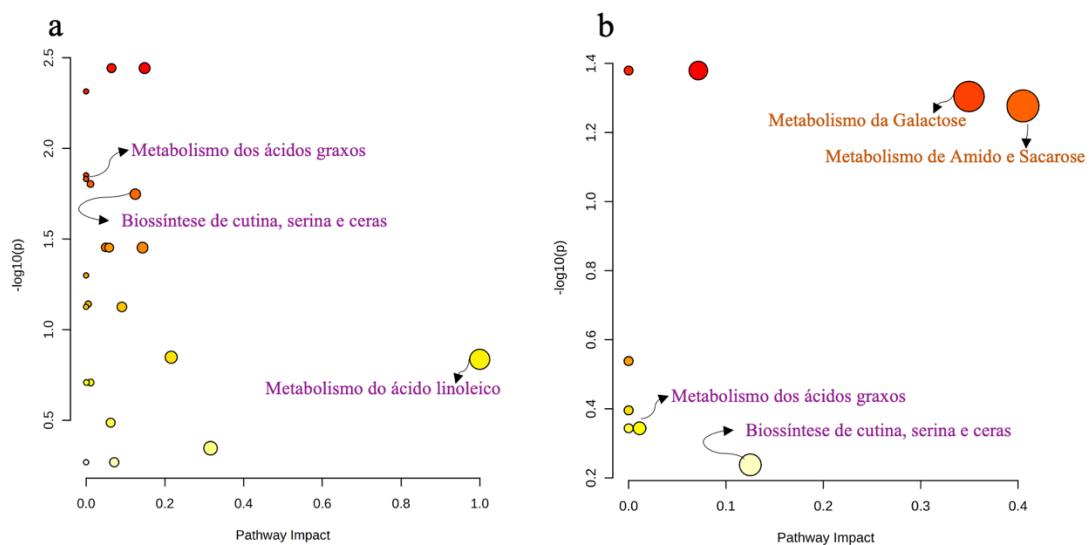


Figura 6.



Plant Physiology and Biochemistry

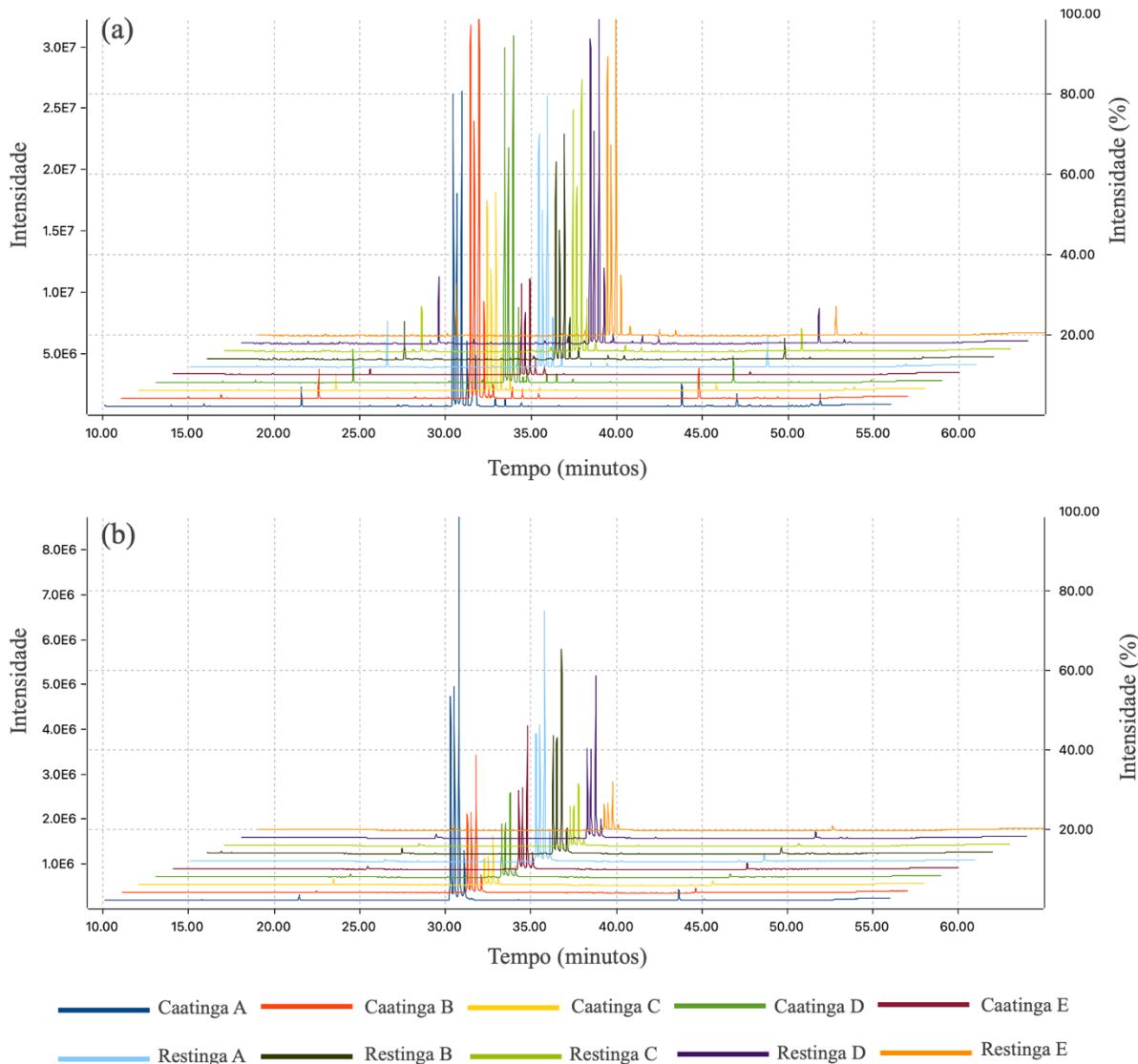
INFORMAÇÃO SUPORTE

**Variações no metabolismo dos frutos de um cacto colunar proporcionadas pela sazonalidade
e o ecossistema de ocorrência**

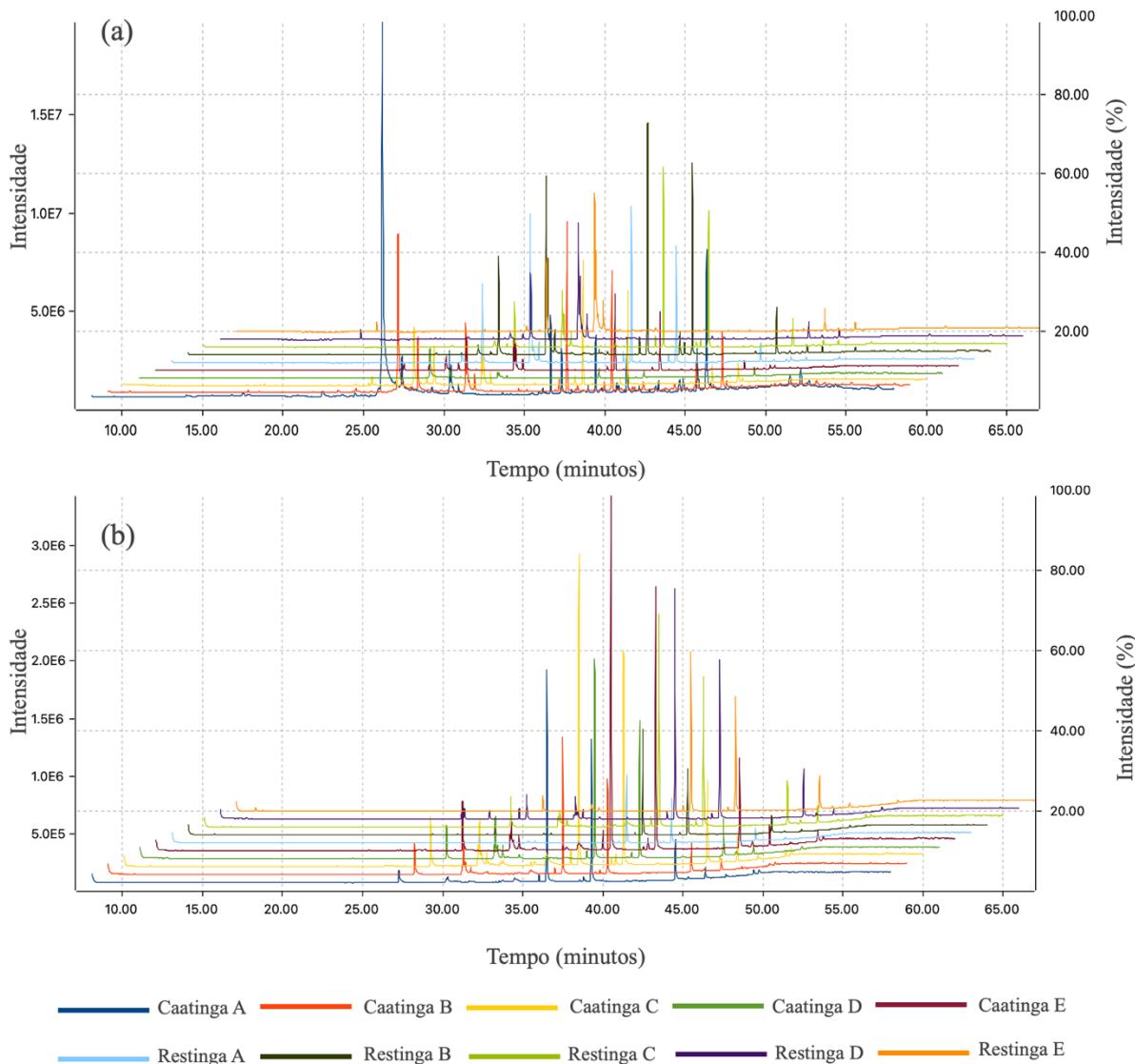
Bruno de Santana Santos, Ivan Hurtado Caceres, Cláudia Maria Furlan & Marcos Vinicius Meiado

Apêndice S1 Figuras Suplementares

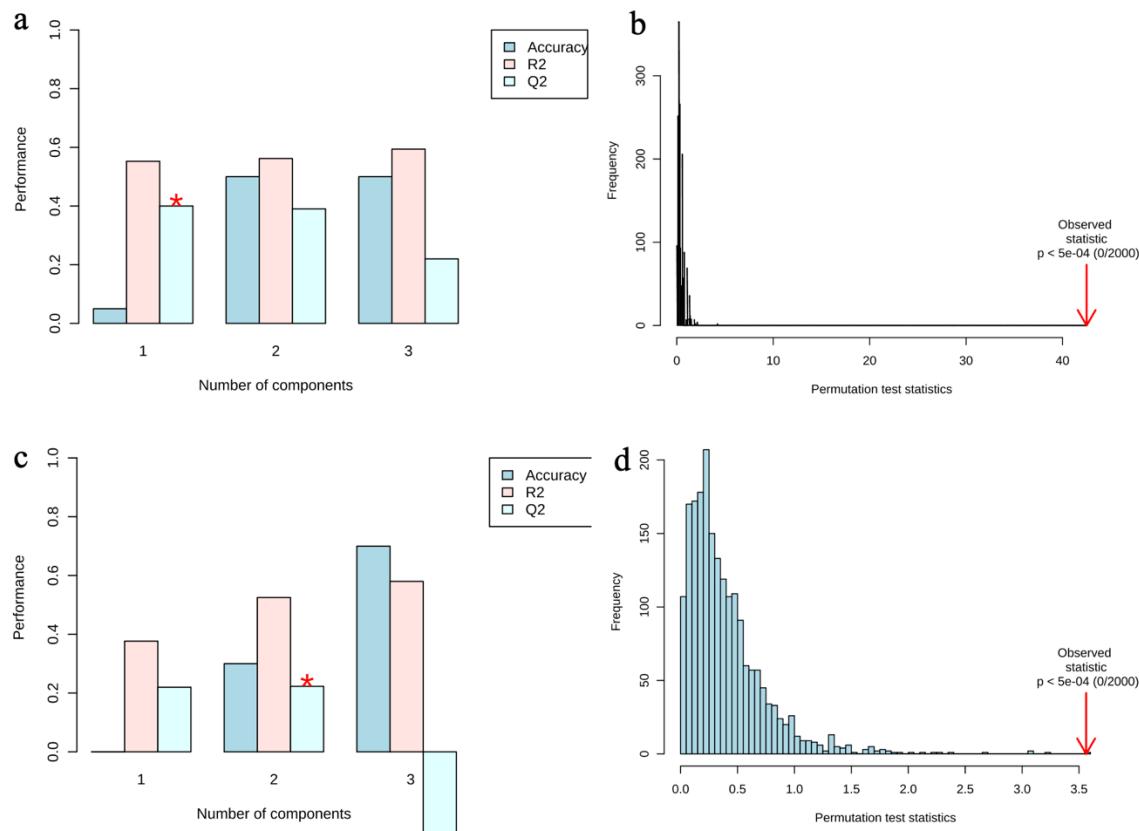
Apêndice S1, Figura S1. Cromatogramas da fase polar gerados a partir de Cromatografia a Gás acoplada à Espectrometria de Massas da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletados durante a estação chuvosa (a) e seca (b) nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.



Apêndice S1, Figura S2. Cromatogramas da fase não polar gerados a partir de Cromatografia a Gás acoplada à Espectrometria de Massas da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletados durante a estação chuvosa (a) e seca (b) nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.



Apêndice S1, Figura S2. Validações do modelo PLS-DA para a seleção de metabólitos com base nos escores de Importância da Variável na Projeção (VIP). (a) Gráfico de validação LOOCV para fase polar e (c) para não polar. (b) Gráfico de validação por permutação do PLS-DA avaliado pela distância de separação entre os grupos (número de permutações = 2000) para fase polar e (d) para fase não polar.



Plant Physiology and Biochemistry

INFORMAÇÃO SUPORTE

**Variações no metabolismo dos frutos de um cacto colunar proporcionadas pela sazonalidade
e o ecossistema de ocorrência**

Bruno de Santana Santos, Ivan Hurtado Caceres, Cláudia Maria Furlan & Marcos Vinicius Meiado

Apêndice S2 Tabelas Suplementares

Apêndice S2, Tabela S1. Metabólitos detectados via GC-MS na fase polar da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletados durante a estação chuvosa nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.

Pico	TR (min)	Classe	Provável Composto	Cosseno	IRL	(Nist)	IRL	IRL	Nível
							(GMD)	(MassBank)	
1	9,42	Aminoácidos	Alanina	0,87	1110,5	1095,3	1087,4	1108,0	2
2	14,67	Aminoácidos	Leucina	0,88	1279,3	1279,3	1264,4	1280,0	1
3	15,23	Aminoácidos	Prolina	0,96	1298,5	1293,8	1295,8	1294,1	1
4	17,27	Aminoácidos	Serina	0,85	1377,7	1380,0	1345,0	1379,4	2
5	21,36	Aminoácidos	Ácido γ -aminobutírico	0,90	1541,9	1541,0	-	1543,0	1
6	9,36	Ácidos Orgânicos	Ácido 2-hidroxiisobutírico	0,75	1108,7	1099,0	-	-	2
7	10,50	Ácidos Orgânicos	Ácido oxálico	0,87	1143,4	1145,0	-	-	2
8	10,76	Ácidos Orgânicos	Ácido 3-hidroxiisobutírico ^a	-	1151,3	1150,0	1148,3	-	2
9	12,68	Ácidos Orgânicos	Ácido metilmalônico	0,86	1211,0	1225,0	1207,6	1207,6	2
10	15,54	Ácidos Orgânicos	Ácido Maleico	-	1310,4	1314,0	1300,7	1309,0	2
11	15,78	Ácidos Orgânicos	Ácido succínico	0,94	1319,7	1321,0	1311,0	1317,0	2
12	16,70	Ácidos Orgânicos	Ácido fumárico	0,87	1355,5	1358,0	1347,0	1349,0	2
13	17,04	Ácidos Orgânicos	Ácido pipecólico	0,76	1368,7	1366,4	1364,6	1363,3	2
14	17,44	Ácidos Orgânicos	Ácido metilmaleico ^a	-	1384,0	1386,2	1345,1	-	2
15	20,11	Ácidos Orgânicos	Ácido citramálico	0,80	1489,8	1487,0	1464,4	1486,0	2
16	20,60	Ácidos Orgânicos	Ácido málico	0,96	1509,9	-	1479,3	1498,0	1
17	21,14	Ácidos Orgânicos	Ácido piroglutâmico	0,95	1532,7	1529,0	1521,7	1535,0	2
18	27,18	Ácidos de Açúcar	Ácido ribônico ^a	-	1804,0	1799,0	-	-	2
19	28,15	Ácidos Orgânicos	Ácido cítrico	0,91	1851,8	1853,0	-	1853,9	2

Artigo I

20	28,83	Ácidos Orgânicos	Ácido quínico	0,72	1885,3	1900,0	-	-	2
21	29,05	Ácidos Orgânicos	Ácido mandélico	0,70	1896,0	1894,0	-	-	2
22	33,83	Fenóis	Ácido caféico	0,91	2151,4	2151,0	2133,4	2135,6	1
23	33,33	Aminoacúcares	N-Acetyl-D-glucosamina	0,77	2123,3	2137,0	-	-	2
31	16,48	Ácidos de Açúcar	Ácido glicérico	0,86	1347,0	1347,0	1319,9	1341,0	2
32	22,13	Ácidos de Açúcar	Ácido eritrônico ^a	-	1574,0	1569,0	-	-	2
33	23,42	Ácidos de Açúcar	Ácido tartárico ^a	-	1630,5	1622,4	1628,9	1620,9	2
34	23,92	Ácidos de Açúcar	Arabonolactona ^a	-	1654,2	-	1636,0	-	2
35			Ácido Glucônico						
	29,55	Ácidos de Açúcar	Lactona ^a	-	1921,9	1924,0	-	-	2
36			Ácido Glucurônico γ -lactona ^a						
	29,76	Ácidos de Açúcar	Ácido glucônico ^a	-	1933,0	1940,0	-	-	2
37	31,90	Ácidos de Açúcar	Fosfato α -Glucopiranose ^a	-	2045,2	2043,0	-	-	2
38	35,61	Fosfatos de Açúcar	Ureia	0,81	1244,3	1249,0	1234,6	1238,3	2
39	13,65	Compostos Nitrogenados	Etanolamina	0,83	1270,7	1269,0	1261,0	1261,5	2
40	14,42	Compostos Nitrogenados	Lactose ^a	-	2685,0	2675,0	2671,0	2670,0	2
41	42,53	Dissacarídeos	Lactose ^{*a}	-	2690,4	2691,0	2686,5	2687,7	2
42	42,60	Dissacarídeos	Sacarose	0,85	2704,9	2700,0	-	-	1
43	42,79	Dissacarídeos	Maltose	0,89	2803,0	2804,0	-	-	1
44	44,08	Dissacarídeos	Trealose	0,93	2817,1	2816,0	-	-	1
45	44,27	Dissacarídeos	Melibiose ^a	-	2960,0	2933,0	-	-	1
46	46,20	Dissacarídeos	Melibiose [*]	0,85	2991,4	2950,0	-	-	1
47	46,63	Dissacarídeos	Metil beta-D-galactosídeo ^a	-	2076,5	2056,0	-	-	2
48			Uridina	0,83	2472,2	2470,0	2467,7	2448,9	2
49	32,48	Glicosídeos							
	39,18	Nucleosídeo							

Artigo I

50	42,20	Nucleosídeo	Adenosina	0,76	2660,0	2668,0	-	-	2
51	43,67	Nucleosídeo	Aucubina ^a	-	2771,9	2768,9	-	-	2
52			Ácido ribônico-1,4-						
	24,36	Ácidos de Açúcar	lactona ^a	-	1672,5	1677,3	1678,9	-	2
53	28,98	Monossacarídeos	Talose ^a	-	1892,7	1894,0	1892,0	-	2
54	17,92	Monossacarídeos	Eritrofuranose ^a	-	1405,0	1398,5	-	-	2
55	22,77	Monossacarídeos	Xilulose	0,75	1601,5	1603,0	-	-	2
56	23,65	Monossacarídeos	Lixofuranose ^a	-	1641,0	1640,5	1638,0	1640,9	2
57	24,61	Monossacarídeos	Xilose ^a	-	1685,0	1669,0	-	1679,0	1
58	24,97	Monossacarídeos	Arabinose	0,90	1699,7	1690,0	-	1685,0	1
59	25,31	Monossacarídeos	Ribose	0,88	1715,7	1691,0	-	-	1
60	25,94	Monossacarídeos	Lixose ^a	-	1745,0	1751,1	-	-	2
61	26,30	Monossacarídeos	Adonitol ^b	0,97	1762,3	1766,0	-	-	2
62	26,61	Monossacarídeos	Sorbofuranose ^a	-	1776,8	1778,8	-	-	2
63	26,79	Monossacarídeos	Frutofuranose ^a	-	1785,3	1792,1	-	-	2
64	27,33	Monossacarídeos	Tagatofuranose ^a	-	1811,3	1813,0	-	-	2
65	28,21	Álcool de Açúcar	1,5-Anidroglucitol ^a	-	1854,7	1843,0	-	-	2
66	28,36	Monossacarídeos	Sorbose ^a	-	1862,0	1862,0	1858,0	1855,0	2
67	29,13	Monossacarídeos	Tagatose ^a	-	1900,0	1904,5	-	-	2
68	29,45	Monossacarídeos	Frutose	0,97	1916,7	1925,0	-	-	2
69	29,66	Monossacarídeos	Frutose ^{a*}	-	1927,5	1933,4	-	-	2
70	29,95	Monossacarídeos	Glicose	0,95	1942,5	1937,0	1910,8	1903,0	1
71	30,06	Monossacarídeos	Galactose	0,94	1948,0	1945,0	-	-	1
72	30,25	Monossacarídeos	Glicose [*]	0,97	1958,0	1955,0	-	-	1
73	30,40	Monossacarídeos	Galactose [*]	0,90	1965,8	1965,0	-	-	1
74	28,61	Ácido Graxo	Ácido sorbosônico ^a	-	1874,5	-	1872,0	-	2

		Ácidos Orgânicos	Fumarato 3-							
75	25,74		aminopropionitrila	0,82	1735,9	-	-	-	-	2
76	22,25	Feniletanóides	Tirosol	0,76	1579,5	1568,7	-	1580,0	2	
77	29,80	Polióis	Glucitol ^a	-	1935,3	1935,1	-	-	2	
78	33,43	Polióis	<i>Mio</i> -inositol	0,96	2128,9	2129,0	-	-	2	
	14,91	Polióis	Glicerol	0,98	1287,5	1289,0	1262,3	1283,0	2	
	21,26	Polióis	Eritritol	0,74	1537,7	1535,0	-	1525,0	2	
	26,20	Polióis	Arabinitol	0,97	1757,6	1760,0	-	-	2	
	28,71	Polióis	Arabinitol ^{a*}	-	1879,4	1880,0	-	-	2	
	30,52	Polióis	Iditol	0,97	1972,0	1988,0	-	-	2	
	30,66	Polióis	Manitol ^a	-	1979,2	1975,0	-	-	1	
	30,94	Polióis	Altritol ^a	-	1994,2	1993,0	-	-	2	
79	52,50	Trissacarídeos	Rafinose	0,78	3514,8	3505,0	-	-	2	
80	14,81	Outros	Ácido fosfórico	0,84	1284,1	1286,0	1262,0	1282,0	2	

TR (min): tempo de retenção em minutos.

^aAnotação considerando a biblioteca de espectrometria de massas NIST 2.0.

^bPadrão interno.

IRL: índice de retenção linear.

GMD: Banco de Dados de Metaboloma de Golm.

(-): índice de retenção linear não encontrado no banco de dados.

Reisdorph et al. (2020) explica como 1: Compostos identificados (anotação corroborada pela biblioteca interna) e 2: Compostos putativamente anotados.

*: Estereoisômeros produzidos pela reação de metoximação.

Apêndice S2, Tabela S2. Metabólitos detectados via GC-MS na fase polar da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletados durante a estação seca nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.

Pico	TR (min)	Classe	Provável Composto	Cosseno	IRL	IRL (Nist)	IRL (GMD)	IRL (MassBank)	Nível
1	20,47	Ácidos Orgânicos	Ácido málico	0,87	1.511,7	-	1479,3	1498,0	1
2	14,78	Álcoois de Açúcar	Glicerol	0,89	-	1289,0	1262,3	1283,0	2
3	21,11	Álcoois de Açúcar	Eritritol ^a		1.537,7	1535,0	-	1525,0	2
4	28,57	Álcoois de Açúcar	Pinitol ^a	-	1.879,4	1880,0	-	-	2
5	30,53	Álcoois de Açúcar	Manitol ^a	-	1.980,0	1975,0	-	-	1
6	30,80	Álcoois de Açúcar	Altritol ^a	-	1.994,2	1993,0	-	-	2
7	16,36	Ácidos de Açúcar	Ácido glicérico ^a	-	-	1347,0	1319,9	1341,0	2
8			Ácido Glucônico						
	29,39	Ácidos de Açúcar	Lactona ^a	-	1.920,0	1924,0	-	-	2
9			Ácido glucurônico γ -lactona						
	29,61	Ácidos de Açúcar	lactona ^a	-	1.931,5	1940,0	-	-	2
10	42,65	Dissacarídeos	Sacarose	0,74	2.715,2	2700,0	-	-	1
11	44,13	Dissacarídeos	Trealose	0,73	2.819,2	2816,0	-	-	1
12	44,50	Dissacarídeos	Melibiose	0,73	2.846,0	2850,0	2837,5	2839,4	1
13	27,85	Monossacarídeos	Talose ^a	-	-	1894,0	1892,0	-	2
14	26,16	Monossacarídeos	Adonitol ^b	0,86	1.762,3	1766,0	-	-	2
15	28,79	Monossacarídeos	Manose	0,83	1.889,4	1900,0	1885,2	1887,0	2
16	29,30	Monossacarídeos	Frutose	0,82	1.915,3	1.925,0	-	-	1
17	29,51	Monossacarídeos	Frutose*	0,81	1926,3	1933,4	-	-	1
18	29,80	Monossacarídeos	Glicose	0,79	1941,0	1937,0	1910,8	1903,0	1
19	29,90	Monossacarídeos	Galactose	0,77	1947,0	1945,0	-	-	1
20	30,11	Monossacarídeos	Glicose*	0,77	1958,0	1955,0	-	-	1

Artigo I

21	30,21	Monossacarídeos	Galactose*	0,76	1963,0	1965,0	-	-	1
22	28,46	Ácido Graxo	Ácido sorbosônico ^a	-	1873,3	-	1872,0	-	2
23	52,40	Trissacarídeo	Rafinose ^a	-	3514,8	3505,0	-	-	2
24	33,29	Álcoois de Açúcar	<i>Mio</i> -inositol	0,75	2128,9	2129,0	-	-	2

TR (min): tempo de retenção em minutos.

^aAnotação considerando a biblioteca de espectrometria de massas NIST 2.0.

^bPadrão interno.

IRL: índice de retenção linear.

GMD: Banco de Dados de Metaboloma de Golm.

(-): índice de retenção linear não encontrado no banco de dados.

Reisdorph et al. (2020) explica como 1: Compostos identificados (anotação corroborada pela biblioteca interna) e 2: Compostos putativamente anotados.

*: estereoisômeros produzidos pela reação de metoximação.

Apêndice S2, Tabela S3. Metabólitos detectados via GC-MS na fase não polar da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletados durante a estação chuvosa nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.

Pico	TR (min)	Classe	Provável Composto	Cosseno	IRL	IRL (Nist)	IRL (GMD)	IRL (MassBank)	Nível
1	14,5	Alcanos	<i>n</i> -Pentadecano (C ₁₅)	0,75	1.486,0	-	1.500,0	-	2
2			2,6,10-						
	15,6	Alcanos	Trimetiltetradecano ^a (C ₁₇)	-	1.531,0	1.535,0	-	-	2
3	19,21	Alcanos	<i>n</i> -Heptadecano (C ₁₇)	0,72	1685	-	1698	-	1
4	19,5	Alcanos	<i>n</i> -Heptadecano ^{a*} (C ₁₇)	-	1.699,0	-	1.698,0	-	2
5	20,36	Alcanos	1-Tetradecanol (C ₁₄ -OH)	0,79	1737	1754	1762	-	2
6	20,5	Alcanos	8-Metilheptadecano ^a (C ₁₈)	-	1.738,0	1.742,0	-	-	2
7	24,8	Alcanos	2- Metilnonadecano (C ₂₀)	0,80	1.953,7	1.962,0	-	-	2
8	28,7	Alcanos	2- Metilhenicosano ^a (C ₂₂)	-	2.165,7	2.166,0	-	-	2
9	37,0	Alcanos	<i>n</i> -Heptacosano (C ₂₇)	0,74	2.686,7	-	2.699,2	-	2
10	13,6	Ácidos Orgânicos	Ácido cítrico	0,73	1.451,0	1.442,0	-	-	2
11	14,2	Ácidos Orgânicos	Ácido málico	0,73	1.475,6	-	1.479,0	1.478,0	2
12	14,80	Ácidos Orgânicos	Ácido málico	0,91	1498	-	1479	1498	1
13	24,4	Ácidos Orgânicos	Ácido <i>p</i> -cumárico	0,88	1.936,0	1.942,0	1.947,5	1.945,0	2
14	25,1	Ácidos Orgânicos	Ácido gálico	0,74	1.971,7	1.978,6	1.946,0	1.943,0	1
15		Ácidos graxos e derivados							
	26,4	Ácidos graxos e derivados	Ácido palmítico (C _{16:0})	0,94	2.037,7	2.037,0	2.045,0	2.038,4	2
16		Ácidos graxos e derivados	Ácido linoléico, éster metílico	0,82	2.088,0	2.089,0	2.089,2	-	2
17		Ácidos graxos e derivados	Ácido esteárico, éster metílico	0,78	2114	2112	-	-	2

Artigo I

18	Ácidos graxos e								
29,4	derivados	Ácido Linoleico (C _{18:2;9,12})	0,94	2.202,0	2.208,0	2.209,9	2.209,6	2	
19	Ácidos graxos e								
29,5	derivados	Ácido <i>cis</i> -oleico (C _{18:1;9})	0,91	2.208,0	2.208,0	2.216,3	2.217,4	2	
20	Ácidos graxos e	Ácido <i>trans</i> -oleico							
29,6	derivados	(C _{18:1;9})	0,74	2.214,1	2.218,0	2.225,4	2.223,7	2	
21	Ácidos graxos e								
29,9	derivados	Ácido esteárico (C _{18:0})	0,94	2.234,0	2.234,1	2.243,5	2.236,0	2	
22	Ácidos graxos e	Ácido 9,12-							
30,9	derivados	octadecadiinóico ^a (C ₁₈)	-	2.295,0	2.311,2	-	-	2	
23	Ácidos graxos e	Ácido araquidônico ^a							
31,8	derivados	(C _{20:4;5,8,11,14})	-	2.345,2	2.359,0	2.382,0	-	2	
24	Ácidos graxos e	Ácido eicosapentaenóico ^a							
32,5	derivados	(C _{20:5;5,8,11,14,17})	-	2.388,0	2.380,0	2.391,0	-	2	
25	Ácidos graxos e								
32,6	derivados	1-Monomiristina	-	2400	2418	-	-	2	
26	Ácidos graxos e	Ácido eicosadienóico ^a							
32,8	derivados	(C _{20:2;11,14})	-	2.410,0	2.413,2	-	-	2	
27	Ácidos graxos e								
33,2	derivados	Ácido araquídico (C _{20:0})	0,79	2.431,0	2.432,6	2.453,8	-	2	
28	Ácidos graxos e								
29,4	derivados	Ácido linoléico (C _{18:2;9,12})	0,94	2.202,0	2.208,0	2.209,9	2.209,6	2	
29	Ácidos graxos e								
35,65	derivados	1-Monopalmitina	0,77	2594	2606	-	-	2	
30	Ácidos graxos e								
36,2	derivados	Ácido beénico (C _{22:0})	0,80	2.630,0	2.632,0	2.650,0	2.637,5	2	

31	Ácidos graxos e								
32	38,44	derivados	2- Monomiristina	0,77	2788	2772	-	-	2
33	34,9	Dissacarídeos	Lactulose ^a	-	2.546,0	2.586,7	-	-	2
34	36,1	Dissacarídeos	β-D-Lactose	0,72	2.621,4	2.624,8	-	-	2
35	39,9	Flavonoides	Catequina	0,77	2.892,8	2.912,0	2.865,6	-	2
36	44,5	Fitoesteróis	Campesterol	0,87	3.257,0	3.253,0	3.298,2	-	2
37	45,6	Fitoesteróis	β-Sitosterol	0,84	3.350,0	3.348,0	3.385,8	-	2
38	36,7	Nucleosídeos	Adenosina	0,70	2.664,0	2.668,0	-	-	2
39	22,5	Monossacarídeos	Fructose	-	1841	1842	-	-	2
40	22,3	Monossacarídeos	Psicose	-	1831	1837	1838	-	2
41	24,07	Monossacarídeos	Glucose ^a	-	1917	1922	-	-	2
42	24,88	Monossacarídeos	Glucose [*]	0,75	1958	1955	-	-	1
43	25,92	Monossacarídeos	Glucose ^{*a}	-	2012	2012	-	-	2
44	23,1	Álcoois de Açúcar	Inositol	0,76	1.866,0	1.872,0	-	-	2
45	47,4	Trissacarídeos	Maltotriose	0,80	3.505,0	3.550,0	3.507,6	3.304,7	2
46	19,7	Terpenos	Pristano (C ₁₉)	0,77	1.706,0	1.707,0	-	-	2
47	38,8	Terpenos	Supraeno (C ₃₀)	0,70	2.814,0	2.8120	2.824,5	-	2
48	42,4	Outros	Stigmastan-3,5-diene ^a	-	3.077,0	3.040,0	-	-	2

TR (min): tempo de retenção em minutos.

^aAnotação considerando a biblioteca de espectrometria de massas NIST 2.0.

IRL: índice de retenção linear.

GMD: Banco de Dados de Metaboloma de Golm.

(-): índice de retenção linear não encontrado no banco de dados.

Reisdorph et al. (2020) explica como 1: Compostos identificados (anotação corroborada pela biblioteca interna) e 2: Compostos putativamente anotados.

*: estereoisômeros produzidos pela reação de metoximação.

Apêndice S2, Tabela S4. Metabólitos detectados via CG-MS na fase não polar da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) coletados durante a estação seca nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.

Pico	TR (min)	Classe	Provável Composto	Cosseno	IRL	IRL (Nist)	IRL (GMD)	IRL (MassBank)	Nível
1		Ácidos graxos e derivados	Ácido Linoleico (C _{18:2;9,12})	0.90	2217	2214	2210	2210	2
2	29,21	Ácidos graxos e derivados	Ácido <i>cis</i> -oleico (C _{18:1;9})	0.92	2222	2220	2222	2217	2
3	29.,30	Ácidos graxos e derivados	Ácido <i>trans</i> -oleico (C _{18:1;9})	0.77	2228	2227	2225	-	2
4		Ácidos graxos e derivados	Ácido esteárico (C _{18:0})	0.94	2250	2250	2243	2236	2
5		Ácidos graxos e derivados	Ácido 17-octadecinóico ^a	-	2255	2257	-	-	2
6		Ácidos graxos e derivados	Ácido 9,12-octadecadiinóico ^a	-	2309	2295	2311	-	2
7	29,87	Ácidos graxos e derivados	9,12-Octadecadienal, dimetil acetal ^a	-	2425	2422	-	-	2
8	30,79	Ácidos graxos e derivados	Ácido 13-docosenóico, éster metílico	0.76	2477	2459	-	-	2
9		Ácidos graxos e derivados	1-Monopalmitina	0.77	2608	2606	-	-	2
10		Ácidos graxos e derivados	1-Monoestearina	0.76	2800	2806	-	-	2
11	33,50	Ácidos graxos e derivados	Ácido palmítico (C _{16:0})	0.94	2052	2050	2045	2038	2

12	Ácidos graxos e 32,51	derivados	1-Monomiristina ^a	-	2414	2418	-	-	2
13	Ácidos graxos e 35,00	derivados	2- Monopalmitina	0.76	2575	2576	-	-	2
14	Ácidos graxos e 37,81	derivados	2- Monoestearina	0.73	2767	2772	-	-	2
15	37,01	Dissacarídeos	Sacarose	0.83	2712	2712	-	-	2
16	44,33	Fitoesteróis	Campesterol	0.88	3269	3253	3298	-	2
17	45,41	Fitoesteróis	β -Sitosterol	0.86	3364	3348	3386	-	2
18	22,18	Monossacarídeos	Frutose	0.82	1842	1842	1830	1851	2
19	22,35	Monossacarídeos	Galactose	0.89	1850	1848	1876	1848	2
20	23,93	Monossacarídeos	Glicose ^a	-	1930	1930	-	-	2
21	25,78	Monossacarídeos	Glicose ^{a*}	-	2027	2012	-	-	2

TR (min): tempo de retenção em minutos.

^aAnotação considerando a biblioteca de espectrometria de massas NIST 2.0.

IRL: índice de retenção linear.

GMD: Banco de Dados de Metaboloma de Golm.

(-): índice de retenção linear não encontrado no banco de dados.

Reisdorph et al. (2020) explica como 1: Compostos identificados (anotação corroborada pela biblioteca interna) e 2: Compostos putativamente anotados.

*: estereoisômeros produzidos pela reação de metoximação.

ARTIGO

A ser submetido a Functional Ecology

O impacto da autoalelopatia da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionados por fatores ambientais

Bruno de Santana Santos^{1,2,*}, Ivan Hurtado Caceres³, Cláudia Maria Furlan³ & Marcos Vinicius Meiado^{1,2}

¹Laboratório de Fisiologia de Sementes, Departamento de Biociências, Universidade Federal de Sergipe, Itabaiana, SE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil.

³Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor para Correspondência: Bruno de Santana Santos (bios17@outlook.com)

Laboratório de Fisiologia de Sementes, Departamento de Biociências, Universidade Federal de Sergipe. Av. Vereador Olímpio Grande, s/n, Bloco D, Campus Professor Alberto Carvalho, Bairro Porto, Itabaiana, Sergipe, Brasil. CEP: 49510-200.

Resumo – A polpa funicular dos frutos presentes em algumas Cactaceae é conhecida por inibir a germinação de suas próprias sementes. No entanto, ainda não foi descrito na literatura como as condições ambientais podem influenciar a dinâmica desse efeito autoalelopático. Portanto, nosso trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da autoalelopacia da polpa funicular de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) no comportamento germinativo em duas diferentes populações durante a estação seca e chuvosa. Nós coletamos frutos maduros durante a estação chuvosa (junho) e seca (dezembro) de 2023 nos municípios de Nossa Senhora da Glória (Caatinga) e Aracaju (Restinga) no Estado de Sergipe, Brasil. Produzimos os extratos a partir de extração seriada com Hexano (Hex), Acetato de Etila (AcOEt), Metanol (MeOH) e Água (H₂O). Nós conduzimos um ensaio de germinação com as sementes da própria espécie nas concentrações de 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mg/mL e controle (água). Utilizamos cinco repetições contendo 20 sementes cada, colocadas para germinar em placas de Petri de 5 cm de diâmetro contendo duas camadas de papel filtro com 1 mL de extrato. Caracterizamos o comportamento germinativo a partir da germinabilidade (%), t_{50%} Farooq, velocidade média de germinação, coeficiente de variação de tempo, sincronia e incerteza. Realizamos uma Análise de Componentes Principais para identificar os padrões multivariados e suas relações entre os parâmetros que caracterizam o comportamento germinativo, seguidos de PERMANOVA. As sementes produzidas na estação chuvosa, em ambas as populações, apresentaram maior germinabilidade, menor tempo para germinação e maior sincronia, com menor incerteza e variação no processo germinativo. No entanto, os extratos de menor polaridade (AcOEt e Hex) influenciaram negativamente o comportamento germinativo à medida que as concentrações aumentaram durante a estação chuvosa, para ambas as populações. Portanto, podemos concluir que o efeito da autoalelopacia é dinâmico na natureza, sendo influenciado pelas estações de produção dos frutos e pelo ecossistema em que essas populações estão inseridas.

Palavras-chave: comportamento germinativo, metabolômica não alvo, condições ambientais.

Introdução

A alelopatia é definida como a capacidade que algumas plantas têm de liberar metabólitos conhecidos como aleloquímicos, que são produzidos a partir do metabolismo secundário e afetam outras plantas ou organismos ao seu redor (Hierro & Callaway, 2021). Além disso, as plantas também podem produzir esses compostos e inibir o crescimento ou desenvolvimento de suas próprias sementes ou plântulas (autoalelopata), com o objetivo de reduzir a competição intraespecífica por recursos limitados, como nutrientes e água (Wang et al., 2022). Esses metabólitos afetam a germinação, o crescimento, o desenvolvimento e a sobrevivência das plantas receptoras. Além disso, a capacidade alelopática é influenciada por diversos fatores, como a concentração e o tipo de aleloquímico, a sensibilidade da planta receptora e as condições ambientais (Harborne, 2014).

Os estudos sobre alelopatia e autoalelopata são tradicionalmente focados na avaliação das atividades fitotóxicas de resíduos vegetais ou extratos brutos (Weston, 1996; Santos et al., 2019). Contudo, avanços recentes nas técnicas de separação e elucidação estrutural de compostos permitem grandes progressos, possibilitando a detecção, o isolamento e a caracterização dos compostos responsáveis pelos efeitos alelopáticos (Scavo et al., 2019). Apesar disso, fatores ambientais, como a sazonalidade ou a influência de populações distribuídas em múltiplos ecossistemas ainda são pouco considerados, mesmo sendo amplamente reconhecido que as condições ambientais afetam significativamente a biossíntese de metabólitos secundários (Rowan et al., 2009; Peñuelas & Staudt, 2010). Fatores como luz, temperatura, precipitação, fertilidade do solo e salinidade podem atuar sinergicamente na capacidade das plantas de sintetizar metabólitos secundários, resultando em alterações nos perfis fitoquímicos e na produção de substâncias bioativas (Yang et al., 2018).

Essas variações na síntese de metabólitos secundários estão diretamente relacionadas aos compostos alelopáticos, que são classificados com base em suas estruturas químicas e nos efeitos que exercem sobre os organismos receptores, como substâncias fenólicas, ácidos orgânicos, alcaloides, ligninas e terpenoides (Macías et al., 2007). Esses metabólitos podem ser produzidos por diferentes órgãos das plantas, incluindo raízes, caules, folhas, flores e frutos (Bachheti et al., 2020), e sua biossíntese é influenciada por estresses ambientais, sinais hormonais e fatores de desenvolvimento (Akula & Ravishankar, 2011; Yang et al., 2018). Além disso, estímulos ambientais ativam a expressão de genes associados à produção desses compostos, controlada por

fatores de transcrição específicos e outros mecanismos genéticos (Liu et al., 2021). Por fim, os compostos são liberados por meio de processos como volatilização, lixiviação, exsudação radicular e decomposição de resíduos vegetais, contribuindo para a dinâmica ecológica da alelopatia por influenciar o processo germinativo no ambiente (Latif et al., 2017).

O processo germinativo é sensível à mudança ambiental externa, sendo frequentemente utilizado para analisar efeitos de alelopatia e autoalelopatia (Kato-Noguchi & Kurniadie, 2020; Zhang et al., 2021). Neste trabalho, investigaremos os efeitos da autoalelopatia sendo influenciada por fatores ambientais sob o comportamento germinativo. Para isso, será utilizado como modelo de estudo a espécie de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae), devido ao fato das suas populações estarem distribuídas em ecossistemas de Caatinga e Restinga, na região Nordeste do Brasil, e por produzirem frutos continuamente ao longo do tempo, mesmo sob diferentes sazonalidades (Lima & Meiado, 2017; 2023; Lavor et al., 2020). Além disso, foram utilizados os frutos como órgão autoalelopático devido ao fato dessas estruturas serem capazes de produzir metabólitos tóxicos ou dissuasivos, frequentemente presentes em concentrações e com maior diversidade em comparação a outros órgãos da planta, o que pode afetar a germinação de suas próprias sementes (Whitehead et al., 2013; Whitehead et al., 2016; Santos et al., 2019).

O processo germinativo das sementes é amplamente utilizado como método biológico para avaliar os efeitos da alelopatia e da autoalelopatia, tornando crucial a forma como esse processo é mensurado (Rice, 2012). Diversos métodos e expressões matemáticas para quantificar a germinação têm sido propostos e debatidos ao longo do tempo (Ranal & Santana, 2006), sendo a germinabilidade o parâmetro mais utilizado para representar a capacidade germinativa (Ranal & Ferreira, 2023). Além da germinabilidade, outros aspectos do processo germinativo como, por exemplo, o tempo, a velocidade, a homogeneidade, a sincronia e a incerteza também são fundamentais para compreender a dinâmica comportamento germinativo (Ranal & Santana, 2006; Lima et al., 2025). Esses parâmetros não só auxiliam a prever o sucesso germinativo ao longo do tempo, como também fornecem informações sobre o estabelecimento das plântulas no ambiente (Ranal & Santana, 2006; Lima et al., 2025).

Além de avaliar os efeitos da autoalelopatia, é fundamental identificar os metabólitos potencialmente responsáveis por influenciar o processo germinativo. Para isso, a utilização de ferramentas sensíveis como a espectrometria de massas é essencial, pois oferece informações

estruturais sobre os compostos, proporcionando uma compreensão abrangente de metabólitos de baixo peso molecular (Peters et al., 2021). Além disso, essa técnica facilita a diferenciação química entre linhagens de plantas diversas e até mesmo a diversidade intraespecífica (Müller et al., 2020). À medida que essa tecnologia avança, o desenvolvimento de *softwares* de bioinformática tornou-se indispensável para explorar e analisar os extratos vegetais utilizando bancos de dados espectrais (Tsugawa, 2018), permitindo anotações, construção de redes moleculares (Pilon et al., 2021) e análises quimiométricas (Krumseck et al., 2016). Esses esforços combinados aceleram a interpretação e identificação de padrões químicos, alcançando assim uma compreensão mais abrangente dos metabólitos presentes nas amostras, os quais podem exercer uma ação alelopática e influenciar o processo germinativo (Mannochio-Russo et al., 2022).

Portanto, este estudo tem como objetivo avaliar como a sazonalidade e o ecossistema de ocorrência influenciam a autoalelopatia exercida pela polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* no comportamento germinativo de suas sementes. As hipóteses que norteiam este trabalho preveem que (i) o comportamento germinativo das sementes é afetado pela sazonalidade e pelo ecossistema de ocorrência das populações onde os frutos foram coletados, resultando em variações no efeito autoalelopático. Além disso, (ii) os metabólitos presentes na polpa funicular dos frutos variam em concentração em função da sazonalidade e do ecossistema de ocorrência, influenciando de maneira distinta o efeito autoalelopático no processo germinativo das sementes.

Materiais e Métodos

Coleta dos frutos

Os frutos maduros de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* foram coletados em dois ecossistemas distintos localizados na região Nordeste do Brasil, durante o período de alta e baixa precipitação, no ano de 2023. Os frutos foram coletados no município de Nossa Senhora de Glória, localizado no Alto Sertão do Estado de Sergipe, representando uma área de Caatinga, um ecossistema pertencente à Floresta Tropical Sazonalmente Seca. O segundo local de coleta foi no município de Aracaju, Sergipe, um ambiente que pertence as Restingas da Costa Atlântica, que são Florestas Costeiras Arenosas Únicas, localizadas na Costa Leste do Brasil. As coletas foram realizadas entre os meses de junho de 2023, momento de maior precipitação para ambos os ecossistemas, variando entre 200.6 mm para Restinga e 85.6 mm para Caatinga; e no mês de

dezembro, com precipitações de 34,6 mm para Restinga e 6,8 mm para Caatinga (Figura 1) (INMET, 2024).

Preparação dos extratos

Foi realizada uma extração seriada crescente de polaridade dos solventes orgânicos para a produção dos extratos utilizados no experimento de autoalelopatia. Para isso, a polpa funicular dos frutos foi congelada e triturada em nitrogênio líquido, separando-se a polpa das sementes. A extração seriada foi realizada com os solventes: Hexano (Hex), Acetato de Etila (AcOEt), Metanol (MeOH) e Água (H_2O), respeitando a ordem de polaridade. Foi utilizada a proporção de 1:2 (*m/v*) de polpa para solvente, em uma única etapa, conforme descrito por Sadraei et al. (2003) e Wang et al. (2023). Os extratos foram filtrados e o solventes removidos em evaporador rotativo sob pressão reduzida à 50 *rpm*, em temperatura constante de 50 °C. Os extratos foram recuperados do balão, solubilizados em água ultrapura, congelados e, em seguida, liofilizados.

Ensaios de germinação

Para verificar a ação autoalelopática dos extratos, foi utilizado ensaios de germinação como modelo. Para isso, 20 mg dos extratos foram solubilizados em água destilada e mantidos sob agitação constante em vórtex por 10 minutos e, em seguida, fracionados nas concentrações de 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mg/mL, e um controle composto apenas por água destilada (Wang et al., 2023).

Para cada concentração do extrato avaliado foram utilizadas cinco repetições contendo 20 sementes postas para germinar em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com duas camadas de papel filtro umedecido com 1 mL de extrato nas concentrações mencionadas anteriormente. As placas de Petri foram seladas com plástico parafilm e mantidas sob luz branca (fotoperíodo de 12 horas) em temperatura de 30 °C em sala de crescimento vegetal. O número de sementes germinadas foi contabilizado diariamente, durante o período de 15 dias, e a protrusão radicular foi utilizada como o critério para se considerar a germinação (Meiado et al., 2016).

Parâmetros germinativos e análise de dados

Com os dados avaliados da germinação diária e utilizando o ambiente de programação R com o pacote “*germinationmetrics*”, foram calculados os parâmetros de germinação que

caracterizam o comportamento germinativo (Aravind et al., 2019; Lima et al., 2025). A germinação foi caracterizada utilizando a Germinabilidade (%) como parâmetro de capacidade germinativa $G(\%) = \frac{N_g}{N_t} \times 100$, onde N_g é o número de sementes germinadas e N_t é o número total de sementes (ISTA, 2015). Além disso, foi utilizado o $t_{50\%}$ como medida de tempo de germinação, sendo representado em dias para obter 50% da germinação amostrada através da fórmula: $t_{50\%} = t_i + \frac{(N - n_i)(t_j - t_i)}{n_j - n_i}$, sendo N o número final de sementes germinadas e n_i e n_j sendo os números acumulados de sementes germinadas por contagem adjacentes nos tempos t_i e t_j , sendo $n_i < \frac{N}{2} < n_j$ (Farooq et al., 2005).

A velocidade média de germinação ($\bar{v}: \text{dias}^{-1}$) foi utilizada como uma medida de velocidade do processo germinativo, representada pela fórmula $\bar{v} = \frac{1}{\bar{t}}$, onde \bar{t} é o tempo médio de germinação $\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \cdot t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$, t_i é o período desde do início da primeira contagem até a n observação, n_i é o número de sementes germinadas no tempo i (não sendo um valor acumulado) e k equivale ao último tempo de germinação (Labouriau, 1983). O coeficiente de variação de tempo $CV_t: \%$ foi utilizado como parâmetro germinativo para representar a uniformidade da germinação $CV_t = \left(\frac{S_t}{\bar{t}} \right) 100$, no qual S_t é o desvio padrão da germinação e \bar{t} o tempo médio de germinação (Ranal & Santana, 2006).

A sincronização do processo germinativo foi mensurada a partir do parâmetro de sincronia, utilizando a fórmula o índice Z : $Z = \frac{\sum C_{ni,2}}{N}$, sendo $C_{ni,2} = \frac{n_i(n_i-1)}{2}$ e $N = \frac{\sum n_i(\sum n_i-1)}{2}$, onde $C_{ni,2}$ é a combinação das sementes germinadas no tempo i (Ranal & Santana, 2006). Por fim, a incerteza da germinação foi representada pelo parâmetro incerteza ($U: \text{bit}$), o qual representa uma adaptação do índice de Shannon que mede o grau de incerteza na previsão da entropia informativa, sendo calculado $U = -\sum_{i=1}^k f_i \log_2 f_i$, onde $f_i = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$ a representação relativa da germinação (Ranal & Santana, 2006).

Inicialmente, para avaliar de forma isolada o efeito dos fatores [População (Caatinga e Restinga); Estação (Chuvosa e Seca); Extratos (Hex, AcOEt, MeOH e H₂O); Concentração (2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mg mL⁻¹ e controle)] para cada parâmetro de germinação mensurado, os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias pelos

testes de Shapiro-Wilker e Levene, respectivamente. Em seguida, as médias foram comparadas por uma ANOVA Fatorial com teste de Tukey *a posteriori*. Por fim, foi realizada uma Análise de Componentes Principais para identificar os padrões multivariados e suas relações entre os parâmetros que caracterizam o comportamento germinativo, buscando compreender agrupamentos e correlações entre as variáveis e os fatores e suas respectivas contribuições. Além disso, também foi realizada uma Análise de Variância Permutacional Multivariada (PERMANOVA) com 999 permutações para avaliar a sensibilidade à dispersão multivariada dos dados e, com o intuito de verificar se as diferenças observadas estão relacionadas à dispersão multivariada dos dados, foi realizada uma análise específica de dispersão multivariada, conhecida como Betadisper (R Core Team, 2024).

Análises químicas dos extratos por GC-MS

Os extratos foram derivatizados e analisados por Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS). As reações de derivatização química para os extratos foram realizadas, partindo de uma alíquota de 35 µL do extrato e adicionamos 25 µL de piridina e 25 µL de N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida e submetidas a banho seco durante 1 hora, a uma temperatura constante de 70 °C. Foi injetado 1 µL das amostras no GC-MS Agilent Technologies® com uma coluna capilar HP-5MS (Agilent, comprimento de 30 m x 250 µm x 0,25 µm), sendo utilizado gás hélio como fase móvel (1mL min^{-1}), à uma temperatura programada como isotérmico durante 5 minutos, a 70 °C, seguida de uma rampa de 5 °C por minuto, até 320 °C. As temperaturas do injetor, fonte de íons e quadrupolo foram de 230 °C, 200 °C e 150 °C. Os picos detectados foram fragmentados pela razão m/z via impacto de elétrons utilizando o potencial de ionização de 70 eV.

Processamento de dados por GC-MS

O processamento de dados dos espectros de massa para cada conjunto [deconvolução, alinhamento de picos e cálculo do índice de retenção linear (IRL) utilizando o padrão de alcanos (C_8 a C_{40}), juntamente com a anotação e desreplicação de compostos] foram realizados usando o fluxo de trabalho GC Library Search/Molecular Network no GNPS (<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/static/gnps-splash.jsp>) (Wang et al. 2016). Isso gerou uma tabela de “*features*” contendo a área do pico, o íon molecular (m/z), o tempo de retenção (TR) e a

anotação putativa para cada composto. Um escore mínimo de cosseno de 0,50 e uma janela de IRL de 10 foram aplicados para anotar os compostos. As anotações dos metabólitos foram realizadas seguindo as diretrizes da Metabolomics Standards Initiative (MSI) (Valli et al. 2019), usando os critérios de Nível 2, ou seja, anotação apoiada por um banco de dados espectral. Portanto, o IRL experimental dos compostos foi comparado com três bancos de dados: Golm Metabolome Database (<http://gmd.mpimp-golm.mpg.de>), MassBank Europe (<https://massbank.eu/MassBank/>) e o National Institute of Standards and Technology (<https://webbook.nist.gov>). Além disso, algumas anotações foram confirmadas por uma biblioteca interna de tempos de retenção e espectros de massas de padrões comerciais, sendo o critério de Nível 1.

Análises estatísticas dos constituintes

Uma matriz de dados foi construída utilizando o Microsoft Excel[®], abrangendo as intensidades de área de pico, “*features*” e metadados das amostras, estabelecendo a base para análises estatísticas subsequentes. Seguindo a metodologia descrita por Shah et al. (2023), as variações biológicas nas amostras de plantas foram avaliadas. Um passo fundamental nesse processo envolveu o refinamento dos dados, onde características que apresentam uma razão de abundância Branco/Amostra superior a 1:3 foram sinalizadas como contaminantes putativos e, posteriormente, removidas. Por fim, as variações nas amostras foram ajustadas utilizando a normalização pelo *Total Ion Current* (TIC) ou normalização pela soma total.

A tabela de quantificação de características foi filtrada (.csv) e carregada no site MetaboAnalyst versão 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) (Pang et al., 2024) para realizar análises multivariadas utilizando o pacote MetaboAnalystR. A base de dados foi transformada em \log_{10} e escalonada pelo método de Pareto para a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) (Szymanska et al., 2011). No entanto, como a análise PLS-DA é uma técnica discriminante suscetível ao *overfitting*, a robustez e o desempenho do modelo foram avaliados por meio de validação cruzada (Szymanska et al., 2011). Para a análise de metabólitos diferenciais, a seleção de metabólitos significativamente diferentes foi baseada nos escores de importância da variável na projeção (VIP) obtidos a partir do modelo PLS-DA ($VIP \geq 1$) (Szymanska et al., 2011). As representações gráficas foram geradas no Softwares MetaboAnalyst 6.0 e R Studio (R Core Team, 2024).

Resultados

Comportamento germinativo

Os resultados deste estudo evidenciaram diferenças significativas nos parâmetros de germinação avaliados, refletindo o comportamento germinativo das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* em função da sazonalidade. Sementes produzidas e dispersas durante a estação chuvosa apresentaram maior germinabilidade [gl = 1; F = 1133,82; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 2), velocidade média de germinação [gl = 1; F = 5467,875; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 3), uniformidade [gl = 1; F = 211,133; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 4) e sincronia [gl = 1; F = 974,475; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 5), quando comparadas às sementes produzidas na estação seca. Além disso, essas sementes apresentaram menor tempo de germinação [gl = 1; F = 3106,321; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 6) e menor incerteza [gl = 1; F = 669,366; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 7).

As sementes produzidas e dispersas nos ecossistemas de Restinga demonstraram desempenho superior em termos de parâmetros germinativos em comparação às sementes da Caatinga. Foi possível observar que as sementes da Restinga apresentaram valores significativamente maiores na germinabilidade [gl = 1; F = 20,359; Pr(>F) = 8,55⁻⁰⁶] (Figura 2), velocidade média de germinação [gl = 1; F = 5,416; Pr(>F) = 0,020478] (Figura 3), uniformidade [gl = 1; F = 59,993; Pr(>F) = 8,61⁻¹⁴] (Figura 4) e sincronia [gl = 1; F = 24,128; Pr(>F) = 1,34⁻⁰⁶] (Figura 5). Além disso, essas sementes completaram o processo germinativo em menos tempo [gl = 1; F = 9,085; Pr(>F) = 0,002749] (Figura 6) e apresentaram menor nível de incerteza [gl = 1; F = 7,954; Pr(>F) = 0,00505] (Figura 7), indicando maior eficiência no estabelecimento inicial. Esses resultados refletem diferenças ecológicas entre os dois ambientes que podem influenciar diretamente a qualidade fisiológica das sementes produzidas, que será abordado no tópico de Discussão deste artigo.

Os extratos Hex e AcEOt produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* demonstraram um efeito negativo no comportamento germinativo das sementes, evidenciando uma influência autolalelopática. Esses extratos reduziram de forma significativa a germinabilidade [gl = 3; F = 84,705; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 2), a velocidade média de germinação [gl = 3; F = 282,349; Pr(>F) < 2⁻¹⁶] (Figura 3), a uniformidade [gl = 3; F = 8,574; Pr(>F) = 1,60⁻⁰⁵] (Figura 4) e a sincronia [gl = 3; F = 21,548; Pr(>F) = 6,45⁻¹³] (Figura 5). Adicionalmente, sementes expostas a esses extratos levaram mais tempo para completar o processo

germinativo [$gl = 3; F = 9,696; Pr(>F) = 3,51^{-06}$] (Figura 6) e apresentaram maior incerteza durante a germinação [$gl = 3; F = 4,581; Pr(>F) = 0,00364$] (Figura 7). Em contraste, os extratos H₂O e MeOH não mostraram influência significativa sobre o comportamento germinativo, sugerindo que o efeito inibidor é específico aos compostos presentes nos extratos Hex e AcEOt.

Os extratos de Hex e AcEOt demonstraram um efeito inibitório significativo no comportamento germinativo das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* nas concentrações de 1,0 e 2,0 mg mL⁻¹. Nessas condições, houve uma redução expressiva na germinabilidade [$gl = 5; F = 82,724; Pr(>F) < 2^{-16}$], na velocidade média de germinação [$gl = 5; F = 207,266; Pr(>F) < 2^{-16}$], na uniformidade [$gl = 5; F = 12,202; Pr(>F) = 5,48^{-11}$] e na sincronia [$gl = 5; F = 31,446; Pr(>F) < 2^{-16}$]. Além disso, as sementes postas para germinar nessas concentrações apresentaram maior tempo para completar a germinação [$gl = 5; F = 51,250; Pr(>F) < 2^{-16}$] e níveis mais elevados de incerteza durante o processo [$gl = 5; F = 18,294; Pr(>F) = 2,72^{-16}$]. Ao contrário das sementes expostas às diferentes concentrações dos extratos H₂O e MeOH.

Sob uma abordagem multivariada, nossos resultados mostram que a sazonalidade é o principal fator que influencia o comportamento germinativo das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*. Sementes produzidas e dispersas durante a estação chuvosa apresentam desempenho superior, com maiores valores de germinabilidade, velocidade, uniformidade e sincronia, além de menor tempo e incerteza no processo germinativo (Figura 8a). Essas diferenças estão associadas à dispersão multivariada dos dados entre as estações (Tabela 1), evidenciando o impacto significativo da sazonalidade nos padrões germinativos. Além disso, as sementes da estação chuvosa exibem menor variação nos parâmetros germinativos, indicando maior uniformidade no comportamento germinativo em comparação com as da estação seca (Tabela 2). As populações provenientes dos ecossistemas de Caatinga e Restinga apresentaram comportamento germinativo semelhante, indicando que as condições sazonais desempenham um papel mais relevante do que as diferenças entre as populações na determinação dos parâmetros germinativos (Figura 8b). Esse padrão é corroborado pelos resultados da dispersão multivariada dos dados, que não identificou diferenças estatisticamente significativas na estrutura multivariada dos dados entre os ecossistemas (Tabela 1). Além disso, a análise de dispersão multivariada revelou que não houve variações significativas na dispersão dos dados entre as populações, reforçando que os padrões germinativos são uniformes entre os dois ecossistemas, independentemente de suas características ecológicas específicas (Tabela 2).

Os extratos de menor polaridade, Hex e AcOEt, impactaram negativamente o comportamento germinativo das sementes, conforme evidenciado pela alteração significativa na estrutura multivariada dos parâmetros germinativos (Tabela 1) (Figura 8c). Apesar de não identificar diferenças significativas na dispersão dos dados entre os grupos, os efeitos observados estão associados às diferenças médias nos padrões germinativos, como a redução de germinabilidade, uniformidade e sincronia (Tabela 2). Dessa forma, os extratos de Hex e AcOEt atuam como inibidores, alterando de forma consistente os parâmetros germinativos das sementes. As concentrações dos extratos influenciam significativamente o comportamento germinativo das sementes, refletindo diferenças na estrutura multivariada dos parâmetros germinativos entre as concentrações avaliadas (Tabela 1) (Figura 8d). Além disso, as variações na dispersão dos dados indicam maior ou menor consistência nos efeitos das concentrações, sugerindo que a variabilidade no comportamento germinativo depende da concentração aplicada (Tabela 2). Esses resultados destacam que o efeito inibitório dos extratos é determinado tanto pela magnitude da concentração quanto pela sua capacidade de gerar respostas menos uniformes nos parâmetros avaliados.

Composição química dos extratos

Os extratos de Hex e AcOEt foram os únicos que influenciaram negativamente o comportamento germinativo das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, promovendo um efeito de autoalelopatia. No extrato de AcOEt, foram anotados 66 metabólitos, pertencentes às seguintes classes químicas: amidas, aminas, ácidos orgânicos, aminoácidos, lactonas, niacinamidas, monossacarídeos, feniletanoides, ácidos orgânicos aromáticos, polióis, ácidos graxos e derivados, nucleosídeos, dissacarídeos e esteroides (Tabela 3).

Com os resultados da PLS-DA, foi possível observar diferenças significativas nas abundâncias relativas dos metabólitos detectados no extrato de AcOEt, produzidos a partir dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* coletados nos dois ecossistemas durante as estações chuvosa e seca (Figura 9a). A validação cruzada apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,99, demonstrando que o modelo conseguiu capturar de forma efetiva a variabilidade observada nos dados. Além disso, o coeficiente de predição cruzada (Q^2) foi de 0,61, indicando boa precisão preditiva (Figura S3a). Como o modelo de PLS-DA, criado para analisar o extrato de AcOEt, evidenciou uma discriminação significativa e confiável, empregamos a abordagem dos VIPs. Os valores de VIP, são considerados elementos essenciais para essa diferenciação,

permitiram identificar os metabólitos que contribuíram de forma crucial para a classificação e discriminação das amostras ($VIP \geq 1$) (Figura 9b).

Para o extrato de Hex, foram anotados 38 metabólitos, os quais pertencem às classes de álcoois, terpenos, ácidos graxos e derivados, ácidos orgânicos, polióis, alcanos, esteroides, aminoácidos, gliceraldeídos e hidroxiácidos graxos (Tabela 4). Observamos com os resultados para PLS-DA que houve diferenças significativas nas abundâncias relativas dos metabólitos detectados no extrato de Hex, produzidos a partir dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* coletados nos dois ecossistemas durante as estações chuvosa e seca (Figura 10a). Apresentando um R^2 de 0,90, demonstrando que o modelo conseguiu capturar de forma efetiva a variabilidade observada nos dados (Figura S3b). Além disso, o Q^2 foi de 0,70, indicando boa precisão preditiva. Os VIPs permitiram identificar os metabólitos que contribuíram de forma crucial para a classificação e discriminação das amostras (Figura 10b).

Discussão

As diferenças no comportamento germinativo das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* em relação à sazonalidade refletem sua capacidade de produzir frutos e sementes continuamente ao longo do tempo. Essas diferenças são evidentes, uma vez que sementes produzidas durante a estação chuvosa apresentam um melhor comportamento germinativo em comparação às produzidas na estação seca. Considerando que a espécie habita diferentes ecossistemas, caracterizados por variações nas precipitações, sendo as chuvas concentradas em poucos meses do ano (Santos et al., 2023), é provável que as diferentes estratégias de germinação tenham sido selecionadas ao longo do processo evolutivo para garantir o sucesso reprodutivo e a manutenção da dinâmica populacional da espécie nos seus ecossistemas de ocorrência (Lima & Meiado, 2023).

Os resultados deste estudo indicaram que as sementes dispersas durante a estação seca apresentaram um comportamento germinativo caracterizado por baixa germinabilidade, velocidade, sincronia e uniformidade. Contudo, isso não significa que as sementes dispersas sejam inviáveis, pois é frequentemente observada a formação e expressão de uma “memória de hidratação” nas sementes dessa espécie, o que pode influenciar sua germinação em condições desfavoráveis. De acordo com Lima & Meiado (2017; 2023), após a passagem pelos ciclos de hidratação e desidratação (ciclos de HD), as sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*

aumentam sua taxa de germinação, podendo alcançar até 90% de germinabilidade. Portanto, as sementes não são dispersas inviáveis, mas requerem condições específicas para germinarem no ambiente. Nesse sentido, Lima & Meiado (2023) concluíram que as sementes produzidas na estação seca são submetidas a ciclos naturais de HD, mesmo durante a estação chuvosa, devido à disponibilidade hídrica limitada nas camadas superficiais do solo onde essas sementes são dispersas. Durante esse processo, as sementes aumentam sua capacidade germinativa e desenvolvem maior tolerância a condições de déficit hídrico, melhorando suas chances de estabelecimento e sobrevivência na estação seca seguinte. Em contrapartida, as sementes produzidas na estação chuvosa passam por ciclos de HD também durante a estação seca, quando ainda há baixa precipitação, o que aumenta suas taxas de germinação e suas chances de estabelecimento na estação chuvosa subsequente, uma vez que essas sementes são menos tolerantes ao déficit hídrico (Lima & Meiado, 2023).

Além disso, a germinação das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* varia de acordo com a população estudada. Medeiros et al. (2015), ao analisarem a germinação das sementes dessa espécie em três populações localizadas na Caatinga, no interior da Paraíba, observaram que as sementes coletadas no município de Arara (80,5%) e Boa Vista (79,2%) apresentaram taxas de germinação superiores às de Areial (56,7%) quando testadas em condições controladas. Lima & Meiado (2017), ao compararem a germinação das sementes de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* em duas populações localizadas nos ecossistemas de Caatinga e Restinga, no estado de Sergipe, observaram que as sementes produzidas na Caatinga apresentaram 20% de germinação, enquanto as sementes da Restinga alcançaram 80%. Os autores atribuem essas diferenças no comportamento germinativo da espécie entre as populações a diversos fatores: (1) à ampla distribuição da espécie, que ocorre desde o Recôncavo Baiano até o Ceará e conta com populações de centenas de indivíduos (Lavor et al., 2020); (2) à autoincompatibilidade, que exige polinização cruzada entre diferentes indivíduos para a produção de sementes (Rocha et al., 2007); (3) à idade dos indivíduos, uma vez que frutos foram coletados de plantas com diferentes idades, o que pode afetar a quantidade e a qualidade das sementes produzidas (Lima & Meiado, 2017); e (4) ao padrão contínuo de floração e frutificação ao longo do ano, que expõe os indivíduos às variações sazonais do ambiente durante seu período reprodutivo (Lima & Meiado, 2017).

A presença de flavonoides, taninos, ácidos orgânicos, antocianinas, esteroides e terpenoides já foi detectada em frutos de algumas espécies de cactos colunares como, por exemplo,

em *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D. Rowley (Gonçalves et al., 2015), *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter (Souza et al., 2015; Brito-Filho et al., 2017) e *Xiquexique gounellei* (F.A.C. Weber) Lavor & Calvente subsp. *gounellei*, que apresentam alta concentração de compostos fenólicos (Nascimento et al., 2011; Maciel et al., 2016). Essas características são possíveis indicadoras de respostas alelopáticas, como observado por Santos et al. (2019), que demonstraram em seu estudo que a polpa funicular dos frutos de *X. gounellei* subsp. *gounellei* afeta significativamente a germinação das sementes de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae), bem como das sementes da própria espécie, causando, assim, um efeito de alelopatia e autoalelopatia, respectivamente.

Neste estudo, foi observada a presença de alguns metabólitos responsáveis por inibir ou retardar o processo germinativo. A nicotinamida, presente no extrato de AcOEt, é um precursor da vitamina B3 e, em sementes, esse composto é conhecido por inibir o crescimento embrionário (Zheng et al. 2005). As lactonas, também encontradas nos frutos, podem desempenhar um papel semelhante, inibindo o processo germinativo (Oster et al. 1997). No extrato de AcOEt, foram detectados compostos como: ácido treônico, 1,4-lactona; lactona e ácido ribônico-1,4-lactona. Outros metabólitos que podem atuar como aleloquímicos retardando ou até mesmo bloqueando o processo germinativo a depender da concentração, são os ácidos graxos e seus derivados, que foram encontrados nas nossas amostras para os extratos de AcOEt e Hex. Esses compostos podem atuar sinergicamente a depender do comprimento da cadeia carbônica, o número de insaturações e as posições das ligações duplas (C=C) (Charoenying et al., 2022). Os esteroides como campesterol, estigmasterol e β-sitoesterol foram detectados no extrato de Hex como sendo os compostos que mais contribuíram para diferenciação entre os fatores. Na literatura é possível observar que esses compostos mostram vários graus de atividade alelopática em ervas daninhas comuns e leguminosas (Land et al., 2017; Erida & Saidi, 2019). Dessa forma, descartamos a possibilidade do efeito autoalelopático tenha sido causado por um potencial osmótico negativo das soluções aplicadas nos testes de germinação (Tabela S1).

É importante destacar que fatores abióticos, como temperatura e precipitação, influenciam diretamente o potencial alelopático das plantas (Pedrol et al., 2006). Isso ocorre porque o tipo e a quantidade de aleloquímicos sintetizados e liberados no ambiente pelas plantas são regulados pelas condições ambientais em que estão inseridas (Van Donk & Van de Bund, 2002). Em nossos resultados, foi possível observar variações nas abundâncias relativas dos metabólitos detectados

nos extratos de AcOEt e Hex, produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, coletados em diferentes ecossistemas e sob distintas condições sazonais. Essas variações nas abundâncias relativas resultaram em respostas autoalelopáticas distintas entre as populações ao longo das diferentes estações do ano, o que corrobora a primeira hipótese proposta neste estudo. Durante a estação chuvosa, foi observado um efeito autoalelopático mais intenso, associado às maiores abundâncias dos metabólitos presentes nos extratos. Em contraste, na estação seca, esses compostos foram detectados em menores concentrações, o que reduziu significativamente o efeito da autoalelopatia.

Além disso, observamos variações intraespecíficas nas concentrações de metabólitos associados às respostas autoalelopáticas, corroborando a segunda hipótese deste estudo. Essas diferenças são atribuídas à plasticidade fenotípica das populações em resposta às condições abióticas específicas dos ecossistemas onde as populações se desenvolvem (Pardo et al., 2018). A variação geográfica nas características químicas das plantas é influenciada não apenas pelas condições ambientais, mas também pelos padrões filogeográficos. Isso ocorre porque populações localizadas ao longo da distribuição de uma espécie podem diferir em termos de tempo desde a colonização e parentesco genético, refletindo variações adaptativas e históricas específicas (Eckert et al., 2008). Esses fatores ajudam a explicar as respostas autoalelopáticas distintas observadas entre as populações em diferentes ecossistemas e condições sazonais aqui estudados.

Nesse sentido, a dispersão das sementes por animais frugívoros é de suma importância para remoção desses compostos pelo trato digestivo. Ao atingirem a maturação completa, os frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* se abrem e expõem a polpa funicular magenta. Essa polpa é consumida por diversos animais frugívoros, como o lagarto *Tropidurus semitaeniatus* (Spix, 1825) (Squamata: Tropiduridae) (Lima-Silva et al., 2021) e várias espécies de aves, incluindo *Forpus xanthopterygius* (Spix, 1824) (Psittacidae), *Mimus saturninus* (Lichtenstein, 1823) (Mimidae), *Paroaria dominicana* (Linnaeus, 1758) (Thraupidae), *Tangara sayaca* (Linnaeus, 1766) (Thraupidae) e *Tachyphonus rufus* (Boddaert, 1783) (Thraupidae) (Santos et al., 2019). Esses animais podem contribuir para a dispersão das sementes, embora sejam necessários estudos específicos para avaliar a eficácia da germinação das sementes após a passagem pelo trato digestivo, a fim de identificar quais espécies realmente promovem uma dispersão eficiente (Gomes et al., 2017). Assim, os animais frugívoros, ao consumirem a polpa como recurso alimentar, desempenham um papel essencial na rede de interações tróficas, contribuindo para a dispersão de

sementes das plantas carnosas nos diferentes habitats em que atuam (Romeu et al., 2020), além de removerem a barreira química que podem causar um efeito autoalelopático.

Conclusão

Com os resultados deste estudo é possível concluir que há um efeito autoalelopático da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis* e esse efeito é influenciado tanto pela sazonalidade quanto pelo ecossistema de ocorrência das populações. Os extratos de menor polaridade, Hex e AcOEt, destacaram-se como os principais inibidores, alterando de forma consistente os parâmetros germinativos e impactando negativamente o comportamento germinativo das sementes. Além disso, a intensidade desse efeito varia de acordo com a concentração dos extratos aplicados. Essas respostas negativas à germinação estão associadas à presença de metabólitos pertencentes as classes químicas das lactonas, esteroides e ácidos graxos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – Brasil) pela concessão da bolsa de nível mestrado concedida ao primeiro autor sob o número do processo 88887.835722/2023-00.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses financeiros ou relações pessoais conhecidas que possam ter influenciado o trabalho relatado nesse artigo.

Contribuição do autor

Conceitualização: Bruno de Santana Santos e Marcos Vinicius Meiado. Investigação, Metodologia e Curadoria de Dados: Bruno de Santana Santos; Ivan Hurtado Caceres e Cláudia Maria Furlan. Redação – rascunho original: Bruno de Santana Santos. Redação – revisão e edição: Cláudia Maria Furlan e Marcos Vinicius Meiado. Supervisão: Cláudia Maria Furlan e Marcos Vinicius Meiado.

Análise de Dados

Library Search/Networking para o extrato de AcOEt

<<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=d7a31597466b4f1f8d188feff134cfdd>>

Library Search/Networking para o extrato de Hex

<<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=bd124d47f8a4497da49ea22b6baa2ca2>>

Referências

- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Aravind, J., Vimala, D., Radharani, J., Jacob, S. R., & Srinivasa, K. (2019). The *germinationmetrics* package: A brief introduction. New Delhi, India: ICAR-National Bureau of Plant Genetic Resources, 1-219. <https://github.com/aravind-j/germinationmetrics><https://cran.r-project.org/package=germinationmetrics>.
- Bachheti, A., Sharma, A., Bachheti, R. K., Husen, A., & Pandey, D. P. (2020). Plant allelochemicals and their various applications. *Co-evolution of Secondary Metabolites*, 441-465.
- Charoenying, P., Laosinwattana, C., & Chotsaeng, N. (2022). The allelopathic activity of extracts and isolated from *Spirulina platensis*. *Molecules*, 27(12), 3852.
- Eckert, C. G., Samis, K. E., & Lougheed, S. C. (2008). Genetic variation across species' geographical ranges: the central–marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, 17(5), 1170-1188.
- Erida, G., Saidi, N., Hasanuddin, & Syafruddin. (2019, October). Allelopathic screening of several weed species as potential bioherbicides. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 334, No. 1, p. 012034). IOP Publishing.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Ahmad, N., & Hafeez, K. (2005). Thermal hardening: A new seed vigor enhancement tool in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(2), 187–193.
- Gomes, V. G. N., Meiado, M. V., Quirino, Z. G. M., de Araujo, H. F. P., & Machado, I. C. (2017). Synchronous fruiting and common seed dispersers of two endemic columnar cacti in the Caatinga, a dry forest in Brazil. *Plant Ecology*, 218, 1325-1338.
- Harborne, J. B. (2014). Introduction to ecological biochemistry. Academic press.
- Hierro, J. L., & Callaway, R. M. (2021). The ecological importance of *allelopathy*. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 52(1), 25-45.
- ISTA (2015). “Chapter 5: The germination test,” in International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. (International Seed Testing Association), 5-56.

- Kato-Noguchi, H., & Kurniadie, D. (2020). Allelopathy and allelopathic substances of mango (*Mangifera indica* L.). *Weed Biology and Management*, 20(4), 131-138.
- Krumsiek, J., Bartel, J., & Theis, F. J. (2016). Computational approaches for systems metabolomics. *Current Opinion in Biotechnology*, 39, 198-206.
- Labouriau, L. G. (1983). A germinação das sementes. Série de Biologia. Monografia 24. Washington: Organização dos Estados Americanos.
- Lande, M. L., Kanedi, M., Zulkifli, Z., & Handayani, T. T. (2017). Suppressive effects of lantana camara leaf extracts on the growth of red chilli (*Capsicum annuum*). *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 3(1), 543-551.
- Latif, S., Chiapusio, G., & Weston, L. A. (2017). Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. In Advances in botanical research (Vol. 82, pp. 19-54). Academic Press.
- Lavor, P., Pereira, M. A., Pinto, M. P., Versieux, L. M., & Calvente, A. (2020). Conservation, spatial distribution, and endemism of *Pilosocereus* cacti in xeric environments of the Neotropics. *Journal for Nature Conservation*, 55, 125825.
- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2017). Discontinuous hydration alters seed germination under stress of two populations of cactus that occur in different ecosystems in Northeast Brazil. *Seed Science Research*, 27(4), 292-302.
- Lima, A. T., & Meiado, M. V. (2023). Changes in seed hydration memory expression in *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & GD Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) seeds produced during rainy and dry season. *Plant Ecology*, 224(8), 705-714.
- Lima, A. T., Almeida, T. S., Santana, D. G., Meiado, M. V. (2025). Development of a novel multivariate germination index to quantify seed hydration memory. *Plant Biology*, 2025. (no prelo).
- Lima-Silva, T., Santos Carvalho, G. D., Xavier, M. A., Lima, J. O., & dos Reis Dias, E. J. (2021). First record of *Tropidurus semitaeniatus* (Squamata: Tropiduridae) ingesting a fruit of the cactus *Pilosocereus catingicola* in northeastern Brazil. *Herpetology Notes*, 14, 345-348.
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Yin, H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12824.

- Macias, F. A., Molinillo, J. M., Varela, R. M., & Galindo, J. C. (2007). Allelopathy—a natural alternative for weed control. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 63(4), 327-348.
- Mannochio-Russo, H., de Almeida, R. F., Nunes, W. D., Bueno, P. C., Caraballo Rodríguez, A. M., Bauermeister, A., ... & Bolzani, V. S. (2022). Untargeted metabolomics sheds light on the diversity of major classes of secondary metabolites in the Malpighiaceae botanical family. *Frontiers in Plant Science*, 13, 854842.
- Medeiros, R. L. S., Souza, V. C., Azeredo, G. D., Pereira, E. M., Barbosa Neto, M. A., Medeiros, V. S., & Barbosa, A. S. (2015). Germinação e vigor de sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (cactaceae) da caatinga paraibana. *Gaia Scientia*, 9(2), 61-66.
- Meiado, M. V., Rojas-Aréchiga, M., Siqueira-Filho, J. A., & Leal, I. R. (2016). Effects of light and temperature on seed germination of cacti of Brazilian ecosystems. *Plant Species Biology*, 31(2), 87-97.
- Müller, C., Bräutigam, A., Eilers, E., Junker, R., Schnitzler, J. P., Steppuhn, A., ... & Wittmann, M. (2020). Ecology and evolution of intraspecific chemodiversity of plants. *Research Ideas and Outcomes*, 6, e49810.
- Oster, U., Bios, I., & Rüdiger, W. (1987). Natural Inhibitors of germination and growth IV compounds from fruit and seeds of mountain ash (*Sorbus aucuparia*). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 42(11-12), 1179-1184.
- Pang, Z., Lu, Y., Zhou, G., Hui, F., Xu, L., Viau, C., ... & Xia, J. (2024). MetaboAnalyst 6.0: towards a unified platform for metabolomics data processing, analysis and interpretation. *Nucleic Acids Research*, gkae253.
- Pardo, A., Cáceres, Y., & Pulido, F. (2018). Intraspecific variation in heritable secondary metabolites and defensive strategies in a relict tree. *Journal of Plant Ecology*, 11(2), 256-265.
- Pedrol, N., González, L., & Reigosa, M. J. (2006). Allelopathy and abiotic stress. In *Allelopathy: a physiological process with ecological implications* (pp. 171-209). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Peñuelas, J., & Staudt, M. (2010). BVOCs and global change. *Trends in plant science*, 15(3), 133-144.

- Peters, K., Balcke, G., Kleinenkuhnen, N., Treutler, H., & Neumann, S. (2021). Untargeted in silico compound classification—a novel metabolomics method to assess the chemodiversity in bryophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3251.
- Pilon, A. C., Vieira, N. C., Amaral, J. G., Monteiro, A. F., Silva, R. R. D., Spíndola, L. S., ... & Lopes, N. P. (2021). Redes moleculares: Uma análise sobre anotações e descoberta de novos ativos. *Química Nova*, 44, 1168-117.
- Ranal, M. A., & Ferreira, W. R. (2023). Seed germination and seedling emergence measurements of Brazilian native species. *Brazilian Journal of Forestry Research*, 43(1), e202002166.
- Ranal, M. A., & Santana, D. G. (2006). How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany*, 29(1), 1–11.
- Rumeu, B., Donoso, I., Rodríguez-Pérez, J., & García, D. (2020). Frugivore species maintain their structural role in the trophic and spatial networks of seed dispersal interactions. *Journal of Animal Ecology*, 89(9), 2168-2180.
- Rice, E. L. (2012). Allelopathy (2^a ed.). Orlando, FL: Academic Press.
- Rocha, E.A., Machado, I.C., Zappi, D. (2007) Fenologia, biologia da polinização e da reprodução de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae) no Nordeste do Brasil. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas* 4, 5–7.
- Rowan, D. D., Cao, M., Lin-Wang, K., Cooney, J. M., Jensen, D. J., Austin, P. T., ... & Allan, A. C. (2009). Environmental regulation of leaf colour in red 35S: PAP1 *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 182(1), 102-115.
- Sadraei, H., Ghannadi, A., & Takei-bavani, M. (2003). Effects of *Zataria multiflora* and *Carum carvi* essential oils and hydroalcoholic extracts of *Passiflora incarnata*, *Berberis integerrima* and *Crocus sativus* on rat isolated uterus contractions. *International Journal of Aromatherapy*, 13(2-3), 121-127.
- Santos, A. P., Hassemer, G., & Meiado, M. V. (2019). Study of the allelopathic potential of the fruit pulp of *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 146(3), 174-181.
- Santos, L. D. A. N., Pereira, I. M., Ribeiro, J. R., & Las-Casas, F. M. (2019). Frugivoria por aves em quatro espécies de Cactaceae na Caatinga, uma floresta seca no Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 109, e2019034.

- Santos, P. H. N., de Barros, G. V. P., & Ferreira, W. S. (2023). Perfil climático e cobertura do solo: o cenário do estado de Sergipe. *Revista Brasileira de Geografia Física*, 16(01), 101-115.
- Scavo, A., & Mauromicale, G. (2021). Crop allelopathy for sustainable weed management in agroecosystems: Knowing the present with a view to the future. *Agronomy*, 11(11), 2104.
- Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K., & Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. *Metabolomics*, 8, 3-16.
- Tsugawa, H. (2018). Advances in computational metabolomics and databases deepen the understanding of metabolisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 54, 10-17.
- Valli, M., Russo, H. M., Pilon, A. C., Pinto, M. E. F., Dias, N. B., Freire, R. T., ... & Bolzani, V. D. S. (2019). Computational methods for NMR and MS for structure elucidation II: database resources and advanced methods. *Physical Sciences Reviews*, 4(11), 20180167.
- Van Donk, E., & Van de Bund, W. J. (2002). Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto-and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany*, 72(3-4), 261-274.
- Wang, C., Liu, Z., Wang, Z., Pang, W., Zhang, L., Wen, Z., ... & Yang, C. (2022). Effects of autotoxicity and allelopathy on seed germination and seedling growth in *Medicago truncatula*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 908426.
- Wang, C., Liu, Z., Wang, Z., Pang, W., Zhang, L., Wen, Z., ... & Yang, C. (2022). Effects of autotoxicity and allelopathy on seed germination and seedling growth in *Medicago truncatula*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 908426.
- Wang, M., Carver, J. J., Phelan, V. V., Sanchez, L. M., Garg, N., Peng, Y., ... & Bandeira, N. (2016). Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, 34(8), 828-837.
- Weston, L. A. (1996). Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. *Agronomy journal*, 88(6), 860-866.
- Whitehead, S. R., Jeffrey, C. S., Leonard, M. D., Dodson, C. D., Dyer, L. A., & Bowers, M. D. (2013). Patterns of secondary metabolite allocation to fruits and seeds in *Piper reticulatum*. *Journal of Chemical Ecology*, 39, 1373-1384.

- Whitehead, S. R., Quesada, M. F. O., & Bowers, M. D. (2016). Chemical tradeoffs in seed dispersal: defensive metabolites in fruits deter consumption by mutualist bats. *Oikos*, 125(7), 927-937.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.
- Zhang, Z., Wu, J., Xi, Y., Zhang, L., Gao, Q., & Wang-Pruski, G. (2021). Effects of autotoxicity on seed germination, gas exchange attributes and chlorophyll fluorescence in melon seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-11.
- Zheng, X. Q., Hayashibe, E., & Ashihara, H. (2005). Changes in trigonelline (N-methylnicotinic acid) content and nicotinic acid metabolism during germination of mungbean (*Phaseolus aureus*) seeds. *Journal of Experimental Botany*, 56(416), 1615-1623.

INFORMAÇÃO DE SUPORTE

Apêndice S1. Figuras Suplementares

Apêndice S2. Tabelas Suplementares

TABELAS

Tabela 1. Valor de grau de liberdade (gl), R², Valor de Fisher (F) e de Pr(>F) para Análise de Variância Permutacional Multivariada para os fatores estação, população, extração e concentração para os parâmetros que caracterizam o comportamento germinativo.

	gl	R²	F	Pr(>F)	Sig^a
Estação	1	0,3248	248,84	0,001	***
Ecossistema	1	0,0060	2,9244	0,083	.
Extrato	3	0,0752	12,896	0,001	***
Concentração	5	0,1213	13,069	0,001	***

^a Código de significância: 0 ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

Tabela 2. Valor de grau de liberdade (gl), Valor de Fisher (F) e de Pr(>F) para Análise de Betadisper para os fatores estação, população, extração e concentração para os parâmetros que caracterizam o comportamento germinativo.

	gl	F	Pr(>F)	Sig ^a
Estação	1	15.518	9.394 ⁻⁰⁵	***
Ecossistema	1	1.1405	0,2862	
Extrato	3	2,1359	0,0984	
Concentração	5	7,6583	6,169 ⁻⁰⁷	***

^aCódigo de significância: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Tabela 3. Metabólitos detectados via GC-MS para o extrato de Acetato de Etila (AcOEt) produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados durante a estação chuvosa e seca nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga na região Nordeste do Brasil.

Pico	TR (min)	Classe	Provável Composto	Cosseno	IRL	IRL (Nist)	IRL (GMD)	IRL (MassBank)	Nível
1	8,84	Amidas	Ureia ^a	0,83	-	1237,0	1235,0	1238,0	2
2	9,71	Aminas	Etanolamina	0,80	1271,0	1269,0	1261,0	1262,0	2
3	10,98	Ácidos Orgânicos	Ácido succínico	0,93	1321,2	1321,0	1311,0	1317,0	2
4	11,34	Ácidos Orgânicos	Ácido metilsuccínico	0,85	1334,0	1333,0	1325,0	1330,0	2
	11,43	Pirimidinas	Uracil ^a	-	1350,0	1346,0	1335,0	1333,0	2
5	11,68	Ácidos Orgânicos	Ácido glicérico ^a	-	1347,0	1347,0	1320,0	1341,0	2
6	11,88	Ácidos Orgânicos	Ácido fumárico	0,75	1354,0	1353,0	1347,0	1349,0	2
7	11,97	Ácidos Orgânicos	Ácido fumárico*	0,81	1357,0	1358,0	1347,0	1349,0	2
8	12,49	Aminoácidos	Serina	0,72	1376,0	1380,0	1352,9	1379,4	2
9	12,72	Lactonas	Ácido treônico, 1,4-lactona	-	1385,0	1385,0	1373,0	-	2
10	13,54	Ácidos Orgânicos	Ácido glutárico	0,81	1415,0	1410,0	1401,4	1406,0	2
11	14,13	Aminoácidos	β-Alanina		1439	1439	1426	-	2
12			Ácido eritrônico-1,4-						
	14,24	Lactonas	lactona	-	1443,0	1427,0	1432,0	-	2
13	14,81	Ácidos graxos e derivados	Ácido cáprico ($C_{10:0}$)	0,81	1465,0	1462,0	1456,1	-	2
14	15,29	Niacinamidas	Nicotinamida	0,78	1483,0	1478,0	1474,3	-	2
15	15,52	Ácidos Orgânicos	Ácido citramálico	-	1492,0	1487,0	1464,0	1486,0	
16	15,98	Ácidos Orgânicos	Ácido málico	0,97	1511,0	-	1479,0	1498,0	2
17	16,27	Monossacarídeos	β-2-Desoxi-D-ribose ^a	-	1523,0	1530,0	-	-	2
18	16,59	Aminoácidos	5-Oxo-L-prolina	0,92	1535,9	1529,0	1521,0	1535,0	2
19	16,65	Polióis	meso-Eritritol	0,89	1538,4	1535,0	-	1525,0	2

Artigo II

20	17,52	Ácidos de Açúcares	Ácido treônico ^a	-	1574,1	-	1546,0	-	2
21	17,63	Feniletanóides	Tirosol	0,79	1578,0	1568,7	1575,3	1580,0	2
22	17,96	Ácidos Orgânicos	Ácido eritrônico ^a	-	1592,0	1567,0	-	-	2
23	18,13	Ácidos orgânicos aromáticos	Ácido fenilático ^a	-	1599,0	1602,0	-	1599,0	2
24	18,87	Ácidos Orgânicos	Ácido tartárico ^a	-	1629,8	1622,4	1628,9	1620,9	2
25	19,10	Aminoácidos	Fenilalanina	0,75	1639,0	1636,0	1629,6	1626,7	2
26	19,32	Fenólicos	Ácido 4-hidroxifenilacético	0,79	1648,0	1648,0	-	-	2
27	19,50	Fenólicos	Protocateualdeído ^a	-	1624,0	1618,0	-	-	2
28	19,53	Monossacarídeos	Fucopiranose		1657,0	1658,6	-	-	2
29			Ácido Ribônico-1,4-						
	19,80	Ácidos de Açúcares	lactona ^a	-	1672,5	1677,3	1678,9	-	2
30	20,05	Monossacarídeos	Ribose ^a	-	1678,0	1680,1	1665,0	1659,0	2
31	20,11	Piranos	Ácido kójico	0,66	1681,0	1686,2	1685,0	1686,0	2
32	20,28	Monossacarídeos	Arabinose ^a	-	1688,0	1690,0	-	1685,0	1
33	20,46	Monossacarídeos	Fucose ^a	-	1696,0	1700,0	1714,0	1709,2	2
34	22,45	Polióis	Glicerol 3-fosfoato	0,91	1785,0	1787,0	1750,5	-	2
35	22,81	Ácidos de Açúcares	Ácido ribônico	0,78	1793,0	1799,0	-	-	2
36	23,33	Fenólicos	Ácido protocatecóico	0,79	1829,0	1828,0	-	1815,0	2
37	23,61	Monossacarídeos	Frutofuranose ^a	-	1844,0	1842,0	-	-	2
38	25,43	Monossacarídeos	Glicose	0,75	1940,5	1937,0	-	-	2
39	25,91	Monossacarídeos	Galactose	0,90	1964,0	1965,0	-	-	2
40	26,53	Ácidos de Açúcares	Ácido galacturônico	0,70	1996,4	1956,5	-	-	2
41	26,68	Polióis	Iditol	0,87	2004,0	1988,0	-	-	2
42	27,01	Monossacarídeos	Glucopiranose ^a	-	2022,0	2025,0	-	-	2
43	27,42	Ácidos de Açúcares	Ácido glucônico ^a	-	2044,0	2043,0	-	-	2

Artigo II

44	27,91	Ácidos Orgânicos	Ácido dodecanodíóico	0,69	2070,2	2060,0	-	-	-	2
45	27,96	Glicosídeos	Metil beta-D-galactosídeo	0,71	2072,9	-	-	-	-	2
46	28,93	Polióis	<i>Mio</i> -inositol	0,72	2126,0	2129,0	-	-	-	2
47	29,46	Ácidos de Açúcares	Ácido glucurônico ^a	-	-	2063,0	-	-	-	1
48	29,82	Monossacarídeos	Xilose ^a	-	2155,7	2157,0	-	-	-	2
49	30,26	Fenólicos	Ácido 5-hidroxiindolacético ^a	-	2200,6	2200,0	2215,0	2212,9	2212,9	2
50	30,51	Ácidos graxos e derivados	Ácido linoléico (C _{18:2;9,12})	0,94	2215,0	2214,0	2209,9	2209,6	2209,6	2
51	30,60	Ácidos graxos e derivados	Ácido <i>cis</i> -oleico (C _{18:1;9})	0,94	2220,4	2220,0	2221,7	2217,4	2217,4	2
52	30,71	Ácidos graxos e derivados	Ácido <i>trans</i> -oleico (C _{18:1;9})	0,77	2227,0	2229,0	2225,4	2223,7	2223,7	2
53	31,06	Ácidos graxos e derivados	Ácido esteárico (C _{18:0})	0,94	2246,6	2247,0	2243,5	2236,0	2236,0	2
54	34,31	Ácidos graxos e derivados	Ácido araquídico (C _{20:0})	0,81	2444,0	2442,0	2453,8	-	-	2
55	34,74	Nucleosídeos	Uridina	0,79	2471,0	2470,0	2468,0	2454,0	2454,0	2
56	35,82	Dissacarídeos	Lactulose ^a	-	2540,0	2587,0	-	-	-	2
57	36,80	Ácidos graxos e derivados	1-Monopalmitina	0,76	2605,0	2606,0	-	-	-	2
58	37,07	Dissacarídeos	Lactose	0,68	2623,0	2625,0	-	-	-	2
59	37,75	Nucleosídeos	Adenosina	0,86	2669,0	2668,0	-	-	-	2
60	39,23	Ácidos graxos e derivados	1-Monolinoleína ^a	-	2772,0	2780,0	-	-	-	2

Artigo II

61	39,23	Ácidos graxos e derivados	1-Monolinoleína ^a	-	2772,0	2780,0	-	-	2
62	39,47	Iridoide	Aucubina ^a	-	2789,0	2768,9	-	-	2
63	40,18	Ácidos graxos e derivados	Ácido lignocérico (C _{24:0})	0,74	2840,0	2835,0	2834,4	-	2
64	41,75	Dissacarídeos	Melibiose ^a	-	2960,0	2950,0	-	-	2
65	45,80	Esteroides	Campesterol	0,90	3274,0	3263,0	3298,0	-	2
66	46,88	Esteroides	β-Sitosterol	0,88	3364,5	3356,0	3385,8	-	2

TR (min): tempo de retenção em minutos.

^aAnotação considerando a biblioteca de espectrometria de massas NIST 2.0.

IRL: índice de retenção linear.

GMD: Banco de Dados de Metaboloma de Golm.

(-): índice de retenção linear não encontrado no banco de dados.

Reisdorph et al. (2020) explica como 1: Compostos identificados (anotação corroborada pela biblioteca interna) e 2: Compostos putativamente anotados.

*: estereoisômeros produzidos pela reação de metoximação.

Tabela 4. Metabólitos detectados via GC-MS para o extrato de Hexano (Hex) produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)] coletados durante a estação chuvosa e seca nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga na região Nordeste do Brasil.

Pico	TR (min)	Classe	Provável Composto	Cosseno	IRL	IRL (Nist)	IRL (GMD)	IRL (MassBank)	Nível
1	10,20	Polióis	Glicerol	0,81	1287,5	1289,0	1262,3	1283,0	2
2	10,25	Polióis	Glicerol*	0,97	1287,5	1289,0	1262,3	1283,0	2
3		Ácidos graxos e derivados	Ácido 2-octenóico	0,84	1323,0	1313,0	-	-	2
4		Ácidos graxos e derivados	Ácido 2-octenóico*	0,85	1324,0	1313,2	-	-	1
5	11,14	Ácidos Orgânicos	Ácido succínico	0,86	1327,0	1321,0	1311,0	1317,0	2
6		Ácidos graxos e derivados	Ácido mevalônico, lactona	0,70	1329,4	1359,0	1378,7	-	2
7		Terpenos	4,4,6-Trimetil-ciclohex-2-en-1-ol ^a	-	1350,0	-	-	-	2
8		Ácidos graxos e derivados	Ácido nonanóico ^a (C _{9:0})	-	1368,0	1355,0	1361,0	1361,0	2
9	12,26	Aminoácidos	Arginina	0,74	1408,5	1386,0	-	-	2
10	13,34	Ácidos Orgânicos	Ácido málico	0,83	1487,0	-	1479,0	1476,0	1
11	15,45	Ácidos graxos e derivados	Ácido 10-undecinóico	-	1576,0	1568,7	-	-	2
12	17,55		Ácido tartárico ^a	-	1624,0	1622,4	1628,9	1621,0	2
13	18,73	Ácidos Orgânicos	Ácido pimélico	0,70	1630,0	1612,0	1596,6	1606,0	2
14	18,83	Ácidos graxos e derivados	Ácido subérico (C _{8:0})	0,81	1703,3	1710,0	1699,0	1700,0	2

Artigo II

14		Ácidos graxos e							
	22,73	derivados	Ácido azelaíco (C _{9:0})	0,77	1797,6	1807,0	1790,7	-	2
15		Ácidos graxos e							
	24,69	derivados	Ácido sebácico (C _{16:0})	0,93	1903,0	1904,0	1885,6	1900,0	2
16	26,17	Polióis	Manitol ^a	-	1978,0	1975,0	-	-	2
17		Ácidos graxos e							
	27,12	derivados	Ácido palmitoléico	0,81	2028,8	2030,0	2029,7	2025,0	2
18		Ácidos graxos e							
	27,53	derivados	Ácido palmítico (C _{16:0})	0,94	2049,0	2050,0	2045,4	2038,4	2
19		Ácidos graxos e							
	30,50	derivados	Ácido linoléico (C _{18:2;9,12})	0,94	2214,6	2214,0	2209,9	2209,6	2
20		Ácidos graxos e							
	30,60	derivados	Ácido <i>cis</i> -oleico (C _{18:1;9})	0,93	2220,4	2220,0	2221,7	2217,4	2
21		Ácidos graxos e							
	30,72	derivados	Ácido <i>trans</i> -oleico (C _{18:1;9})	0,93	2227,0	2229,0	2225,0	2224,0	2
22		Ácidos graxos e							
	34,32	derivados	Ácido araquídico (C _{20:0})	0,78	2444,0	2442,0	2454,0	-	2
23		Ácidos graxos e	Ácido 10,16-dihidroxihexadecanoíco,						
	34,78	derivados	éster metílico ^a	-	2472,0	2470,0	-	-	2
24	35,17	Alcanos	<i>n</i> -Pentacosano (C ₂₅)	0,89	2498,0	-	2499,3		2
25		Ácidos graxos e							
	36,31	derivados	2-Monopalmitina ^a	-	2570,3	2576,0	-	-	2
26		Ácidos graxos e							
	36,8	derivados	1-Monopalmitina	0,79	2605,0	2606,0	-	-	2

Artigo II

27	Ácidos graxos e								
	37,35	derivados	Ácido beeénico (C _{22:0})	0,80	2642,0	2644,0	2650,6	2637,5	2
28	38,17	Alcanos	<i>n</i> -Heptacosano (C ₂₇)	0,88	2698,0	-	2699,2		2
29	Ácidos graxos e								
	39,27	derivados	1-Monolinoleína ^a	-	2774,0	2780,0	-	-	2
30	39,37	Glicerídeos	1-Monooleoilglicerol	0,71	2781,3	2788,0	2754,1	-	2
31	Ácidos graxos e								
	39,6	derivados	1-Monostearina	0,75	2797,2	2806,0	-	-	2
32	Ácidos graxos e								
	40,18	derivados	Ácido lignocérico ^a (C _{24:0})	-	2840,0	2835,0	2834,4	-	2
33	40,97	Alcanos	<i>n</i> -Nonacosano ^a (C ₂₉)	-	2893,0		2893,9		2
34	45,80	Esteroides	Campesterol	0,90	3274,0	3263,0	3298,0	-	2
35	46,18	Esteroides	Estigmasterol	0,83	3305,4	3305,0	3319,3	-	2
36	46,88	Esteroides	β-Sitosterol	0,88	3364,5	3356,0	3385,8	-	2
37	47,01	Esteroides	Estigmastanol	0,70	3376,1	3349,0	3365,8	-	2

TR (min): tempo de retenção em minutos.

^aAnotação considerando a biblioteca de espectrometria de massas NIST 2.0.

IRL: índice de retenção linear.

GMD: Banco de Dados de Metaboloma de Golm.

(-): índice de retenção linear não encontrado no banco de dados.

Reisdorph et al. (2020) explica como 1: Compostos identificados (anotação corroborada pela biblioteca interna) e 2: Compostos putativamente anotados.

*: estereoisômeros produzidos pela reação de metoximação.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Localização das áreas de coleta dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) no município de Nossa Senhora de Glória, localizado no Alto Sertão do Estado de Sergipe, área de Caatinga e no município de Aracaju ambiente que pertence as Restingas da Costa Atlântica. As coletas foram realizadas entre os meses de junho de 2023, momento de maior precipitação para ambos os ecossistemas, variando entre 200,6 mm para Restinga e 85,6 mm para Caatinga, e no mês de dezembro com precipitações de 34,6 mm para Restinga e 6,8 mm para Caatinga (INMET, 2024).

Figura 2. Germinabilidade (%) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O), nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL^{-1} . Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 3. Velocidade Média de Germinação (dias) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL^{-1} . Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 4. Coeficiente de Variação de Tempo CVt (%) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL^{-1} . Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 5. Sincronia das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL^{-1} . Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 6. $t_{(50\%)}^{\text{Farooq}}$ das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL⁻¹. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de $p < 0,05$.

Figure 7. Incerteza (bit) das sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOET), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL⁻¹. Dados expressos em média ± intervalo de confiança com nível de significância de $p < 0,05$.

Figura 8. Comportamento germinativo de sementes de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) caracterizados pelos parâmetros de Germinabilidade (%), $t_{(50\%)}^{\text{Farooq}}$, Velocidade Média de Germinação (VMG), Coeficiente de Variação de Tempo (CVt), Sincronia e Incerteza, frente a extratos da polpa funicular dos frutos da própria espécie produzidos a partir dos solventes Acetato de Etila (AcOEt), Hexano (Hex), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg mL⁻¹. Os extratos foram produzidos a partir de frutos coletados no município de Nossa Senhora da Glória (Ecossistema de Caatinga) e em Aracaju (Ecossistema de Restinga) do Estado de Sergipe, Brasil, durante os meses de junho de 2023, momento de maior precipitação e em dezembro, momento de menor precipitação. Resultados para (a) Estação, (b) Ecossistema, (c) Extrato e (d) Concentração.

Figura 9. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) dos metabólitos presentes no extrato de AcOEt realizado a partir da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção ($VIP \geq 1$), dados expressos em mg g⁻¹ de material vegetal escalonados em log₁₀.

Figura 10. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) dos metabólitos presentes no extrato de Hex realizado a partir da polpa funicular dos frutos de [*Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae)], coletados no ecossistema da Caatinga durante as estações chuvosa (CC) e seca (CS) e na Restinga

durante as estações chuvosa (RC) e seca (RS) (a). (b) Resultados para a Importância das Variáveis na Projeção ($VIP \geq 1$), dados expressos em mg g^{-1} de material vegetal escalonados em \log_{10} .

FIGURAS

Figura 1.

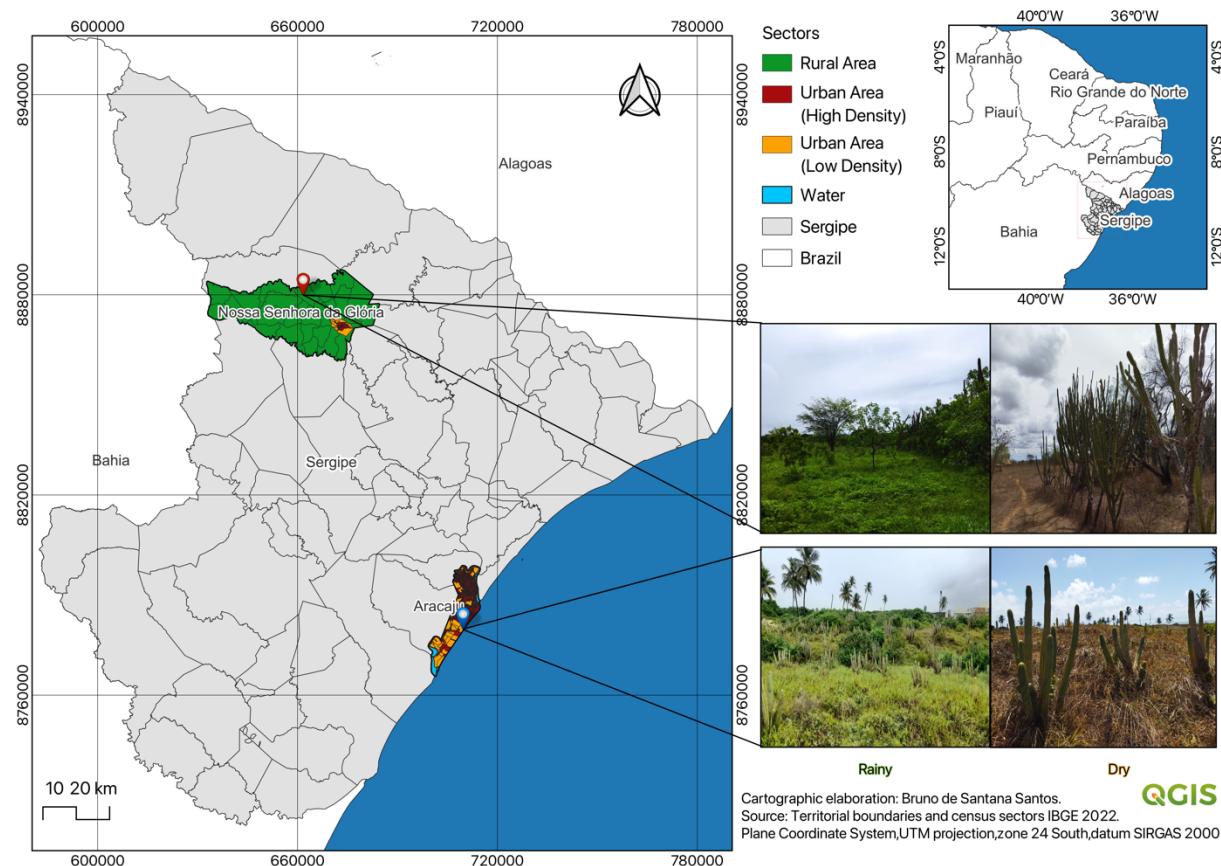


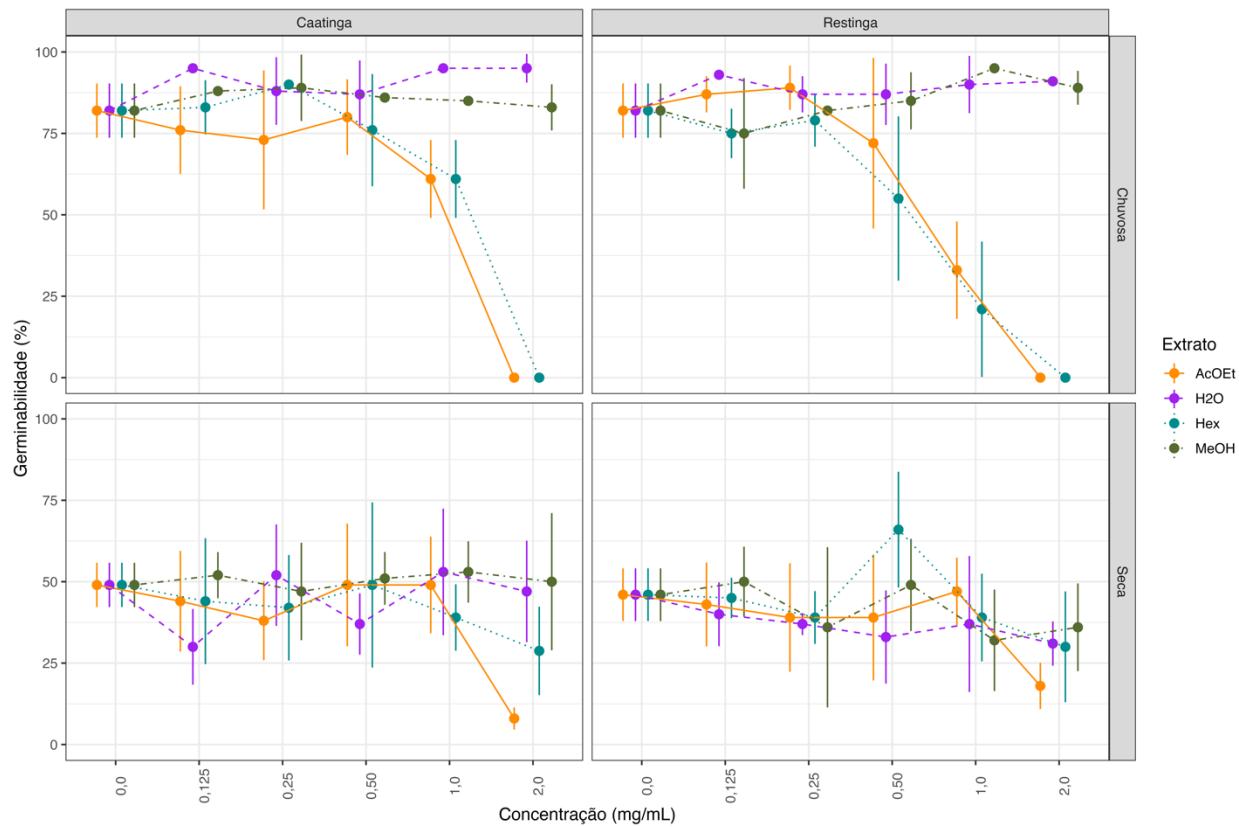
Figura 2.

Figura 3.

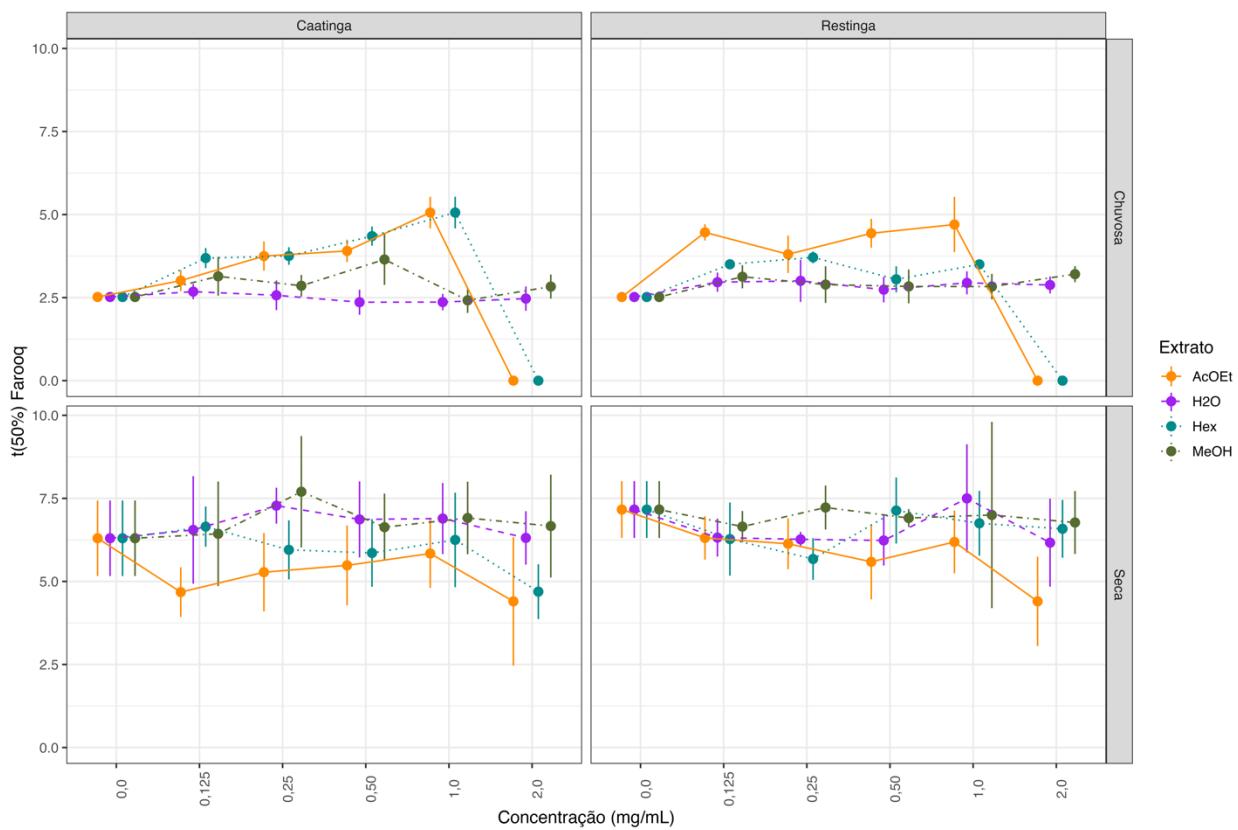


Figura 4.

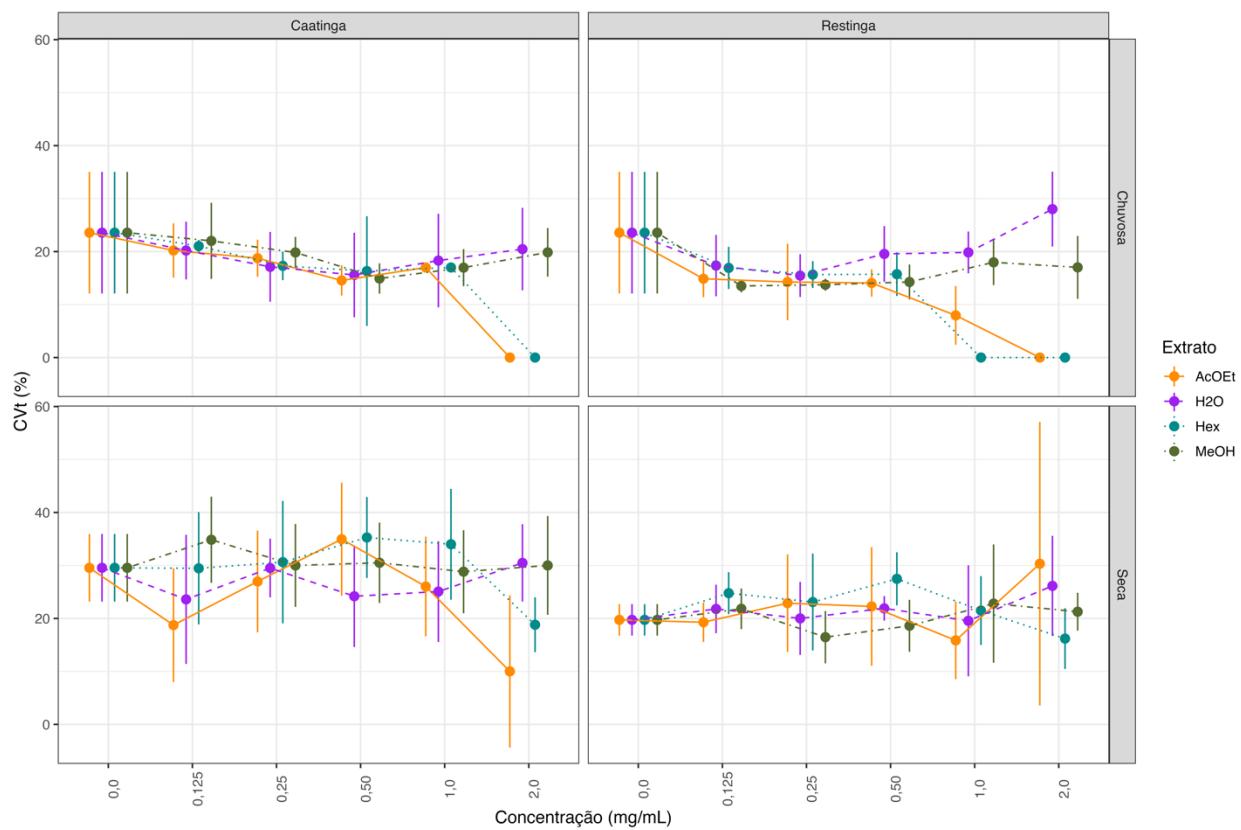


Figura 5.

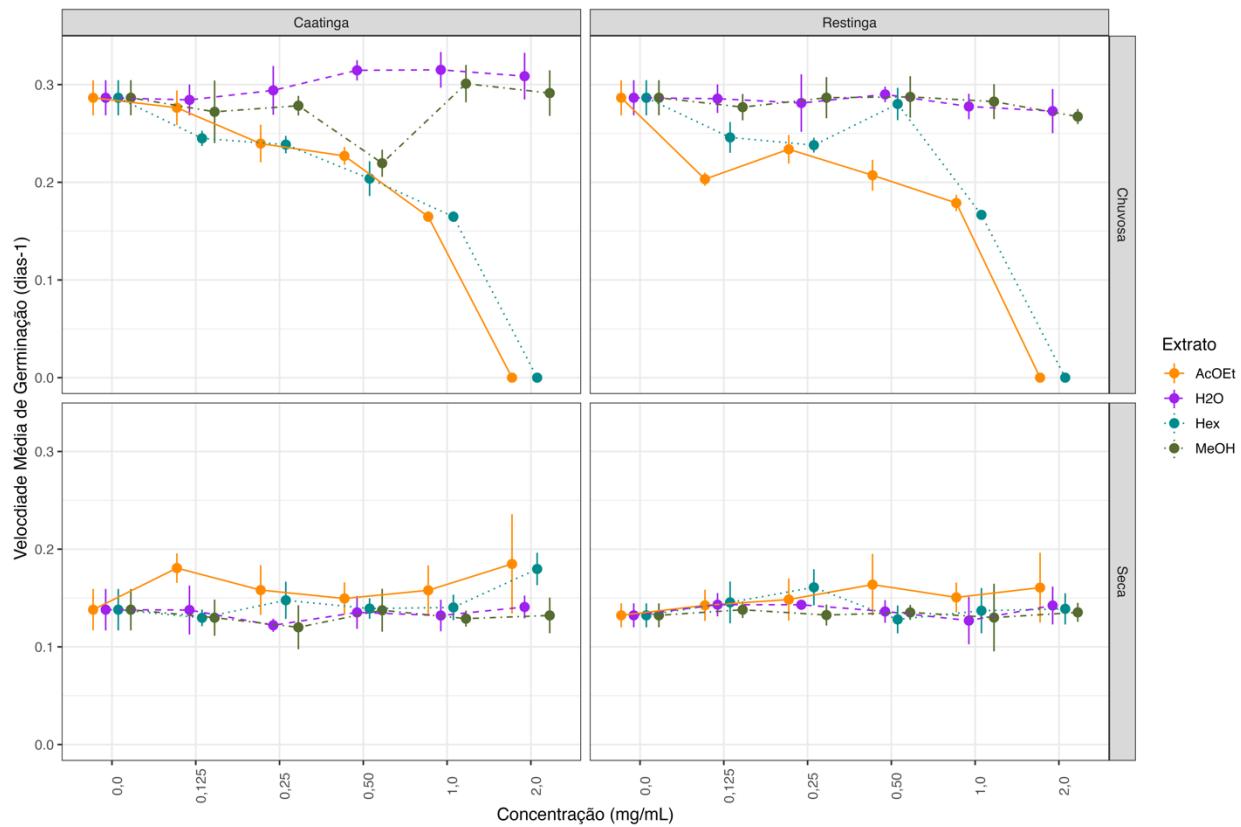


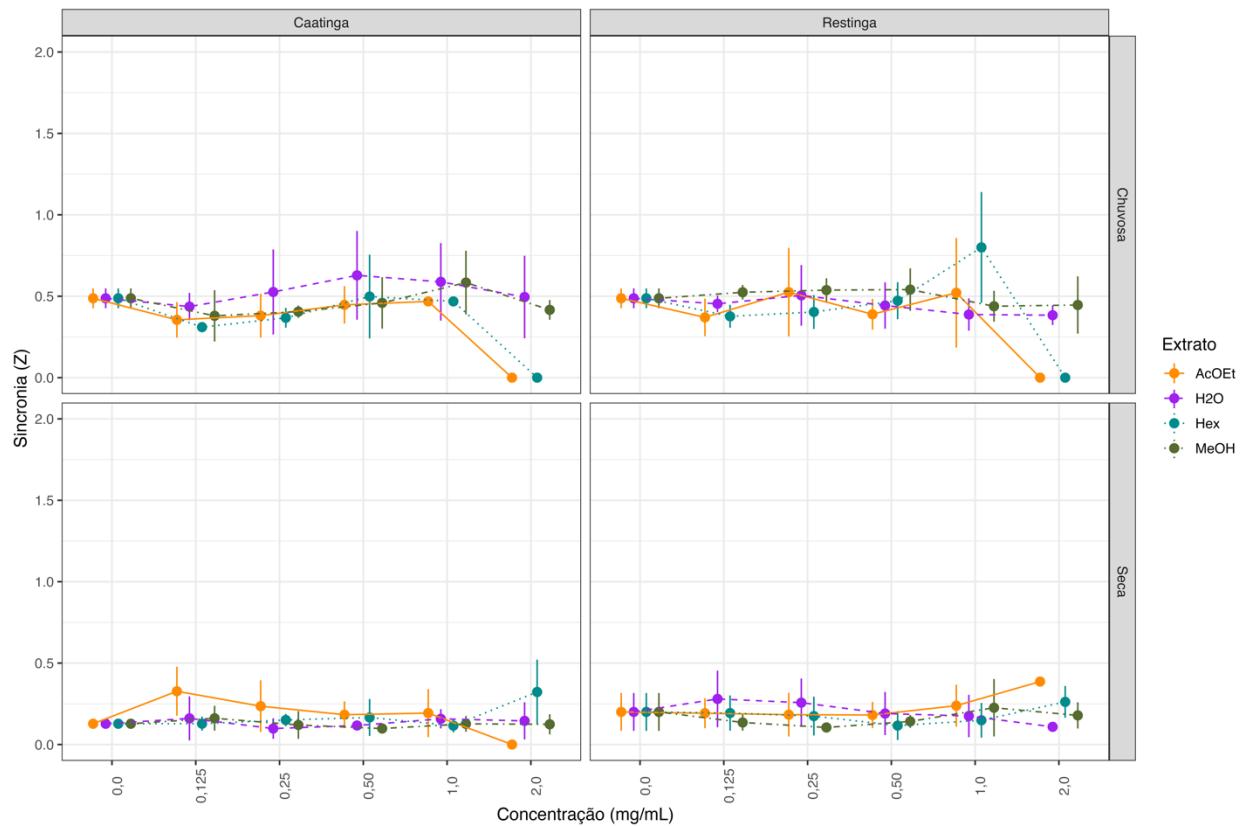
Figura 6.

Figura 7.

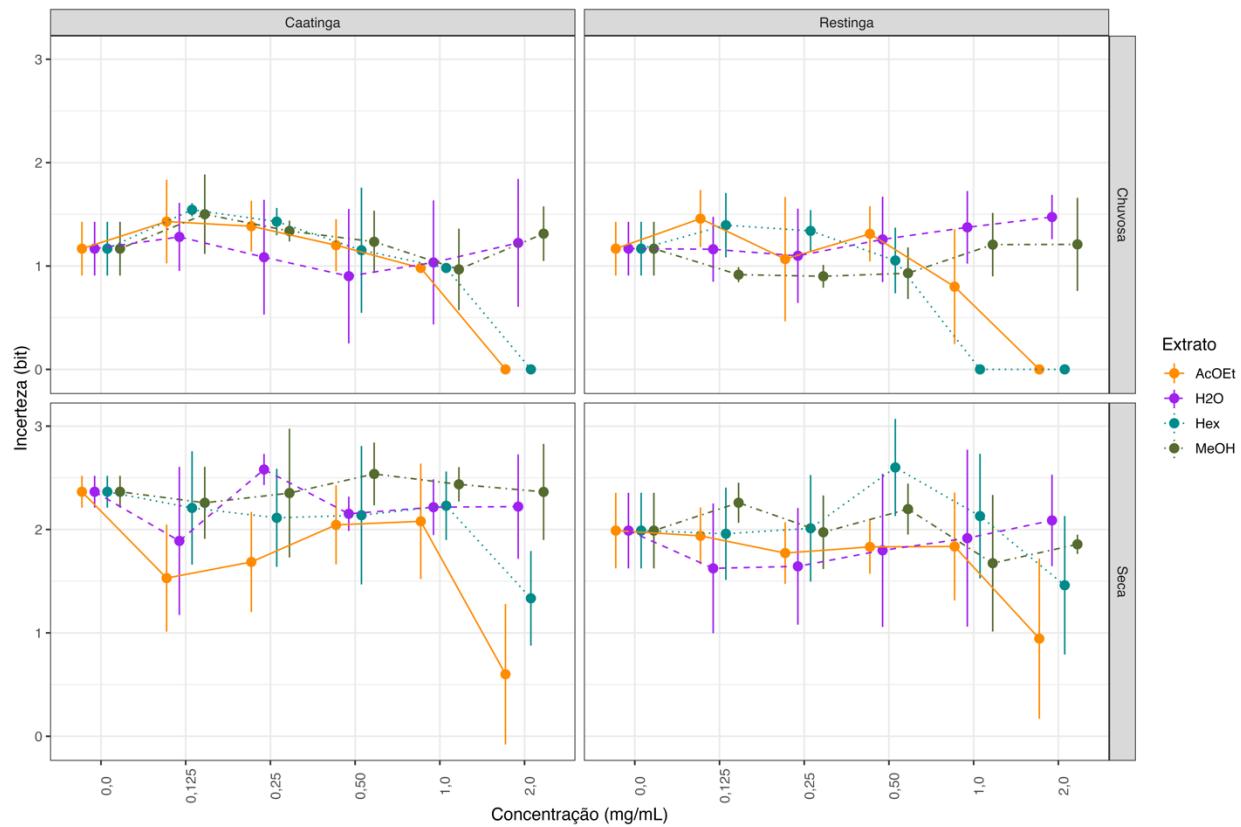


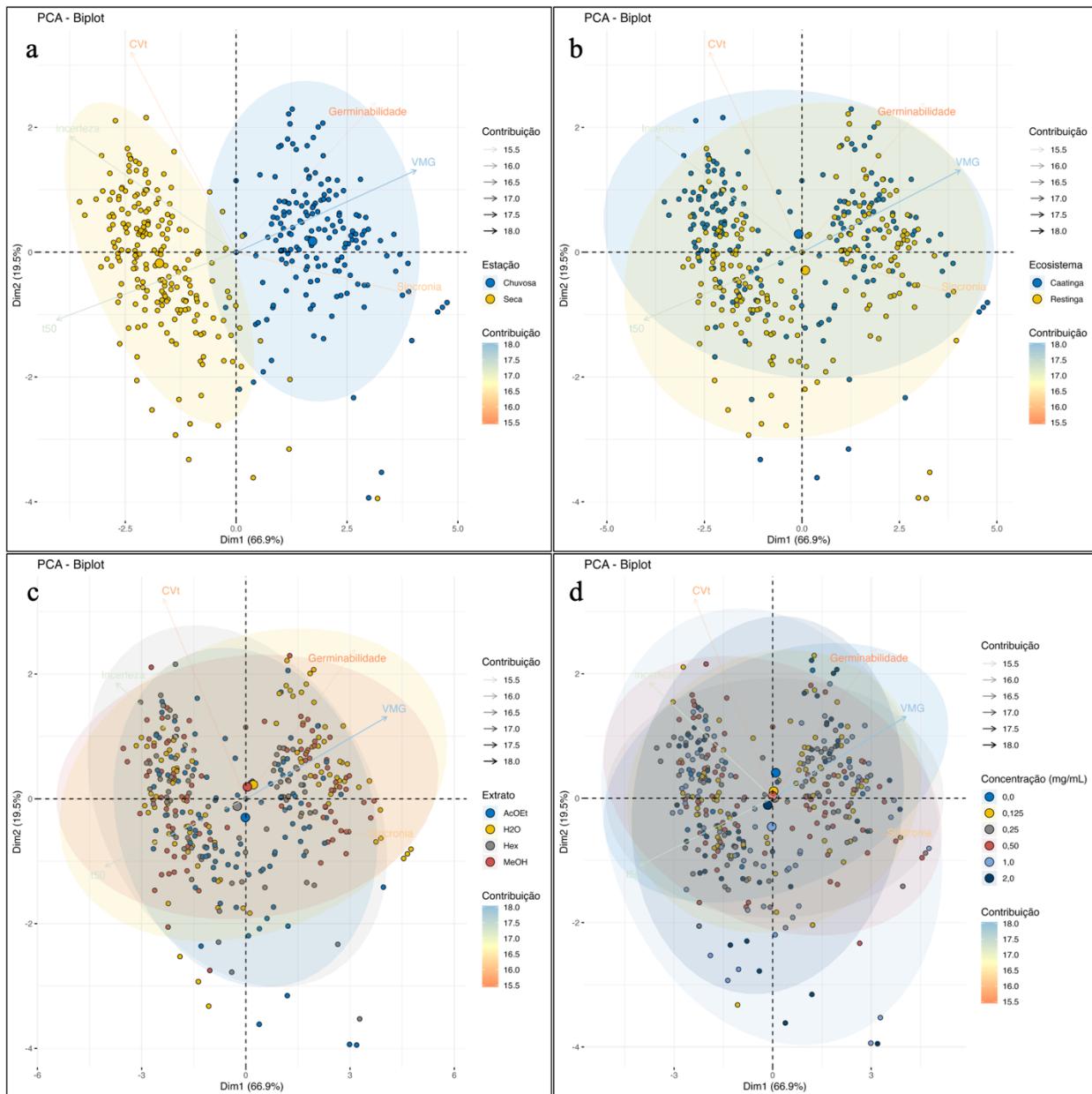
Figura 8.

Figura 9.

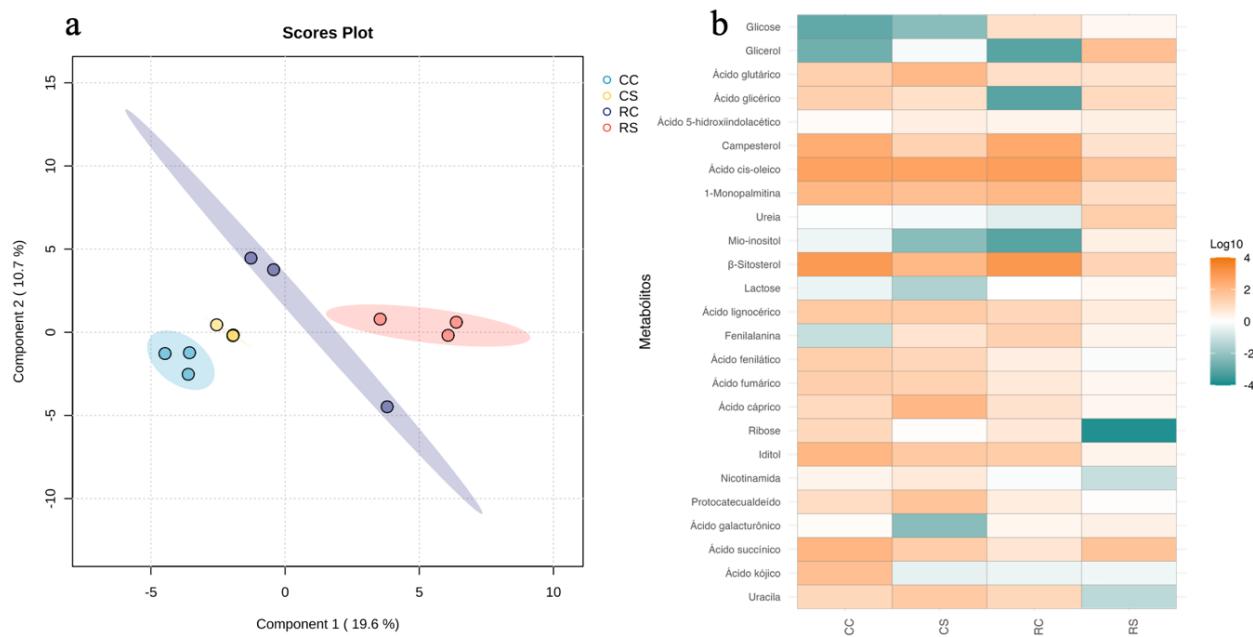
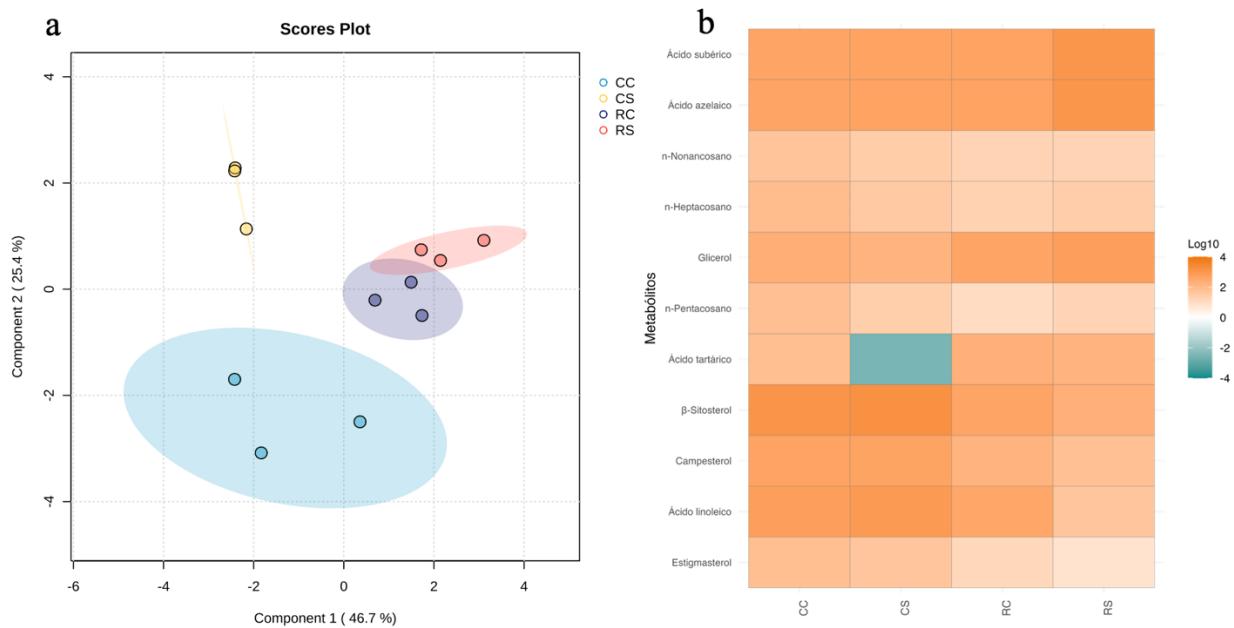


Figura 10.



Functional Ecology

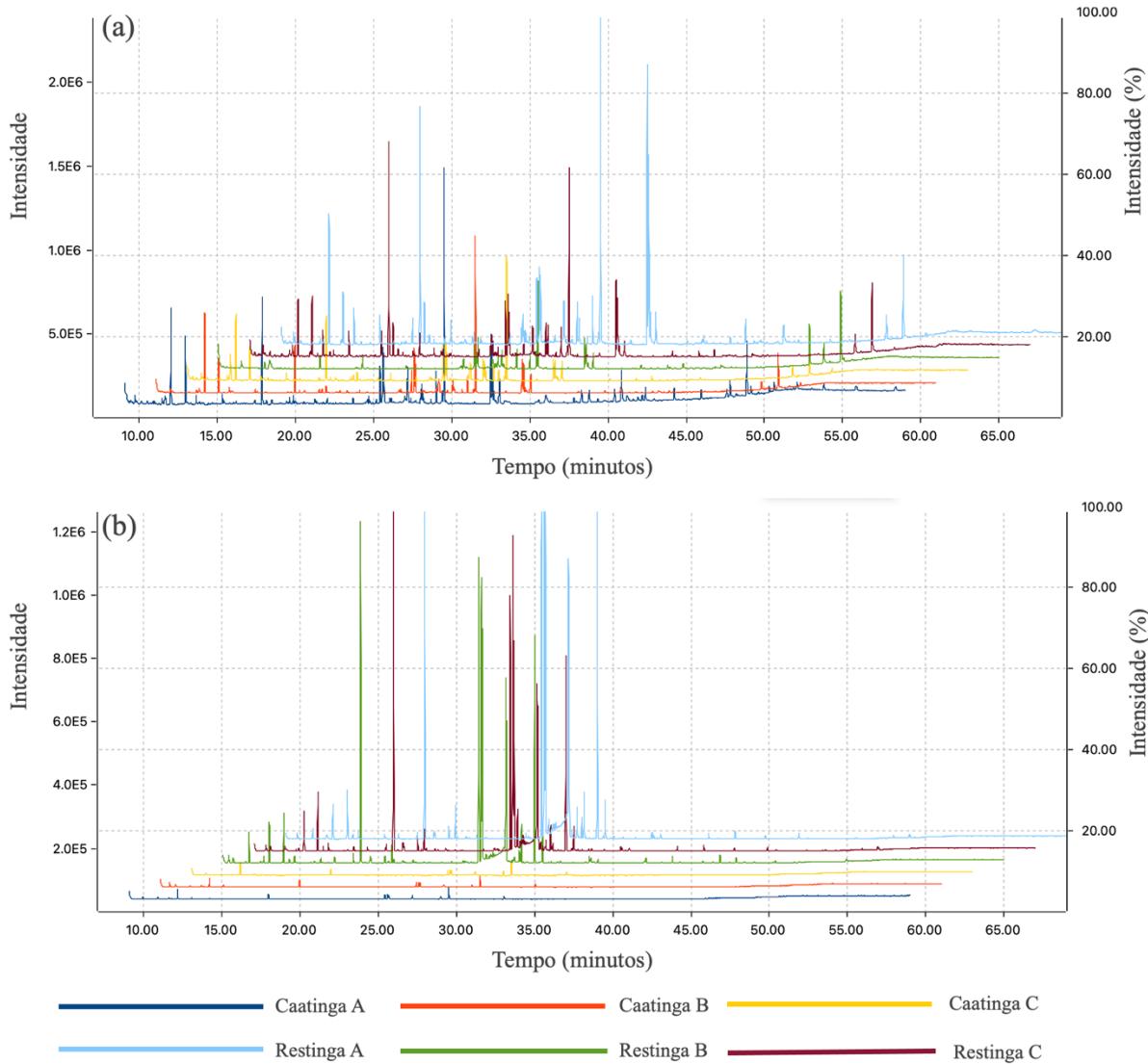
INFORMAÇÃO DE SUPORTE

O impacto da autoalelopatia da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionados por fatores ambientais

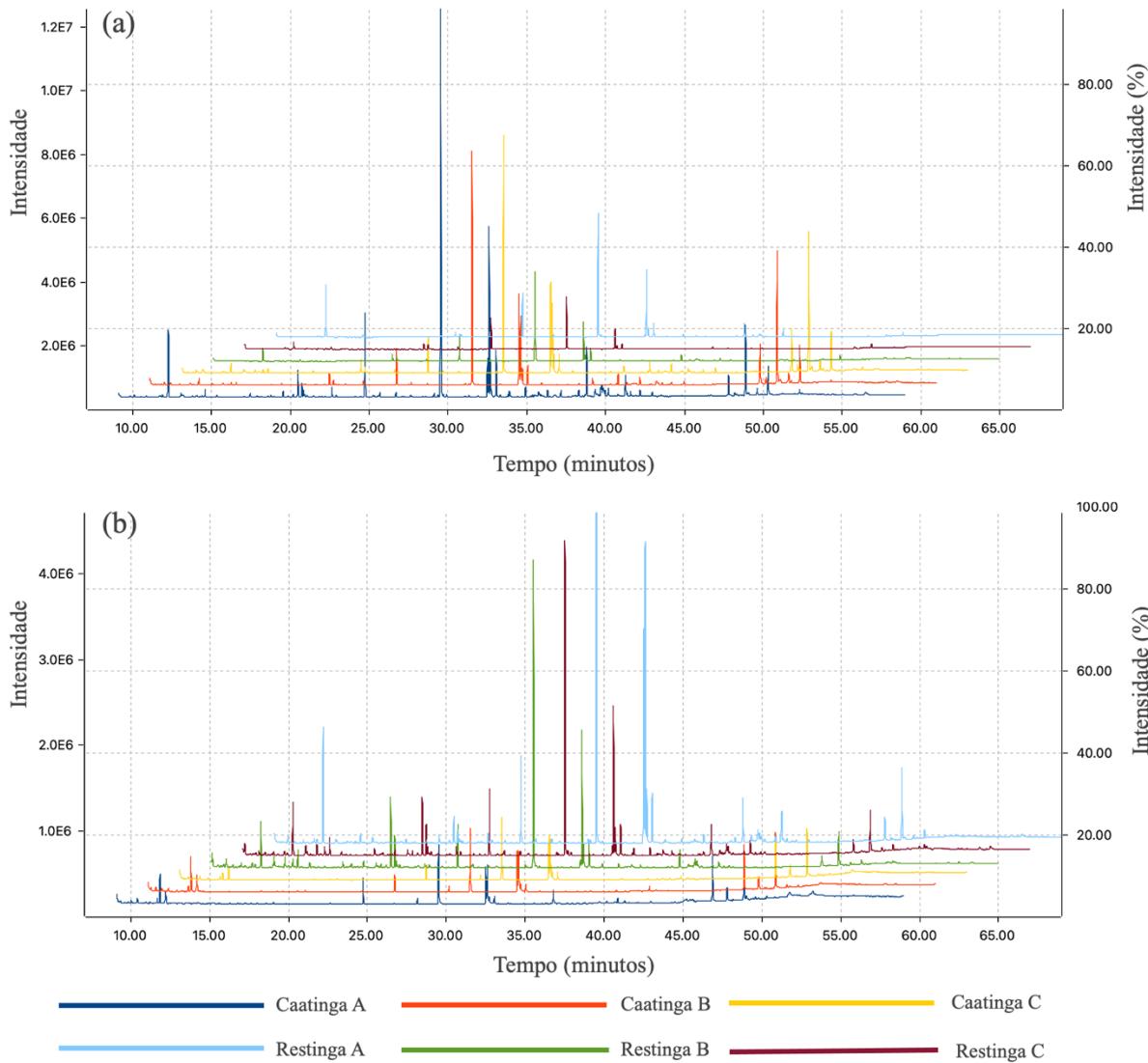
Bruno de Santana Santos, Ivan Hurtado Caceres, Cláudia Maria Furlan & Marcos Vinicius Meiado

Apêndice S1 Figuras Suplementares

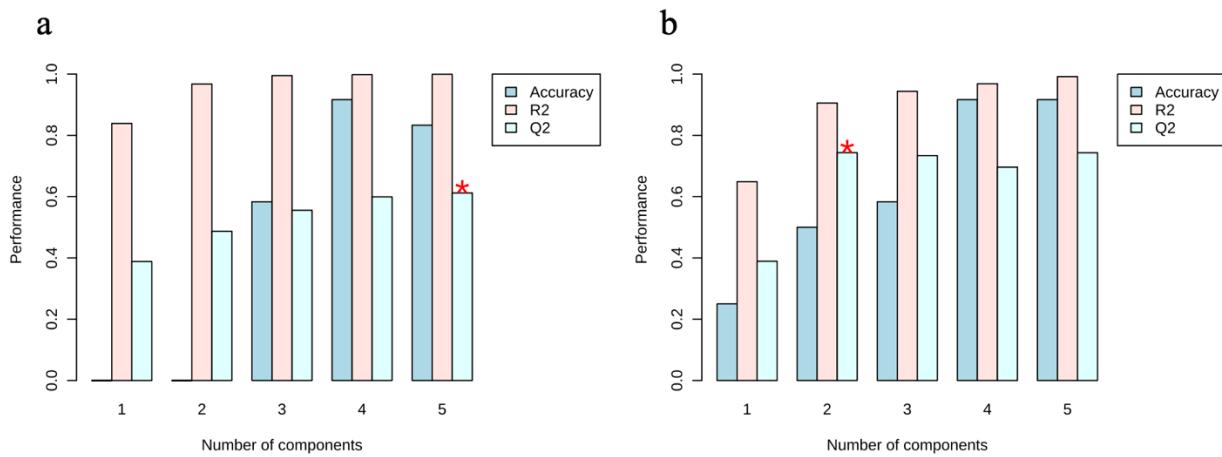
Apêndice S1, Figura S1. Cromatogramas gerados a partir de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas dos extratos produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) em Acetato de Etila (AcOEt) coletados durante a estação chuvosa (a) e seca (b) nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.



Apêndice S1, Figura S2. Cromatogramas gerados a partir de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas dos extratos produzidos a partir da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae) em Hexano (Hex) coletados durante a estação chuvosa (a) e seca (b) nas populações que ocorrem nos ecossistemas de Caatinga e Restinga.



Apêndice S1, Figura S2. Validações do modelo PLS-DA para a seleção de metabólitos com base nos escores de Importância da Variável na Projeção (VIP). (a) Gráfico de validação LOOCV para o extrato de Acetato de Etila (AcOEt) e (B) para o de Hexano (Hex)



Functional Ecology

INFORMAÇÃO DE SUPORTE

O impacto da autoalelopatia da polpa funicular dos frutos de um cacto colunar proporcionados por fatores ambientais

Bruno de Santana Santos, Ivan Hurtado Caceres, Cláudia Maria Furlan & Marcos Vinicius Meiado

Apêndice S2 Tabelas Suplementares

Apêndice S2, Tabela S1. Potencial osmótico (Ψ_s), expresso em MPa, calculado a partir da condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) de soluções preparadas com os extratos da polpa funicular dos frutos de *Pilosocereus catingicola* (Gürke) Byles & Rowley subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi (Cactaceae). As soluções foram diluídas em água destilada na concentração de $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e medidas a 25°C . Os extratos foram obtidos com Hexano (Hex), Acetato de Etila (AcOEt), Metanol (MeOH) e Água (H_2O) dos frutos que foram coletados durante as estações chuvosa e seca nas populações dos ecossistemas de Caatinga e Restinga.

População	Estação	Extrato	$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	MPa*
Caatinga	Chuvosa	H_2O	172,9	0,006
Caatinga	Chuvosa	MeOH	113,9	0,004
Caatinga	Chuvosa	AcEot	131,0	0,004
Caatinga	Chuvosa	Hex	25,1	0,000
Restinga	Chuvosa	H_2O	291,0	0,010
Restinga	Chuvosa	MeOH	145,7	0,005
Restinga	Chuvosa	AcEot	74,3	0,002
Restinga	Chuvosa	Hex	17,2	0,000
Caatinga	Seca	H_2O	318,0	0,011
Caatinga	Seca	MeOH	212,0	0,007
Caatinga	Seca	AcEot	212,0	0,007
Caatinga	Seca	Hex	57,8	0,002
Restinga	Seca	H_2O	337,0	0,012
Restinga	Seca	MeOH	236,0	0,008
Restinga	Seca	AcEot	201,0	0,007
Restinga	Seca	Hex	26,9	0,000

*Os dados em MPa foram calculados com base no trabalho de Villela et al. (1991).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresenta o primeiro registro de metabólitos identificados na polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, oferecendo contribuições relevantes para o entendimento do metabolismo dessa espécie. Os resultados obtidos elucidaram as adaptações ecofisiológicas da espécie aos diferentes ecossistemas em que ocorre, considerando as variações da sazonalidade. Durante a estação chuvosa, observou-se um ajuste significativo no metabolismo de carboidratos, com destaque para as vias de biossíntese de galactose, amido e sacarose, o ciclo do TCA e os açúcares amino e nucleotídeos. Além disso, ocorreram alterações marcantes no metabolismo de aminoácidos e glicerolipídeos, acompanhadas por mudanças significativas nas vias de biossíntese de cutina, suberina e ceras, bem como no metabolismo do ácido linoleico e dos ácidos graxos. Em contrapartida, durante a estação seca, houve uma redução no impacto dessas vias metabólicas, com maior predominância de compostos da fase não polar, especialmente monoacilgliceróis. Esses achados fornecem uma visão abrangente das respostas metabólicas dessa espécie às condições ambientais, destacando sua capacidade adaptativa e o papel das condições sazonais no direcionamento de seu metabolismo.

Nesse contexto, as extrações realizadas com diferentes solventes orgânicos revelaram variações significativas nas concentrações dos compostos entre as estações e as populações, demonstrando que a sazonalidade não apenas regula a síntese metabólica, mas também influencia a distribuição e a predominância dos metabólitos, ajustando-os às condições ambientais de cada período. Esse ajuste metabólico está diretamente relacionado ao efeito autoalelopático da polpa funicular dos frutos de *P. catingicola* subsp. *salvadorensis*, que é modulado tanto pela sazonalidade quanto pelo ecossistema de ocorrência das populações. Os extratos de menor polaridade, como Hex e AcOEt, destacaram-se como os principais agentes inibidores, alterando consistentemente os parâmetros germinativos e prejudicando o comportamento germinativo das sementes. Ademais, a intensidade desse efeito varia conforme a concentração dos extratos aplicados. As respostas negativas à germinação foram associadas à presença de metabólitos pertencentes às classes químicas das lactonas, esteroides e ácidos graxos, reforçando o papel dessas substâncias na regulação das interações ecológicas dessa espécie.