

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais -FCBA
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente - PPGBMA

**Composição química do óleo essencial das folhas de
Duguetia furfuracea A. St. Hill (Annonaceae) em função da
variação sazonal e caracterização morfoanatômica e
histoquímica**

Samantha de Lima Rhoden

Dourados -MS

2024

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – FCBA
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente - PPGBMA

Samantha de Lima Rhoden

Composição química do óleo essencial das folhas de *Duguetia furfuracea* A. St. Hill (Annonaceae) em função da variação sazonal e caracterização morfoanatômica e histoquímica

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E MEIO AMBIENTE.

Área de concentração: Conservação dos Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Anelise Samara Nazari
Formagio

Dourados - MS

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R476c Rhoden, Samantha De Lima

Composição química do óleo essencial das folhas de *Duguetia furfuracea* A. St. Hill (Annonaceae) em função da variação sazonal e caracterização morfoanatômica e histoquímica [recurso eletrônico] / Samantha De Lima Rhoden. -- 2024.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Anelise Samara Nazari Formagio.

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Meio Ambiente)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. araticum-miúdo. 2. óleo essencial. 3. morfoanatomia. 4. DPPH. I. Formagio, Anelise Samara Nazari. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**“COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Duguetia furfuracea* A. ST. HILL (ANNONACEAE) EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO SAZONAL
CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA”**

POR

SAMANTHA DE LIMA RHODEN

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE
DOURADOS (UFGD), COMO PARTE DOS REQUISITOS EXIGIDOS PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM BIODIVERSIDADE E MEIO AMBIENTE**

- ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: “CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS NATURAIS”.



Documento assinado digitalmente

ANELISE SAMARA NAZARI

Data: 11/04/2024 10:12:29-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**PROF.^a DR.^a ANELISE SAMARA NAZARI FORMAGIO
ORIENTADORA – UFGD**

**PROF. DR. JONAS DA SILVA
MOTA MEMBRO TITULAR –
UEMS**



Documento assinado digitalmente

ROSILDA MARA MUSSURY FRANCO SILVA

Data: 08/04/2024 17:50:42-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**PROF.^a DR.^a ROSILDA MARA MUSSURY FRANCO
SILVA MEMBRO TITULAR – UFGD**

**Aprovada em 18 de março de
2024.**

Resumo

Duguetia furfuracea A. St. Hill., Annonaceae é um subarbusto encontrado no cerrado, conhecido popularmente como ata-brava, araticum-seco, araticum e araticum-miúdo, usada na medicina popular para o tratamento de reumatismo e cólicas renais. Estudos químicos reportam a presença de compostos majoritários no óleo essencial obtidos das folhas como bicyclogermacreno, (E)-asarono, 2,4,5-trimetoxiestireno, α -gurjuneno, ciperenando. Na literatura mostra que fatores sazonais, como temperatura, umidade e horas de luz, podem influenciar a produção e a qualidade do óleo essencial. Na presente pesquisa, foi investigado o rendimento e variação da composição química do óleo essencial, morfoanatomia e histoquímica, das folhas e caule de *D. furfuracea*. A atividade antioxidante, análise de pluviosidade e análise química do solo. Foram realizadas coletas mensais (de maio 2022- abril 2023) no município de Dourados- MT. A extração do óleo essencial das doze amostras codificadas como (OEDF) foi realizada por hidrodestilação, seguida da análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). A caracterização morfoanatômica e histoquímica foliares e do caule foi realizada por meio da microscopia de luz, e microscopia eletrônica de varredura. A atividade antioxidante foi realizada pelo reagente de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Houve variação no rendimento do óleo essencial em todos os meses, com maior rendimento para julho (OEDF-JL 0,062%) e menor e de junho (OEDF-JU 0,008%). As análises de solo apresentaram alto teor de ferro e de hidrogênio, demonstrando que é um solo ácido e distroférico. O cromatograma obtido pela análise de CG/EM de todas as amostras. As análises apresentaram como compostos majoritários o β -elemeno (17,5% – 5,94%), germacreno B (13,48% – 5,19%) e β - pineno (31,06% – 1,08%). O Isogeijereno C (1,02%) apareceu apenas em OEDF-A, e δ -cadineno (1,33%) em OEDF-F. Além disso, todas as amostras de OEDF exibiram atividade antioxidante por inibição de radicais livres EODF-F IC₅₀ (2,50 mg/mL), EODF-M (2,67 mg/mL), EODF-JL (1,80 mg/mL), EODF-AG (2,59 mg/mL), EODF- S (2,66 mg/mL), EODF-D (2,41 mg/mL) em DPPH. Nossa análise foi apenas em seis amostras devido à similaridade entre os meses em relação aos compostos encontrados nos espécimes. Evidenciou-se atividade antioxidante em todas as seis amostras. A presença em maior quantidade de certos compostos, como sabineno, γ -terpineno, β -elemeno, β -pineno e Germacreno B, pode justificar essa ação antioxidante. Na análise morfoanatômica foi evidenciado na epiderme tricomas estrelados não glandulares e escamas, compostos fenólicos em ambos os parênquimas e células de óleo encontradas no colênquima e principalmente no parênquima paliçádico. Nos estudos histoquímicos observou-se a presença de óleo essencial nas células do colênquima e parênquima paliçádico. O estudo demonstrou que *D. furfuracea* possui óleo essencial com monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados predominantes, especialmente β -elemeno e germacreno B. A precipitação não afetou o rendimento do óleo. O óleo mostrou significativa atividade antioxidante, atribuída a componentes como sabineno, β -elemeno, germacreno B e γ -terpineno. Células de óleo essencial foram encontradas no parênquima paliçádico, com compostos fenólicos em ambos os parênquimas. Conclui-se que *D. furfuracea* é uma fonte promissora de óleo essencial, com variação sazonal na composição e conteúdo.

Palavra- chave: “araticum-miúdo”, óleo essencial, morfoanatomia, DPPH.

Abstract

Duguetia furfuracea A. St. Hill., Annonaceae is a subshrub found in the cerrado, popularly known as "ata-brava," "araticum-seco," "araticum," and "araticum-miúdo," used in folk medicine for the treatment of rheumatism and kidney colic. Chemical studies report the presence of major compounds in the essential oil obtained from the leaves, such as bicyclogermacrene, (E)-asarone, 2,4,5-trimethoxystyrene, α -gurjunene, and cyprenand. Seasonal factors like temperature, humidity, and hours of light may influence the production and quality of the essential oil. This study investigated the yield and variation in the chemical composition of the essential oil, morphoanatomy, histochemistry of the leaves and stem of *D. furfuracea*, as well as antioxidant activity, rainfall analysis, and soil chemical analysis. Monthly collections (from May 2022 to April 2023) were conducted in the municipality of Dourados-MT. Essential oil extraction from the twelve samples coded as (OEDF) was performed by hydrodistillation, followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis. Morphoanatomical and histochemical characterization of leaves and stems was done using light microscopy and scanning electron microscopy. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH reagent (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). There was variation in the essential oil yield in all months, with higher yield in July (OEDF-JL 0.062%) and lower in June (OEDF-JU 0.008%). Yield was not affected by annual precipitation rates. Soil analyses showed high iron and hydrogen content, indicating an acidic and dystroferric soil. GC/MS analysis of all samples showed β -elemene (17.5% - 5.94%), germacrene B (13.48% - 5.19%), and β -pinene (31.06% - 1.08%) as major compounds. Isogeijerene C (1.02%) appeared only in OEDF-A, and δ -cadinene (1.33%) in OEDF-F. Moreover, all OEDF samples exhibited antioxidant activity by free radical inhibition with IC₅₀ values of 2.50 mg/mL (EODF-F), 2.67 mg/mL (EODF-M), 1.80 mg/mL (EODF-JL), 2.59 mg/mL (EODF-AG), 2.66 mg/mL (EODF-S), and 2.41 mg/mL (EODF-D) in DPPH. Our analysis was conducted on six samples due to similarity between months regarding the compounds found in the specimens, demonstrating antioxidant activity in all six samples. The presence of certain compounds like sabinene, γ -terpinene, β -elemene, β -pinene, and germacrene B may justify this antioxidant action. Morphoanatomical analysis revealed non-glandular stellate trichomes and scales in the epidermis, phenolic compounds in both parenchymas, and oil cells found in the collenchyma and mainly in the palisade parenchyma. Histochemical studies showed the presence of essential oil in collenchyma cells and also in the palisade parenchyma. The study demonstrated that *D. furfuracea* has essential oil with predominant oxygenated monoterpenes and sesquiterpenes, especially β -elemene and germacrene B. Precipitation did not affect oil yield. The oil showed significant antioxidant activity attributed to components like sabinene, β -elemene, germacrene B, and γ -terpinene. Essential oil cells were found in the palisade parenchyma, with phenolic compounds in both parenchymas. It is concluded that *D. furfuracea* is a promising source of essential oil with seasonal variation in composition and content.

Keywords: "araticum-miúdo," essential oil, morphoanatomy, DPPH.

Lista de abreviaturas e siglas

CG/EM- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

D. furfuracea- *Duguetia furfuracea*

MEV- Microscopia eletrônica de varredura MS- Mato Grosso do Sul

OEDF- Óleo essencial *Duguetia furfuracea*

UEMS- Universidade do Estado do Mato Grosso do Sul

UFGD- Universidade Federal da Grande Dourados

Sumário

1. Introdução	06
2. Revisão de literatura	08
2.1 Família Annonaceae.....	08
2.2 Gênero <i>Duguetia</i>	08
2.3 <i>Duguetia furfuracea</i>	10
2.4 Óleo essencial.....	11
2.5 Sazonalidade.....	14
2.6 Análise morfoanatômica e histoquímica.....	16
3. Objetivos	16
3.1 Objetivo geral.....	16
3.2 Objetivos específicos.....	16
4. Referências	17
5. Artigo	21
6. Conclusão	39

1. Introdução

A região Centro-Oeste é considerada uma região de grande importância por abranger dois dos ecossistemas mais biodiversos do país, Cerrado e Pantanal, que correspondem a 24% do território nacional abrigando espécies de plantas, aves, peixes e outros seres bióticos e abiotóticos (IBGE, 2004). O Estado de Mato Grosso do Sul encontra-se numa região de contato entre macro-ecossistemas: Cerrado, Chaco, Mata Atlântica e Amazônia, resultando em uma diversidade biológica relativamente alta, e algumas regiões podem ser consideradas únicas no Brasil (Rizzini, 1979) O Estado também abriga algumas espécies endêmicas e, em número significativo, espécies listadas como ameaçadas no Brasil como mostrado na lista de espécies Flora do Brasil (2013).

Por outro lado, Mato Grosso do Sul apresenta regiões em que as atividades humanas levam a quase extinção de espécies (Primack, 2002). A região do Cerrado no Estado está sob forte pressão antrópica, notadamente devido à demanda por carvão vegetal para alimentar siderúrgicas em outros Estados e mesmo no Mato Grosso do Sul (Tetila, 2017), a agricultura avança tomando espaço de floresta nativa (Bustamante, 2012). Além disso, o avanço dos

projetos para a produção de biocombustíveis em várias regiões do Estado, embora seja uma oportunidade econômica, pode se transformar em ameaça à biodiversidade local. Frente a este conjunto de alterações, é urgente a necessidade de estudos do conhecimento de espécies vegetais especialmente do Cerrado Sul Mato-Grossense.

A família Annonaceae é uma das maiores entre as Angiospermas basais, com cerca de 135 gêneros e 2.500 espécies (Chatrou *et al.*, 2004). No Brasil, é representada por 26 gêneros, sendo sete endêmicos, com cerca de 260 espécies (Maas *et al.*, 2001). Caracterizam-se por apresentarem folhas simples, dispostas alternadamente em um mesmo plano, ao longo dos ramos. O 'Araticum-do-cerrado' é designado a diferentes espécies encontradas nos Cerrados da região central do Brasil. Dentre as espécies presentes no Cerrado do Mato Grosso do Sul, *Duguetia furfuracea* conhecida como araticum-seco, araticum, ata-brava e/ou pinha-brava (Lopes *et al.*, 2014), invasora de pastagens, é utilizada na medicina popular (infusões de folhas, caule e raiz) como antirreumático e também para tratamento de cólicas renais e dores nas costas (Coelho *et al.*, 2011). É uma espécie rica em óleo essencial (folhas), com predominância de sesquiterpenos (Valter, 2008).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários produzidos em período de estresse, voláteis e contribuem com aromas das plantas, desempenham um papel notável em sua sobrevivência e interações com o ambiente, podem servir como antifúngicos, antibióticos ou produzindo sabores impalatáveis, assim, inibindo a ação de alguns predadores, ou produzindo essência para atrair polinizadores (Raven, *et al.*, 2014). São geralmente compostos por terpenos, incluindo monoterpenos e sesquiterpenos, bem como fenilpropanóides, e suas diversas aplicações abrangem desde a aromaterapia até a produção de medicamentos e fragrâncias (Solórzano-Santos; Mirandanoval, 2012).

As condições ambientais exercem impacto significativo na produção e acúmulo de óleos essenciais, fazendo com que indivíduos de uma mesma espécie apresentem diferenças químicas a depender das condições do local que ocupam (Da Silva *et al.*, 2015). Os fatores capazes de influenciar neste aspecto podem ser abióticos, como temperatura, disponibilidade hídrica, tempo de exposição a luz, intensidade dos raios UV, altitude, latitude, quantidade de dióxido de carbono na atmosfera, e macro e micronutrientes do solo, assim como fatores bióticos, como interação planta/microrganismo, planta/insetos, planta/planta, idade, ciclo (De Moraes, 2009).

O nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo o estudo do potencial químico e biológico de plantas presentes no Cerrado na região de Dourados-MS, como evidenciado por

Marangoni (2021) estudou as folhas em seis estados brasileiros; Itaparica- BA, São Mateus- ES, Maringa-PR, Santa Maria- RS, Olímpia- SP e Dourados- MS os compostos α -pineno (19,45-11,66%) e o limoneno (22,34-8,52%) como constituintes principais. Nos estudos de Santos (2020) destacou na espécie *Allophylus edulis* coletadas em Dourados- MS (OEAE-D) óxido de cariofileno (29.5%) como composto predominante e Bonito- MS (OEAE-B) o azingibereno (45.0%) como predominante.

Assim, este trabalho teve como objetivo caracterizar a variação química do óleo essencial de *D. furfuracea* das partes aéreas vegetativas.

2. Revisão de literatura

2.1 Família Annonaceae

Annonaceae é constituída por espécies de árvores, subarbustos e arbustos, cultivadas por terem frutos comestíveis, e também como plantas ornamentais (Judd *et al.*, 1999). É distribuída de forma pantropical abrangendo a América do Sul e América Central, também Ásia e África, e os indivíduos são de plantas lenhosas com porte arbustivo e arbóreo (Heusden, 1992).

No Brasil há diversos gêneros e espécies, demonstrando assim que há a necessidade de preservação ambiental, destacando a região do bioma da Amazônia, que está com a maior parte da diversidade de Annonaceae, contando com 27 gêneros e 280 espécies. No bioma Mata Atlântica, existe a outra parte da grande diversidade, reforçando assim, que há a necessidade do equilíbrio ecológico, pois abrange 15 gêneros e 91 espécies (Mass *et al.*, 2013).

O 'Araticum-do-cerrado' é designado a diferentes espécies encontradas nos Cerrados da região central do Brasil, enquanto 'marolo' é o termo usado em toda a região sul de Minas Gerais, onde são nativos e espontâneos nos enclaves de campos de cerrados existentes na região.

É de apreciável importância econômica como fonte de frutos comestíveis, e espécies não nativas, como a fruta do conde ou pinha (*Annona squamosa* L.), graviola (*A. muricata* L.), fruta da condessa (*A. reticulata* L.) e a cherimóia (*A. cherimola* Mill.) são amplamente cultivadas e comercializadas, inclusive no Brasil (Lorenzi; Matos, 2002).

2.2 Gênero *Duguetia*

Duguetia foi intitulado por Saint Hilaire em honra ao abade Jacob Joseph Duguet (Záchia, 1994). São descritas na literatura óleos essenciais e extratos por apresentarem atividade biológica e compostos químicos de grande importância (**Tabela 1**).

Tabela 1. Espécies de *Duguetia* com ação farmacológica e composição química.

Espécie	Nome Popular	Uso/ação	Componente químico	Referência
<i>D. lanceolata</i> St. Hil.	Pindaúva	Fungicida, inseticida;	β -bisabolene, 2-4-5trimetoxiestireno;	Ribeiro, <i>et al.</i> , 2020.
<i>D. glabriuscula</i> R.E. FR.	-	Atividade antimicrobiana;	2,4,5-trimetoxi-benzaldeído	Siqueira, <i>et al.</i> , 2001.
<i>D. gardneriana</i> Mart.	Araticum	-	5-alil-1,2,3-trimetoxibenzeno	Rodrigues, <i>et al.</i> , 2015.
<i>D. trunciflora</i> Maas	-	-	α -pineno, biciclogermacreno	Maia, <i>et al.</i> , 2006a
<i>D. riparia</i> Huber	Araticum-da-mata, envira;	ação antioxidante, e seu extrato possível	espatulenol, óxido decariofileno.	Maia, <i>et al.</i> , 2006b

inibição frente
às cepas de
Leishmania

No Brasil, *Duguetia* já foram encontradas por volta de 66 espécies, estando com grande ocorrência em região amazônica (Nardelli *et al.*, 2021); e Mata Atlântica, dessas 29 espécies são endêmicas, também tendo sua distribuição ao norte do Paraguai e na costa oeste da África (Maas, *et al.*, 2003). Há também espécies na Bolívia, Nicarágua, Trindade (Roosmalen, 2003).

2.3 *Duguetia furfuracea*

Duguetia furfuracea (A. St.-Hil.) Benth. & Hook. f. (**Figura 1**) popularmente conhecida como “araticum-miúdo”, “ata-brava”, “araticum-seco”, é um arbusto que possui uma distribuição por todo o estado de Mato Grosso do Sul (Silva *et al.*, 2007).



Figura 1. Partes aéreas, flor e fruto no local de coleta de *D. furfuracea*

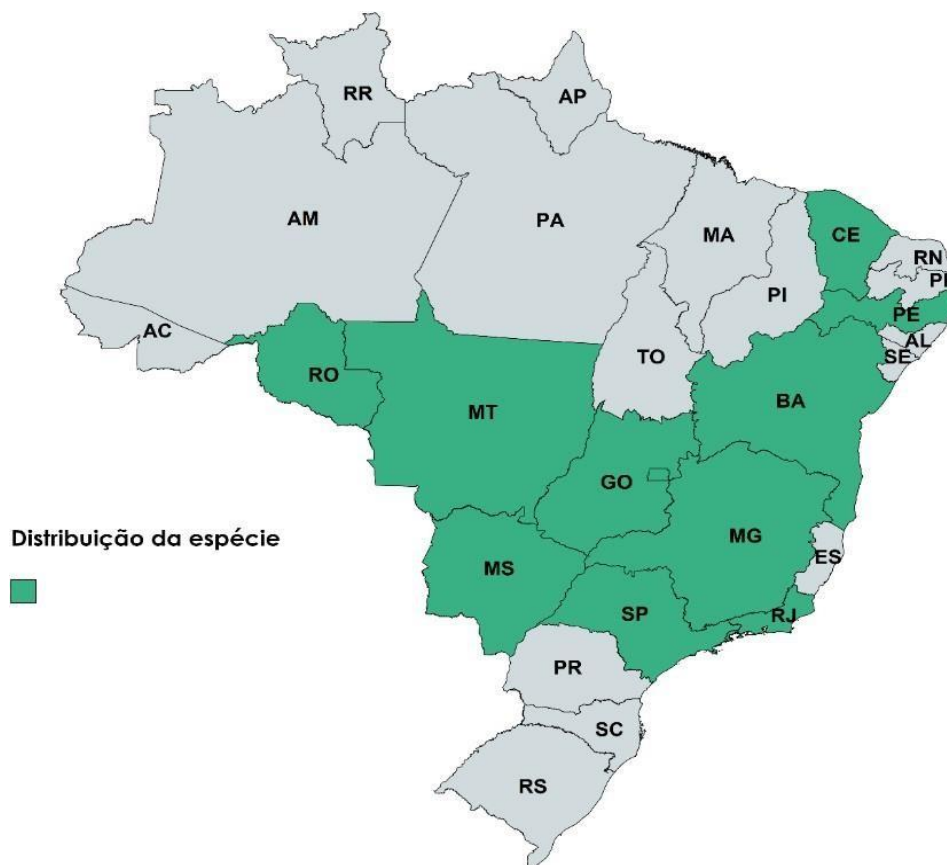


Figura 2. Estados de ocorrência de *D. furfuracea*

A flor de *D. furfuracea* é solitária, carnosa, dicogâmica em pedúnculos opostos às folhas, sendo as folhas alternas, simples, sem estípulas com margem inteira, com 10 cm de comprimento em 3 cm de largura, seu fruto é sincarpo, globoso estrobiliforme (Gottsberger, 1994; Durigan *et al.*, 2004). A planta pode chegar a 1,5m de altura, com raízes profundas em regiões típicas de cerrado. Outra característica da espécie é que floresce ao longo do ano sem que haja a sincronização com outros indivíduos da população, mesmo que estejam cultivadas no mesmo local (Morawetz, 1984). Folhas de *D. furfuracea* são utilizadas para o tratamento de reumatismo (Rodrigues; Carvalho, 2001), e as sementes para pediculose (Silva *et al.*, 2009).

Estudos fitoquímicos das partes aéreas (folhas e galhos) e da casca do caule indica a presença de alcalóides (aporfina e oxoaporfina) (Silva *et al.*, 2007; Da Silva *et al.*, 2009; Carollo *et al.*, 2006a, 2006b; Pinho *et al.*, 2014), flavonóides glicosilados (Santos; Salatino, 2000; Pinho *et al.*, 2014, 2016; Carollo, 2006). Carollo e colaboradores (2005) reportaram o isolamento e identificação de seis sequiterpenos presente no óleo essencial obtido das folhas frescas, coletadas em Campo Grande, Mato Grosso do Sul (MS), sendo o isshwarano, α - santaleno, biciclogermacreno, espatulenol, β - óxido de cariofileno e α -santalen-11-ona, os compostos majoritários.

Valter *et al.* (2008), devido à discrepância no odor entre dois grupos de indivíduos desta planta em um remanescente de cerrado em Campo Grande-MS, selecionaram seis amostras com base na intensidade do odor em suas folhas.: In-01, In-03 e In-05: odor pronunciado (Perfil A); In-02, In-04 e In-06: odor fraco ou ausência de odor (Perfil B). Como resultado, apresentaram uma alta porcentagem de monoterpenos e alguns sesquiterpenos: In-01 (E-felandreno, 42,2%; mircenol, 6,8%; D-felandreno, 4,6%); In-03 (terpinol, 21,6%; sabineno, 17,3%; p-cimeno, 5,6%); In-05 (sabineno, 25,1%; terpinol, 16,2%; p-cimeno, 8,3%). Apenas sesquiterpenos foram encontrados nos espécimes que apresentaram odor fraco ou ausência do mesmo (com constituinte majoritário biciclogermacreno: 21,4%, 24,0%, e 29,1%, respectivamente, para os In-02, In-04 e In-06).

2.4 Óleo essencial

Óleo essencial, óleo volátil, óleos etéreos ou essências, pode ser obtido através de hidrodestilação por arraste com vapor d'água, segundo a ISO (International Standard Organization). De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Essas denominações derivam de algumas características físico-químicas, como serem líquidos de aparência oleosa a temperatura ambiente, volatilidade que difere dos óleos fixos (misturas de substâncias lipídicas) e solubilidade em solventes orgânicos apolares, como éter. Em água, sua solubilidade é limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são chamadas de hidrolatos. Não apresentam boa estabilidade, principalmente na presença de luz, calor e umidade (Simões, 2003; Taiz; Zeiger, 2009a).

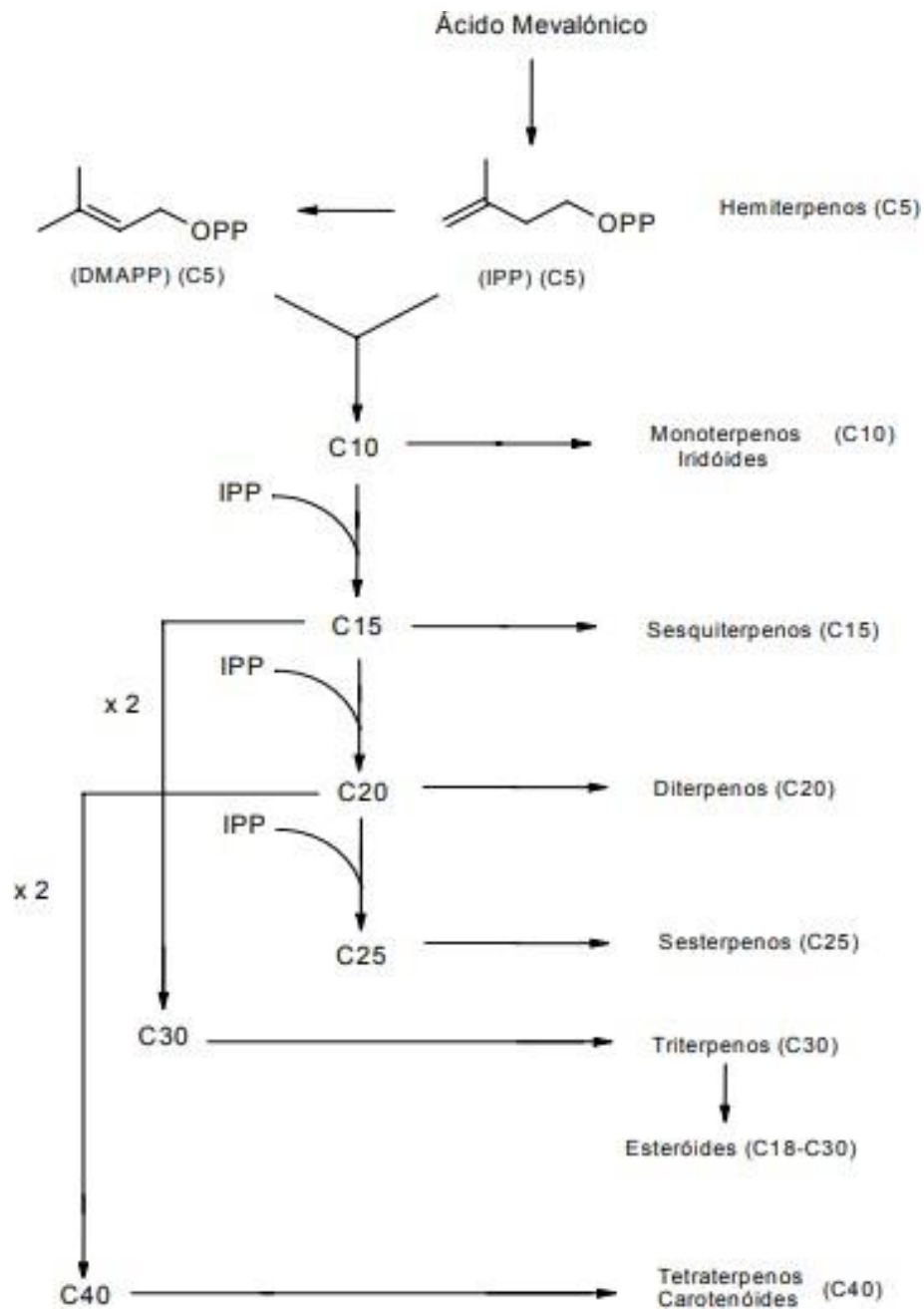
Os óleos essenciais podem estar presentes em diversas partes da planta, sendo os galhos, cascas, folhas, flores ou raízes. São usados pelas indústrias em segmentos diversificados, ramo alimentício que pode ser utilizado como aromatizante ou algumas com potencial de controle de patógenos (Bajapai *et al.*, 2012). Pode ser utilizado também na indústria farmacêutica, cosmética e perfumaria por seus aromas (Bizzo, *et al.*, 2009), na aromaterapia, por seus aromas, óleos essenciais ao serem inalados, podem causar bem estar e também uma calma ajudando na saúde mental e melhora do humor no indivíduo que fizer o uso (Rose, 1995).

Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoois simples e terpênicos, entre outros, ocorrendo em diferentes concentrações.

Os compostos terpênicos consistem em unidades de carbono chamadas unidades isoprênicas, cada uma contendo 5 átomos de carbono, e baseado na quantidade dessas unidades, os terpenos podem ser classificados. A título de ilustração, os monoterpenos são compostos por duas unidades isoprênicas, somando 10 átomos de carbono. Os sesquiterpenos, são compostos por três unidades isoprênicas, somando 15 carbonos, e assim por diante. Tal classificação é determinada por estas unidades presentes na estrutura dos terpenos (Taiz; Zeiger, 2009b).

A via do mevalonato é uma rota bioquímica que descreve a formação dos terpenos nas células (**Figura 3**). Essa via ocorre no citoplasma e no retículo endoplasmático das células eucarióticas. A síntese dos terpenos pela via do mevalonato começa com a molécula de acetil-CoA, que é convertida em 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por meio de reações enzimáticas. Em seguida, o HMG-CoA é convertido em mevalonato, que é a etapa chave da via (Dudareva, *et al.*, 2006). O mevalonato é então transformado em isopentenil pirofosfato (IPP) por uma série de reações enzimáticas. O IPP é uma unidade fundamental para a síntese de terpenos, e várias cópias de IPP são combinadas para formar diferentes tamanhos de terpenos. A partir do IPP, as enzimas da via do mevalonato catalisam a condensação e rearranjo de unidades de IPP para formar terpenos de diferentes tamanhos, como monoterpenos, sesquiterpenos e assim por diante. Cada classe de terpeno é formada pela combinação específica de unidades de IPP (Dewick, 1997).

Figura 3. Proposta para a síntese dos terpenos pela via do mevalonato



Fonte: Dewick (1997).

2.5 Sazonalidade

Diante das características apresentadas do óleo essencial, diferenças sazonais podem interferir na sua produção. No período do verão quando as temperaturas estão altas, as primeiras horas do dia colaboram para que não se volatilize óleos essenciais das folhas (Brant *et al.*, 2008).

O horário de coleta do óleo essencial torna-se importante, pois, durante o dia ocorrem oscilações climáticas como temperatura, luminosidade, radiação ultravioleta, umidade, dentre

outros (Brant *et al.*, 2009). O período do ano pode interferir na intercorrência de presença de alguns químicos das plantas, pois se houver muita chuva ou muito sol em determinados dias podem acumular compostos como resposta à variação climática (Verma *et al.*, 2010).

A composição química e a quantidade podem variar, pois, há fatores que influenciam, desde o método de coleta, formas de estocagem, ambiente onde a planta está inserida, (pois pode haver competição com outras plantas), herbivoria, microrganismos patógenos, e se o ambiente tem atividade antrópica, além do climático, pois a falta ou água em abundância podem afetar o rendimento dos óleos essenciais.

Esta variação no teor e composição química pode ser influenciado pelo local de incidência da planta, reforça que há a necessidade de amenizar a atividade humana em regiões de biomas afetados, visando a preservação do meio ambiente quanto o uso seguro de plantas, com a intenção de uso fitoterápico pelas comunidades (Gobbo-Neto *et al.*, 2007).

2.6 Análise morfoanatômica e histoquímica

A análise morfoanatômica em plantas medicinais tem uma função importante além da identificação da espécie, também tem o papel de entender a disposição anatômica e identificar as estruturas envolvidas na produção de óleo essencial, pois, as mesmas podem conter componentes químicos de relevância, para a produção de fármacos (Oliveira *et al.*, 2005). Então, a partir dessa análise é possível que não haja uma identificação errônea e assim, não tenha nenhuma intoxicação por falsa identificação de espécie, uma vez que muitas plantas medicinais são usadas como remédio em algumas populações (Verdam; Da Silva, 2010).

A análise de morfoanatomia de *D. leucotricha* o autor mostrou galhos e pecíolos totalmente cobertos de tricomas estrelados, folhas cartáceas, lisa, opaca, pouco brilhante ambas superfícies, sendo verde escuro a marrom adaxial e verde claro abaxial e glabra, veia primária em cima e secundária curvadas em cada lado. Brácteas, sépalas, pétalas e ovários cobertos por tricomas estrelados branco acinzentado. (Bazante, 2023), a *D. cadaverica* possui as pétalas externas ovais com 2-2,5 cm de comprimento e 0,5-1 cm de largura com a cor carmesim, as pétalas internas possuem a mesma cor carmesim, porém, diferenciada da parte central branca, são 6 pontas com abertura estreita em forma de estrela que faz a condução à câmara de polinização. Os últimos 3 ou 4 carpelos centrais formados parecem estéreis (Teichert, 2012).

Segundo Küchmeister (1998), *D. flagellaris* o autor apresenta flores de coloração vinho, enquanto *Duguetia ulei* exibe flores em tons creme-amarelados. Este estudo identificou a presença de papilas, sendo que, na *D. flagellaris*, estas são puramente ornamentais e não

apresentam diferenciação interna. Análises histoquímicas revelaram que os tecidos nutritivos da espécie *D. ulei* contêm uma considerável quantidade de amido, mas poucos lipídios. Os botões florais apresentam características distintas, sendo esferoidais em *D. riparia*, com pétalas valvares ou imbricadas, enquanto em *D. ulei*, os botões florais são alongados, e as pétalas variam em tamanho, têm uma forma que se assemelha à de um sino ou campanula.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

- Caracterizar a variação química do óleo essencial de *Duguetia furfuracea* em relação a sazonalidade e morfoanatomia e histoquímica das partes aéreas vegetativas.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar e quantificar por CG/EM os principais componentes presentes nos óleos essenciais das folhas *D. furfuracea* mensalmente por 12 meses;
- Caracterizar a morfoanatomia e histoquímica de partes aéreas vegetativa por microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e reagente químicos;
- Avaliar a atividade antioxidante pelo reagente de DPPH.

4. Referências

- BAJPAI, V. K.; BAEK, K. H.; KANG, S. C. Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v. 45, p.722-734, 2012.
- BAZANTE, M. L., MAAS, P. J., & BARBOSA, M. R. D. V. *Duguetia leucotricha* (Annonaceae), a new species from the Atlantic Coastal Forest of Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 37, 2023.
- BRANT R.S; PINTO J.E.B.P.; BERTOLUCCI S.K.V.; ALBUQUERQUE CJB. Teor do óleo essencial de cidrão (*Aloysia triphylla* (L' Hérít) Britton Verbenaceae) em função da variação sazonal. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, 2008.
- BRANT R.S; PINTO J.E.B.P; BERTOLUCCI S.K.V; SILVA A; ALBUQUERQUE, C.J.B. Teores do óleo essencial de cidrão (*Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton Verbenaceae) em diferentes horários de lcolheita e processamentos póscolheita. **Ciência Agrotecnologia**, 2009.
- BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectosgerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, São Paulo, v.32, n.3, p.588-594, 2009.
- BUSTAMANTE, M. M, C.; NARDOTO, G. B.; PINTO, A. S.; RESENDE, J.C.F.; Takahashi, F.S.C.; VIEIRA, L. C. G. Potential impacts of climate change on biogeochemical functioning of Cerrado ecosystems. **Braz. J. Biol.** v. 72, n. 3, p. 655-671, 2012.
- CAROLLO, C.A.; HELLMAN, A.R.; De SIQUEIRA, J. M. Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and ecology**. p.647-649, 2005.
- CAROLLO, C.A.; HELLMAN, A.R.; De SIQUEIRA, J. M.; ALBUQUERQUE, S. Alkaloids and flavonoid from aerial parts (leaves and twigs) of *Duguetia furfuracea*- A nnonaceae. **J. Chil. Chem. Soc.**, 2006.
- CHATROU, L.W.; RAINER, H.; MAAS, P.J.M. Annonaceae. In: SMITH, N.; MORI, S.A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D.W.; HEALD, S.V (Ed.). **Flowering plants of the neotropics**. New York: Princeton University Press. p.18- 20, 2004.
- COELHO, L. S.; FELÍCIO, L.P.; MIRANDA, C.T.; DA SILVA, E.M.; VALE, C.R.; LIMA, D.C.S.; DUARTE, S.R.; FERREIRA, H.D.; CHEN CHEN, L.; CARVALHO, S. Modulatory effects of *Duguetia furfuracea* (A. St. Hil) Benth. and Hook. f. in *Drosophila melanogaster* somatic and germinative cells. **Genetics and Molecular Research**, 2011.
- DA SILVA, D. B.; TULLI, E.C.O.; MILITÃO G.C.G.; COSTA- LOTUFO PESSOA, L.V.; DE MORAES C.; M.O.; ALBUQUERQUE S.; DE SIQUEIRA J.M. The antitumoral, trypanocidal and antileishmanial activities of extract and alkaloids isolated from *Duguetia furfuracea*. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 1059-1063, 2009.
- DA SILVA, L. E.; DE QUADROS, D. A.; NETO, A. J. M. Estudo etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais utilizadas na região de Matinhos-PR. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 266-276, 2015.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. S4050-63, Brasília-DF, 2009.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. WestSussex: John Wiley & Sons Ltd, 1997.

DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D. A.; ORLOVA, I.; Crit. **Rev. Plant Sci.** v.25, n.417. 2006.

DURIGAN, G.; BAITELLO, J. B.; FRANCO, G. A. D. C.; SIQUEIRA, M. F. **Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada**. São Paulo: Páginas e Letras Editora e Gráfica, 2004.

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

GOTTSBERGER, G. As anonáceas do cerrado e a sua polinização. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 54, n. 3, p. 391-402, 1994.

HEUSDEN, E. C. H. **Flowers of Annonaceae: morphology, classification and evolution**. **Blumea Netherland**, v. 7, p.1-218, 1992.

IBGE – **Instituto Brasileiro de geografia e estatística**. Mapa de Biomas do Brasil, 2004.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C. S.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J.; **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**. Massachusetts, Sinauer Associates, 1999.

KÜCHMEISTER, H., WEBBER, A. C., SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I., GOTTSBERGER, G. A polinização e sua relação com a termogênese em espécies de Arecaceae e Annonaceae da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 28, p. 217-217, 1998.

LOPES, J. C.; MELLO-SILVA, R. Diversidade e caracterização das Annonaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 125-131, 2014.

MAAS, P.J.M.; RAINER, H.; LOBÃO, A.Q. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

MAAS, P.J.M.; WESTRA, L.Y. T.; CHATROU, L.W. *Duguetia*. **Flora Neotropica Monograph**, New York, v. 88, p. 1-274, 2003.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; CARREIRA, L. M. M.; OLIVEIRA, J. Essential Oil Composition from *Duguetia* Species (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 1, p. 60-63, 2006.

MARANGONI, A. J. Variação da composição química de óleo essencial das folhas de *Schinus terebinthifolia* Raddi em diferentes estados brasileiros. **Dissertação de Mestrado em Biodiversidade e Meio Ambiente**. Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, p. 77, 2021.

MARTINELLI G & MORAES M.A. **Livro vermelho da flora do Brasil (2013)**. Andrea Jakobsson, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. p.282-700, 2013.

MORAWETZ, Wilfried. **Karyological races and ecology of the Brazilian *Duguetia furfuracea* as compared with *Xylopia aromatica* (Annonaceae)**. Flora, v. 175, n. 3, 1984.

NARDELLI, V. B.; SOUZA, C. A. S. DE.; CHAAR, J. S.; KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A. **Isoquinoline-derived alkaloids and on eterpenelact one from the leaves of *Duguetia pycnastera* (Annonaceae)**, 2021.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia**. 1 ed. Ribeirão Preto: Atheneu. p.412, 2005.

PRIMACK, R.B. **Essentials of Conservation Biology**. Sinauer, Sunderland, 2002.

PINHO, V. S. A.; Da SILVA, G. F.; MACEDO, G. E.; MULLER, K. R.; MARTINS, I. K.; TERNES, A.P.L.; Da COSTA, J. G. M.; ATHAYDE, M.L.; BOLIGON, A.A.; KAMDEM, J.P.; FRANCO, J.L.; De MENEZES, I.R.A.; POSSER, T. Phytochemical constituents and toxicity of *Duguetia furfuracea* hydroalcoholic extract in *Drosophila melanogaster*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**, 8ª ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan S.A, 2014. p.93.

RODRIGUES, A. C. B. C.; BOMFIM, L. M.; NEVES, S. P., A., M. L. R.; DIAS, R. B.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P. Antitumor properties of the essential oil from the leaves of *Duguetia gardneriana*. **Planta Med.**, v.81, p.798-803, 2015.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. de. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.

ROOSMALEN, M. G. M. Dispersal In: MAAS, P. J. M.; WESTRA, L. Y. T. H.; CHATROU, L.W. *Duguetia* (Annonaceae). New York: **Botanical Garden**. p.53-54. (Flora Neotropica Monograph, 88), 2003.

ROSE J. **O livro da Aromaterapia: aplicações e inalações**. Rio de Janeiro: Campus, 1995.

RIBEIRO, L. P.; DOMINGUES, V. C.; GONÇALVES, G. L. P.; FERNANDES, J. B.; GLÓRIA, E. M.; VENDRAMIM, J. D. Essential oil from *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae): Suppression of spoilers of stored-grain. **Food Bioscience**, v. 36, 2020.

RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**. Aspectos ecológicos. Hucitec/Edusp, São Paulo, v.2, p.327, 1979.

DOS SANTOS, S. M.; DO NASCIMENTO. K. F.; PEREIRA Z. V.; BAZANELLA, J. D.; OLIVEIRA JUNIOR, P. C.; MARANGONI, J. A.; VIEIRA, M. C.; SILVA, R. M. M. F.; FORMAGIO, A. S. N. The Ethnopharmacological Literature: An Analysis of the Scientific Landscape in the Cerrado in Central-Western Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 11, 2020.

SILVA, D. B.; TULLI, E. C. O.; GARCEZ, W. S.; NASCIMENTO, E. A.; SIQUEIRA, J. M. Chemical Constituents of the Underground Stem Bark of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 8, 1560-1565. Campo Grande -MS, 2007.

SILVA, M.S.D., TAVARES, J.F., QUEIROGA, K.F., AGRA, M.D.F., BARBOSA FILHO, J.M., ALMEIDA, J.R.G.D.S., SILVA S.A.S.D. **Alcaloides e outros constituintes de *Xylopia langsdorffiana*** (Annonaceae), 2009.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J.P.C.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC. p.1102, 2004.

SIQUEIRA, J.M.; ZIMINIANI, M.G.; RESENDE, U.M.; BOAVENTURA, M.A.D. Estudo Fitoquímico das cascas do caule de *Duguetia glabriúscula* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 24, n.2, p. 185-187, 2001.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136- 141, 2012.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Artmed, v. 4, 2009.

TEICHERT, H., DÖTTERL, S., FRAME, D., KIREJTSHUK, A., & GOTTSBERGER, G. A novel pollination mode, saprocantharophily, in *Duguetia cadaverica* (Annonaceae): a stinkhorn (Phallales) flower mimic. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 7, p. 522-529, 2012.

TETILA, J. L. **Meio ambiente: Mato Grosso do Sul em foco**. Saarbrücken, Alemanha: Novas Edições Acadêmicas, 2017.

VALTER, J. L.; ALENCAR, K. M. C.; SARTORI, A. L. B.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R.; DE MORAIS, S. A. L.; LAURA, V. A.; YOSHIDA, N.C.; CAROLLO, C.A.; DA SILVA, D. B.; GRASSI, R. F.; FABRI, J. R.; DE SIQUEIRA, J. M. Variação química no óleo essencial das folhas de seis indivíduos de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae) **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 18, n. 3, p.373-378, 2008.

VERDAM, M.C.S.; DA SILVA, C.B. O estudo de plantas medicinais e a correta identificação botânica. **Visão acadêmica**, v.11, n.1, p.7-13, 2010.

VERMA, R.; VERMA, R.; CHAUHAN, A.; YADAV, A. K. Changes in the essential oil composition of *Majorana hortensis* Moench. cultivated in India during plant ontogeny. **Journal of Serbian Chemical Society**. p. 441-447, 2010.

ZÁCHIA, R.A. **Estudos taxonômicos na família Annonaceae Juss**: No Rio Grande do Sul, Brasil. p.367. Porto Alegre, 1994.

Artigo

***Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Benth. & Hook. f.: Microscopy and seasonal variation in chemical composition of essential oil extracted of the leaves and stems**

Samantha de Lima Rhoden^a, Janaine Alberto Marangoni Faoro^b, Pedro Cruz de Oliveira Junior^a, Claudia Andrea Lima Cardoso^c, Rosilda Mara Mussury Franco Silva^a, Camila Dias Machado^d, Jane Manfron^d, Maiara Fava de Souza^b, Meiryelli de Oliveira Guilherme^a, Jéssica Maurino dos Santos^b, Anelise Samara Nazari Formagio^{a,b*}.

^a*Faculty of Biological and Environmental Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil.*

^b*Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados - UFGD, Dourados, Mato Grosso do Sul State, Brazil*

^c*State University of Mato Grosso do Sul, University City of Dourados, UEMS, MS, Brazil. Faculty of Biological and Environmental Sciences, Federal University of Grande Dourados UFGD, MS, Brazil.*

^d*Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, State University of Ponta Grossa, Paraná, Brazil.*

*Correspondence to: Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados-Itahum Highway, Zip Code: 79804-970. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. E-mail address: aneliseformagio@ufgd.edu.br; aneliseformagio@gmail.com (A.S.N. Formagio). E-mail address: aneliseformagio@ufgd.edu.br; aneliseformagio@gmail.com (A.S.N. Formagio); samantha.rhoden@hotmail.com (S.L. Rhoden); janaine_dec4@hotmail.com (J.A.M. Faoro); pedrojuniorbiologo@gmail.com (P.C.Oliveira Junior); claudia@uems.br (C.A.L.Cardoso); maramussury@ufgd.edu.br (R.M.M.F. Silva),

camiladiasmachado@hotmail.com (C.D. Machado); jane@uepg.br (J. Manfron);
maiarafava_777@hotmail.com (M.F. de Souza), meyoliveira2018@gmail.com (M.O. Guilherme); jessicamaurinodossantos@gmail.com (J.M. dos Santos).

Abbreviations

EODF – Essential oil *Duguetia furfuracea*; EODF-J – January; EODF-F – February; EODF-M – March; EODF-A – April; EODF-MA – May; EODF-JU – June; EODF-JL – July; EODF-AG – August; EODF-S – September; EODF-O – October; EODF-N – November; EODF-D – December; GC-MS – Gas chromatography-mass spectrometry; FAA – Formalin-acetic acid-alcohol; SEM – Scanning Electron Microscopy; EDS – Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy; SB – Sum of bases; T – Total cation exchange capacity; V% – Base saturation.

ABSTRACT

Duguetia furfuracea (A. St.-Hil.) Benth. & Hook. f., Annonaceae, is found in the state of Mato Grosso do Sul and its leaves presented essential oil; however, there is no scientific evidence demonstrating seasonal variation in the chemical composition this specie. The aim of this research was to investigate the chemical composition of *D. furfuracea* essential oil obtained from leaves and stems (EODF) collected seasonally (12-months), as well as the microscopy and histochemical analysis this plant. The *D. furfuracea* (leaves and stems) was collected in May of 2022 - April 2023, in the city of Dourados, in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. The essential oil was extracted by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC–MS). The analysis of EODF identified 24 compounds, with a predominance of monoterpenes (46.91% - 17.03%) and sesquiterpene (42.51% - 17.82%), and the major compound was β -pinene (31.06%). Precipitation did not influence the essential oil yield of *D. furfuracea*. Essential oil cells were predominantly found in the layers of the palisade parenchyma, especially beneath the leaf surface, mainly on the adaxial part of the leaves. The study highlighted that seasonal variation could influence the chemical composition of essential oil from *D. furfuracea* and microscopy and histochemical information was presented, to aid in species identification and quality control this specie.

Keywords: "araticum-miúdo", essential oil, cerrado, microscopy.

1. Introduction

Duguetia furfuracea (A. St.-Hil.) Benth. & Hook. f., Annonaceae, commonly referred as ‘araticum-miúdo’, “ata-brava” or “araticum-seco” is a typical Cerrado shrub and reaches 3 m, with deep roots, featuring globose fruits and solitary fleshy flowers, and based underground that becomes fire resistant (Gottsberg, 1994; Durigan *et al.*, 2004); can be found in the state of Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais (Silva *et al.*, 2007); however high capacity for vegetative growth, its large infestations are difficult to control. The leaves and twigs are indicated in folk medicine for treatment of rheumatism and powdered seeds against pediculosis (Rodrigues and Carvalho, 2001; Silva *et al.*, 2009).

The essential oil obtained from *D. furfuracea* is sometimes referred to as "Annonaceous essential oil". While specific information about its properties and uses might be limited compared to more well-known essential oils, it's likely that the oil would carry characteristics and potential benefits like other essential oils derived from plants in the Annonaceae family. The essential oil obtained from *D. furfuracea* underground stem bark, Minas Gerais, Brazil, revealed the presence of twenty-four volatile constituents, and main compounds identified were (E)-asarone (21.9%), bicyclogermacrene (16.7%), 2,4,5-trimethoxystyrene (16.1%), α -gurjunene (15%), cyperene (7.8%) and (E)-caryophyllene (4.6%) and exhibited biological activities, such as anti-inflammatory and central and peripheral antinociceptive effects (Saldanha *et al.*, 2019); in another study carried out with leaves, in a remnant patch of savanna in Campo Grande county, Mato Grosso do Sul, Brazil, six samples were selected according to the odor intensity in the leaves, exhibiting leaf scent had a high percentage of monoterpenes and some sesquiterpenes and only sesquiterpenes were found in the specimens having weakly scented or scentless leaves (Valter *et al.*, 2008).

In consideration of the possible variation in the chemical characteristics of a plant in response to seasonal factors, this study describes the chemical composition of the essential oil

obtained from leaves and stems from native plants of *D. furfuracea* collected in Dourados (MS, Brazil) to establish whether a difference exists between the oils and if so to quantify it. Additionally, also analyzes the morphoanatomy and histochemistry of the leaves this specie and antioxidant activity.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material

The aerial parts (leaves and stems) of *D. furfuracea* were collected at intervals of 30 days, starting in May of 2022 and ending in April 2023 of a native area near in the municipality of Dourados-MS city (22°08'23.3" S and 55°08'25.7" W), Brazil, between 06:00 AM and 07:00 AM. The specie was taxonomically identified by botanical soecialist (Z.V. Pereira/UFGD) and voucher specimens were deposited at the Herbarium of Federal University of Grande Dourados (UFGD) under the registration codes: 8979 and SisGen: A51F665.

2.2. Extraction and analysis of the essential oil by GC-MS

Part of the fresh leaves and stems (300 g) of *D. furfuracea* was subjected to hydrodistillation (4 h) using a Clevenger-type apparatus (Brasil, 2010), dried over anhydrous sodium sulphate and, after filtration, stored at 6 °C until testing and analysis. The samples were coded as follows: EODF-J (January), EODF-F (February), EODF-M (March), EODF-A (April), EODF-MA (May), EODF-JU (June), EODF-JL (July), EODF-AG (August), EODF-S (September), EODF-O (October), EODF-N (November), and EODF-D (December).

The essential oil samples were performed using gas chromatography (GC) and mass spectrometry (GC-MS, QP2010, Ultra, Shumadzu, Kyoto, Japan). Under the specified conditions, DB-5 column (30 m length, 0.25 mm internal diameter, 0.25 µm film thickness) with helium (99.999% purity) as the carrier gas at a flow rate of 1.0 ml/min. The injection

volume was 1 μ L in split mode (1:10). The oven temperature started at 50°C, increased at a rate of 3°C/min to 280°C, and was maintained for 10 min at 280°C. The injector operated at 220°C, and the transfer line and quadrupole detector were set at 280°C. Mass spectrometry parameters included an electron impact ionization voltage of 70 V, a mass range from 50 to 550 Daltons, and a scan interval of 0.3 s. The retention index was calculated using a mixture of linear alkanes (C7-C40) as an external reference (Adams, 2007). Compound identification involved comparing the mass spectra of the samples with those in the NIST21 and WILEY229 libraries, sample identifications were made using Kovat indices (Adams, 2007).

2.3. Microscopy Analysis

Fresh leaves of *D. furfuracea* (A.St.-Hil.) Saff. were fixed in formalin-acetic acid-alcohol (FAA) solution (Johansen, 1940) for 3 days, washed in water, and transferred to a 70% alcohol solution (v/v) (Berlyn *et al.*, 1976). Subsequently, freehand sections of the tissues were prepared using razor blades. The hand-sectioned tissues were hydrated, stained with toluidine blue (O'Brien *et al.*, 1964), and a combination of Astra blue and basic fuchsin (Kraus *et al.*, 1998). After anatomy analysis, the material was documented through photomicrographs, using an Olympus CX 31 microscope with the attached C-7070 control unit (Olympus, Tokyo, Japan). For epidermal studies, leaf sections were hydrated, cut into 5x5 mm squares, and decolorized using 20% sodium hypochlorite. After washing in 5% acetic acid, they were stained with safranin (Fuchs, 1963) and mounted in glycerin 50%.

2.4. Histochemical Analysis

Fresh leaves and stems, in secondary structure, underwent histochemical tests on the prepared sections using dyes and reagents. The phloroglucinol/HCl reagent was used to reveal traces of lignin (Sass, 1951); ferric chloride and potassium dichromate to detect the presence of

phenolic compounds (Gabe, 1968); NADI reagent to highlight essential oil (David and Carde, 1964). Sudan III for lipophilic substances (Foster, 1949); a vanillin solution in hydrochloric acid was applied to reveal condensed tannins (Mace and Howell, 1974); and a diluted iodine solution (1% w/v in water) was used to stain starch grains (Berlyn and Miksche, 1976). The prepared sections were analyzed and captured using an Olympus CX 31 light microscope with the attached C-7070 control unit (Olympus, Tokyo, Japan).

2.5. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)

Samples fixed in FAA were dehydrated in increasing concentrations of ethanol in water (70%, 80%, 90%, and 100%). Subsequently, the samples were dried in a Balzers CPD 030 critical point dryer (BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein), using liquid CO₂, and then coated with gold using a Quorum sputter coater (model SC7620). Photomicrographs were recorded using a Mira 3 field emission scanning electron microscope (Tescan, Brno-Kohoutovice, Czech Republic).

2.6. Soil analysis of the native area

Soil samples from the native area collected *D. furfuracea* was analyzed for calcium and magnesium content using an ion-exchange resin extraction method. Organic matter concentration was quantified through a colorimetric method, while hydrogen and aluminum levels were obtained using an SMP buffer solution. The pH was determined using a 0.01 mmol L⁻¹ CaCl₂ solution following the proposal by Raij and Quaggio (1983). The water pH was measured by the effective concentration of the H⁺ ion in a soil/water ratio of 1:2.5. The reading of SMP pH (Shoemaker et al., 1961) was obtained by correlating it with the pH of CaCl₂ 0.01 mol L⁻¹. Phosphorus and potassium levels were measured using the Mehlich-1 extractor, and micronutrients such as iron, zinc, manganese, and copper were also analyzed. The potential soil

acidity was determined with a solution of $\text{C}_4\text{H}_6\text{CaO}_4$ (0.5 mol L⁻¹, pH 7). The values of sum of bases (SB), total cation exchange capacity (T), and base saturation (V%) were calculated using classical equations (Da Silva et al., 2009).

3. Results and Discussion

In this manuscript it was explored how the collection period (time) influenced the yield and chemical composition of the EODF; these were obtained of fresh leaves and stems collected during the one year (at 06:00 – 07:00 AM), in native area (Dourados-MS, Brazil, cerrado). The EODF yield shows some changes throughout the course of one year, ranging from 0.008% to 0.062% (**Fig. 1**), and its coloration ranging from light translucent yellow to yellowish green. The EODF-JL (yellowish green, 0.062%) exhibited the highest yield followed by EODF-F, EODF-M, EODF-D (translucent yellow, 0.056%), EODF-A, EODF-N (light yellow, 0.050%), EODF-S (translucent yellow, 0.031%), OEDF-O (translucent yellow, 0.018%), OEDF-MA (translucent yellow, 0.015%) and OEDF-J, OEDF-AG (light yellow, 0.012%) (**Fig. 1**). The EODF-JU (translucent yellow, 0.008%) showing the lowest yield (**Fig. 1**). In the first two months of extraction, there was a decrease in OEDF production, followed by the month with the highest extraction; however, extraction again decreased for three consecutive months and increased five months later until April; However, between these last months, EODF extraction in January decreases significantly (**Fig. 1**). Weather parameters such as temperature and rainfall have been reported to influence in yield and composition of the essential oil in several aromatic plants (Sangwan *et al.*, 2001). During this period of study, precipitations as rainfalls were recorded, specifically in the July/2022 (3 mm) and February/2023 (303 mm) (**Fig. 1**). Even though there was a difference in the intensity of rainfall, there was no drop in temperature after heavy rain, ranging from 29 and 26 °C (**Fig. 1**). In agreement, the results this study suggests that the EODF was not affected by environmental factors, including temperature and

precipitation. There was no decrease in temperature after rains, which did not negatively affect EODF production. This result did not alter the glands breaking and/or alteration in terpene biosynthesis production.

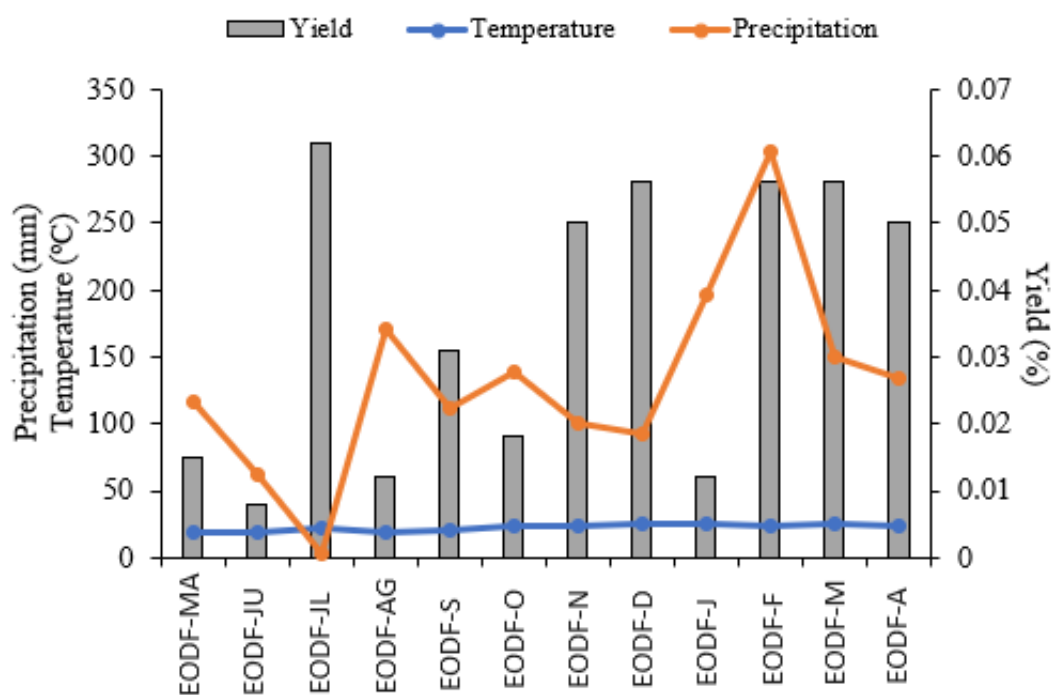


Fig. 1. Yield of the essential oil of *D. furfuracea*, temperature and precipitation in 12-months.

The analysis of EODF by GC–MS identified 24 compounds, with a predominance of monoterpenes (46.91% - 17.03%) and sesquiterpene (42.51% - 17.82%) (**Table 1**). The analysis showed marked variation in the major compound, as β -pinene (31.06%) in EODF–AG (**Table 1**). For all the 12-month sampling period, the EODF demonstrated the following compounds: β -pinene (31.06% – 1.02%), β -elemene (17.5% – 5.94%), germacrene B (13.48% – 5.19%), α -pinene (11.32% – 1.98%), γ -gurjunene (9.99% – 2.98%), spathulenol (15.01% – 1.01%) and caryophyllene oxide (11.23% – 1.38%) (**Table 1**). This EODF-AG was interesting, as it presented a high concentration of the β -pinene and α -pinene (11.32%) and in lower concentrations the β -elemene (5.94%), α -santalene (1.00%), γ -gurjunene (2.98%) and caryophyllene oxide (1.38%) (**Table 1**). The other compounds present, namely germacrene B,

pygmaein, β -felandrene, cis-*m*- mentha-2.8-diene and asarone (Z), also had relatively moderate concentrations that ranged from 13.48% – 5.19%, 9.94% – 1.24%, 8.54% - 1.46%, 6.65% - 1.01% and 4.18% - 1.13%, respectively (**Table 1**). Some compounds were reported exclusively such as: γ -elemene in the EODF-MA and EODF-O (1.21% and 5.32%, respectively); isogeijerene C (1.02%) in the sample EOFD-A; δ -cadinene (1.33%) in the EODF-F; germacrene A in the EODF-J (1.01%) and junenol in the EODF-JL (1.04%) (**Table 1**). The sabinene (15.59%) and γ -terpinene (7.65%) was most prevalent in EODF-JL (**Table 1**). These results showed that the chemical composition of the analyzed EODF appear to show quantitative variation due to the influence seasonal period of collections (12-month). This study is the first to examine the influence of seasonal variation on the chemical composition of *D. furfuracea* essential oils.

These results are in good agreement with Valter et al. (2008), that demonstrate variations in the composition of essential oil obtained from *D. furfuracea* at six (01- 06) samples according to the odor intensity in the leaves. The samples exhibiting leaf scent had a high percentage of monoterpenes and some sesquiterpenes, as follows: 01-sample (E-phellandrene, 42.2%; myrcene, 6.8%; D-phellandrene, 4.6%); 03-sample (terpin-4-ol, 21.6%; sabinene, 17.3%; p-cymene, 5.6%); 05-sample (sabinene, 25.1%; terpin-4-ol, 16.2%; p-cymene, 8.3%). Only sesquiterpenes, main constituent bicyclogermacrene (21.4%, 24.0%, and 29.1%, for 02, 04 and 06-sample, respectively) were found in the specimens having weakly scented or scentless leaves.

Table 1. Characterization by GC/MS the compounds in the essential oil of *D. furfuracea* in 12-months.

No	Compounds	Retention index			EODF-J	EODF-F	EODF-M	EODF-A	EODF-MA	EODF-JU	EODF-JL	EODF-AG	EODF-S	EODF-O	EODF-N	EODF-D
		RT	LI	DI	Composition (%)											
1	α -Pinene	6.792	932	901	4.23	3.40	6.05	4.58	4.64	1.98	7.10	11.32	7.55	2.93	5.09	5.09
2	Sabinene	8.056	969	931	3.62	4.26	8.62	-	5.61	2.51	15.59	-	9.74	3.94	7.97	7.97
3	β - Pinene	8.162	974	933	6.68	15.11	1.08	5.98	9.86	7.10	2.71	31.06	15.76	3.94	1.02	1.57
4	Myrcene	8.678	988	945	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.07	1.47	1.47
5	cis- <i>m</i> - Mentha-2.8-diene	8.753	983	947	1.11	1.01	2.65	2.89	-	-	-	-	1.85	3.55	6.65	6.65
6	p- Cymene	9.878	1020	974	1.01	-	-	-	-	-	-	-	-	3.20	-	-
7	β -Felandrene	10.048	1025	978	2.00	-	8.54	-	-	-	-	1.63	2.55	1.46	1.57	1.57
8	γ -terpinene	12.437	1044	1046	1.29	-	-	-	-	-	7.65	1.66	1.47	-	-	-
9	Camphene hydrate	16.229	1145	1147	-	-	-	-	-	-	-	-	2.38	-	-	-
10	Isogeijerene C	20.479	1246	1242	-	-	-	1.02	-	-	-	-	-	-	-	-
11	γ -Elemene	25.575	1335	1359	-	-	-	-	1.21	-	-	-	-	5.32	-	-
12	β -Elemene	26.655	1389	1385	12.75	8.63	13.97	15.57	15.27	17.45	10.55	5.94	8.98	8.84	11.46	11.46
13	α -Santalene	28.033	1416	1418	2.01	1.41	2.24	2.59	2.37	2.75	1.74	1.00	1.50	1.62	1.83	1.83
14	γ - Gurjunene	29.164	1475	1444	5.94	4.66	7.75	9.34	8.19	9.99	4.49	2.98	3.56	3.02	6.63	6.63
15	Germacrene B	29.800	1559	1460	5.19	13.48	9.44	12.79	9.13	12.32	10.24	6.27	-	-	11.85	11.85
16	Germacrene A	31.862	1508	1511	1.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Bicyclogermacrene	32.153	1500	1518	-	1.15	-	-	-	-	-	-	-	1.27	-	-
18	Pygmaein	32.470	1581	1527	2.36	4.91	5.81	6.55	7.19	9.94	4.36	1.45	1.24	-	3.02	3.02
19	Spathulenol	32.945	1577	1538	5.33	1.01	2.42	1.49	1.30	1.41	2.29	1.49	1.23	15.01	1.76	1.76
20	Caryophyllene oxide	33.132	1582	1543	5.13	2.56	3.28	3.85	2.63	4.03	3.29	1.38	4.36	11.23	4.44	4.44
21	δ -Cadinene	33.170	1522	1544	-	1.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Asarone (Z)	36.865	1572	1641	1.37	2.08	2.87	2.85	3.74	4.18	3.11	1.13	-	-	1.34	1.34

23	Junenol	33.497	1618	1553	-	-	-	-	-	-	1.04	-	-	-	-	-
24	α -Cadinol	35.822	1652	1615	1.29	-	-	1.23	-	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpenes					29.69	27.35	24.1	21.04	24.04	17.03	39.67	46.91	41.96	44.87	28.4	28.95
Oxygenated monoterpenes					3.73	6.99	8.68	9.4	10.93	14.12	7.47	2.58	3.62	0.00	4.36	4.36
Sesquiterpenes					28.90	30.66	41.94	40.29	36.17	42.51	27.02	17.82	16.59	21.53	33.34	33.34
Oxygenated sesquiterpenes					11.75	3.57	5.70	6.57	3.93	5.44	6.62	2.87	5.59	26.24	6.20	6.20
Total					74.07	68.57	80.42	77.3	75.07	79.1	80.78	70.18	67.76	92.64	72.3	72.85

LI: literature; DI: determined; TR: retention time.

The influence of local environmental conditions of soil also was reported at the collection site of *D. furfuracea* (**Table 2**). High Fe content (45.249 - 57.489 mol/dm²), a large amount of hydrogen, indicating acidic soil with low pH, and a high presence of aluminum, which can be detrimental to plant growth (**Table 2**). It is a dystrophic red latosol, as the V% (22.800) is less than 50%, indicating significant weathering (**Table 2**). Compounds such as Copper, Calcium, and Phosphorus (**Table 2**) are below the common range compared to soil for agricultural plant production. On the other hand, Manganese (18.672) (**Table 2**) shows a relatively high concentration, that compared with other soil (De Sousa and Lobato, 2004).

Plants growing in natural environments, such as acidic soils, may exhibit adaptations to thrive. These adaptations include associations with mycorrhizas, nutrient recycling, and other mechanisms. Interestingly, plants in acidic soils aren't adversely affected by aluminum toxicity. Instead of excluding it, they absorb and accumulate aluminum in significant amounts in tissues such as leaves and seeds. This strategy contributes to their successful growth, as observed in studies (Haridasan, 2008).

Table 2. Samples of cerrado soil from the collection site of *D. furfuracea*.

Soil Layer 0 – 10 cm								
pH CaCl ₂	pH H ₂ O	P (mg/dm ²)	K (mol/dm ²)	Al (mol/dm ²)	Ca (mol/dm ²)	Mg (mol/dm ²)	H + Al (mol/dm ²)	H + Al
4.030	5.160	1.530	0.128	4.200	0.410	0.370	3.060	1.120
pH SMP	SB (mol/dm ²)	T (mol/dm ²)	V%	Cu (mg/dm ²)	Mn (mg/dm ²)	Fe (mol/dm ²)	Zn (mg/dm ²)	
6.560	0.900	3.960	22.800	3.002	18.672	57.489	0.726	
Soil Layer 10 – 20 cm								
pH CaCl ₂	pH H ₂ O	P (mg/dm ²)	K (mol/dm ²)	Al (mol/dm ²)	Ca (mol/dm ²)	Mg (mol/dm ²)	H + Al (mol/dm ²)	H + Al
3.940	5.300	1.350	0.710	4.920	0.070	0.050	2.530	0.930
pH SMP	SB (mol/dm ²)	T (mol/dm ²)	V%	Cu (mg/dm ²)	Mn (mg/dm ²)	Fe (mg/dm ²)	Zn (mg/dm ²)	
6.740	0.200	2.730	7.300	3.257	9.788	45.249	0.321	

Histochemical studies in plants are dedicated to analysing the characterization, localization and concentration of chemical compounds or groups of secondary metabolites within biological tissues and cells. This is the first morpho-anatomy and histochemical (leaves and stems) analysis of *D. furfuracea*; the markers highlighted in this study can be employed in the identification this specie. The leaves of *D. furfuracea* are simple and alternate, 10 cm in length with 3 cm in width, with short petioles, and their branches originate from the sides and near the base of the ground (Koek-Noorman, 2003; Durigan *et al.*, 2004). The leaf margin is entire with pinnate venation. In frontal view (**Fig. 2a-b**), exhibits on the adaxial surface anticlinal walls ranging from straight to undulating (**Fig. 2c**), while they are straight on the abaxial surface (**Fig. 2e**), druses commonly observed on the adaxial face (**Fig. 2c, e**). In the *Duguetia* genus, other forms of crystals are found, such as rhomboidal crystals, needle-shaped crystals, spindle-shaped crystals, twin crystals, and crystal clusters (Maas *et al.*, 2003). The occurrence of crystals on the adaxial surface of the epidermis is noticeably higher when compared to the abaxial side, although they are of the same type. While crystals are common in *D. argentea*, *D. macrocalyx*, and *D. macrophylla*, there is no presence of these crystals (Maas *et al.*, 2003).

The leaf blade is amphistomatic, and the paracytic stomata are in depressions in the epidermis (**Fig. 2e, e'**). Stomata in depressions on both sides of the epidermis have been reported for several *Duguetia* species; however, elevated stomata were found in *D. stelechantha* and *D. uniflora* (Maas *et al.*, 2003). Star-shaped tector trichomes are present on the adaxial surface (**Fig. 2e, h, i**), while larger scales were found only on the abaxial surface (**Figs. 2f, i, j, 2b**). Star-shaped tector trichomes and larger scales were found in various *Duguetia* species (Bakker and Visser, 1994), such as *D. riberensis* Aristeg. and *D. dimorphopetala*. However, simple tector trichomes and tufts of trichomes were found in *D. neglecta*; upright star-shaped tector trichomes with fused rays at the base in *D. uniflora*, and upright star-shaped tector

trichomes, composed of overlapping garlands, were observed in *D. megalocarpa* (Maas *et al.*, 2003).

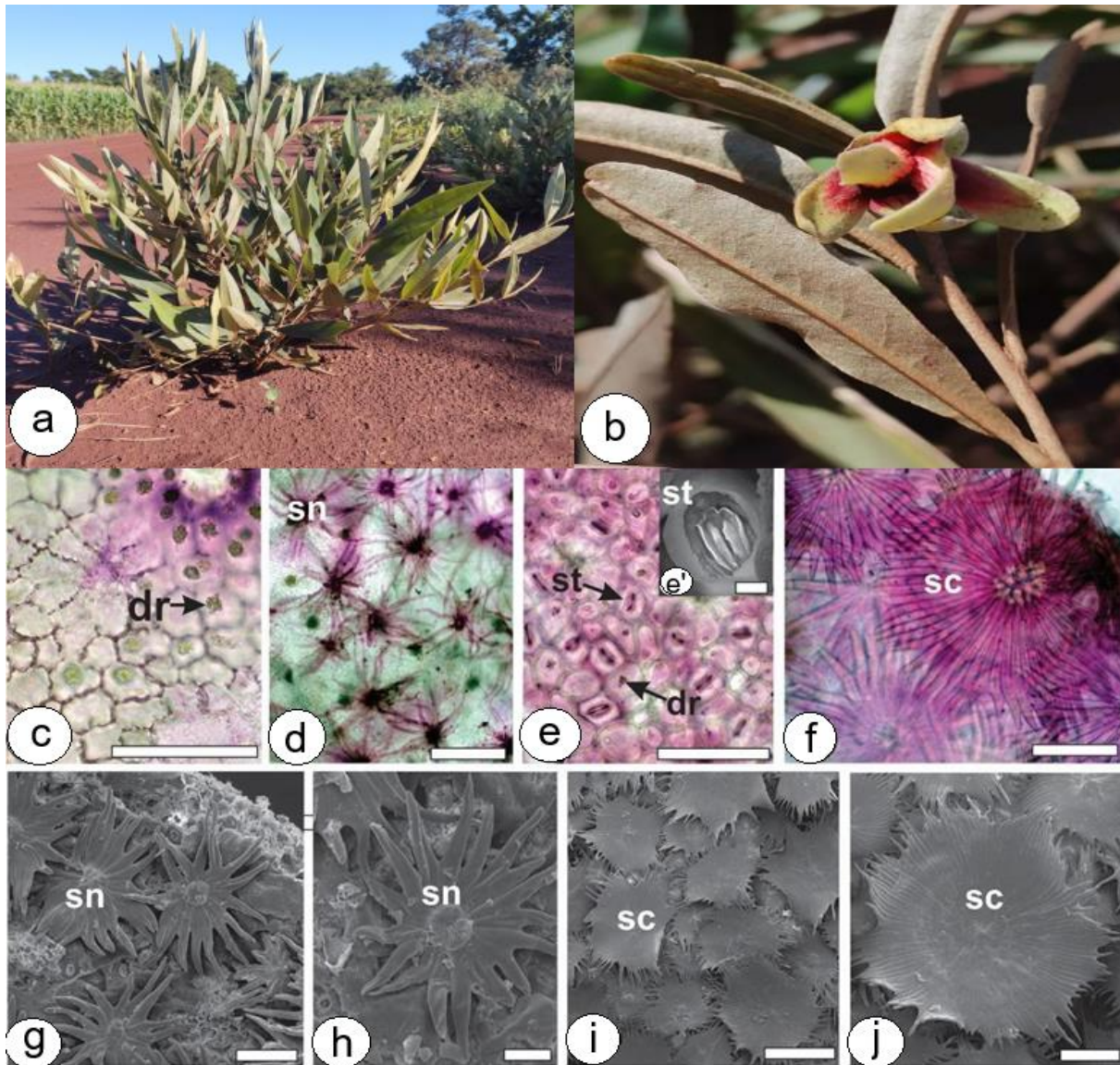


Figure 2. Morpho-anatomy of *Duguetia furfuracea*, shrub(a). leaves(b). (a-b) morphology. (c-f) light microscopy and (g-j) SEM. (c, d, g, h) Adaxial and (e, e', f, i, j) abaxial sides on the leaf. (c-j) Leaf in surface view. [dr, druses; sc, scales; sn, stellate non-glandular trichomes; st, stomata]. Scale bar: (a) 5 cm; (b) 1 cm; (d, i) 200 µm; (h, j) 100 µm; (c, e-i) 50 µm; (e') 2 µm.

In the leaf's cross-section, in the internervular region, the epidermis is covered by a thick and smooth cuticle on the adaxial side and thinner on the abaxial side than the adaxial cuticles. According to Bakker; Visser (1994), isobilateral or dorsiventral mesophyll can be found in *Duguetia*, as well as the presence of oil cells. The central vein has a plano-convex shape (**Fig. 3a, b**). The collateral vascular bundles are arranged in an open arch and separated by filaments of sclerenchymatous parenchyma, whose cells reacted with the phloroglucinol/HCl reagent (**Fig. 3b**). The epidermis is unistratified on both sides, presenting square to rectangular cells on the adaxial side and polyhedral to rounded cells on the abaxial side (**Fig. 3a, b, d**).

Phenolic compounds are found in palisade and spongy parenchyma cells, predominantly in the palisade parenchyma (**Fig. 3a, b, d**). Larger scales are found in the unistratified epidermis on the abaxial side, as previously described for the blade (**Fig. 3c**). Periclinal division walls are sometimes present on the adaxial side (**Fig. 3d**). The hypodermis was found in *D. moricandiana* and *D. riberensis* (Maas *et al.*, 2003), but it is not observed in this study. The mesophyll is isobilateral (**Fig. 3d**), formed by a layer of palisade parenchyma on both sides and about 6 layers of spongy parenchyma. The vascular region has smaller vascular bundles, and the sclerenchyma is reduced or present only on the adaxial faces (**Fig. 3d**).

Phenolic compounds are also found in fundamental parenchyma cells and phloem. These compounds reacted positively to potassium dichromate (**Fig. 3e**) and ferric chloride (**Fig. 3f**), and evidenced condensed tannins when reacting with vanillin in hydrochloric acid (**Fig. 3g**) in histochemical tests. Phenolic compounds reacted positively to potassium dichromate and ferric chloride in histochemical tests. Essential oil cells (about 45 µm) were found mainly in the palisade parenchyma, especially in the subepidermal region, mainly on the adaxial side of the leaves (**Fig. 3h**). A mixture of essential oil and oleoresins was detected in the oil cells using the NADI reagent (**Fig. 3h**). Adjacent to the epidermis, several layers of collenchyma are found

on both sides. Essential oil cells (**Fig. 3i**) are observed in the collenchyma, while various cells are filled with phenolic compounds (**Fig. 3a, b, e-g**).

In the cross-section, the stem exhibits a circular shape (**Fig. 3j**). The periderm is covered by a thick cuticle suberized tissue. It is observed in the cortex, phloem, parenchyma rays in the vascular system, and medulla idioblasts filled with phenolic compounds (**Fig. 3j-l**). Sclerenchymatous cells that reacted with the phloroglucinol/HCl reagent were found attached to the phloem (**Fig. 3m**). A few starch grains were found in the parenchyma rays. Calcium oxalate crystals, such as druses (**Fig. 3n**), styloids (**Fig. 3o**), and arrow-shaped (**Fig. 3p**), were found in the cortex and medulla.

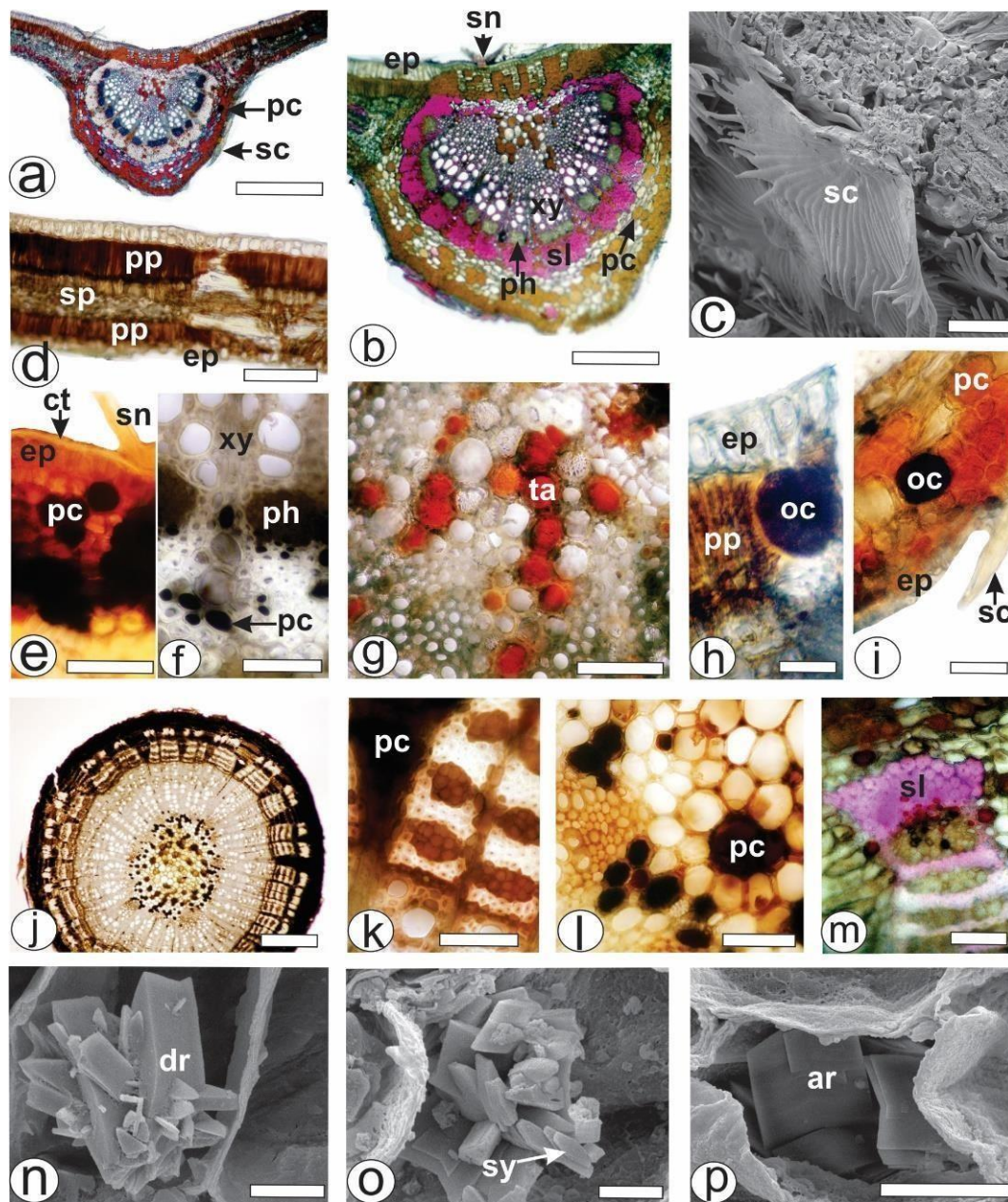


Figure 3. Anatomy and histochemistry of *Duguetia furfuracea*. (a-i) Leaves and (j-p) stems. (a, b, d-m) light microscopy and (c, n-p) SEM. [ar, arrow-shaped crystal; ct, cuticula, ep, epidermis, dr, druses; oc, oil cell; pc, phenolic compound; ph, phloem; pp, palisade parenchyma; sc, scales; sl, sclerenchyma; sn, stellate non-glandular trichomes; sp, spongy parenchyma; sy, styloid crystal; ta, condensed tannins; xy, xylem]. Scale bar: (a,j) 500 µm; (e) 200 µm; (b) 100 µm; (c, d, f, g, i, k-m) 50 µm; (h) 25 µm; (n-p) 5 µm.

4. Conclusions

The essential oil obtained from *D. furfuracea* leaves collected in Dourados-MS, revealed 24 compounds, with the predominance of monoterpenes and sesquiterpenes, highlighting the β -pinene. Precipitation did not influence the essential oil yield of *D. furfuracea*. Essential oil cells were predominantly found in the layers of the palisade parenchyma, especially beneath the leaf surface, mainly on the adaxial part of the leaves. Phenolic compounds were observed in both parenchymas.

Therefore, we concluded that this plant presents itself as a promising source of essential oil, varying its composition and content at different collection times.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there were no conflicts of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil), Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil), and UFGD (Universidade Federal da Grande Dourados) for financial support and fellowships.

References

- Adams, R.P, 2007. Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Corporation 4.
- Bakker, M.E., Visser, W.J, 1994. Studies in Annonaceae XIX. Leaf anatomy of *Duguetia* St. Hil.(Annonaceae). *Botanische Jahrbucher* 116 (1), 83-112.
- Berlyn, G.P., Miksche, J. P., Sass, J.E, 1976. *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. 1st ed. Ames: The Iowa State University Press 326.
- Brasil, 2010. *Farmacopeia Brasileira* 5 (1). Brasília: ANVISA.
- Da Silva, F.C. De Abreu, M.F., Pérez, D.V., Da Eira, P. A., De Abreu, C. A., Van Raij, B., Gianello, C., Coelho, A. M., Quaggio, J. A., Tedesco, M. J., Silva, C. A., Barreto, W. O, 2009.

Métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos.

David, R., Carde, J.P, 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'. Academie des Sciences Paris 258, 1338-1340.

De Sousa, D.M.G., Lobato, E, 2004. Cerrado- correção do solo e adubação. Embrapa Informação Tecnológica Brasília.

Durigan, G., Baitello, J.B., Franco, G.A.D.C., Siqueira, M.F, 2004. Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada. São Paulo: Páginas e Letras Editora e Gráfica.

Foster, A.S, 1949. Practical Plant Anatomy. 2nd ed. Princeton: D. Van Nostrand.

Fuchs, C.H, 1963. Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plant organs. Stain Technol 38, 141-144. <https://doi.org/10.3109/10520296309067156>

Gabe, M, 1968. Techniques histologiques. Paris: Masson & Cie.

Gottsberger, G, 1994. As anonáceas do cerrado e a sua polinização. Revista Brasileira de Biologia 54 (3), 391-402.

Haridasan, M, 2008. Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. Brazilian Journal of Plant Physiology 20 (3), 183-195. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202008000300003>.

Johansen, D.A, 1940. Plant Microtechnique. New York, NY: McGraw-Hill Book.

Koek-Noorman, J., Maas, P.J.M, 2003. Internal relationships in *Duguetia*. Flora neotropica: *Duguetia* (Annonaceae) – monograph 88, 59-274.

Kraus, J.E., Sousa, H.C., Rezende, M.H., Castro, N.M., Vecchi, C., Luque, R, 1998. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. Biotech & Histochem 73, 235-243. <https://doi.org/10.3109/10520299809141117>

Maas, P.J.M., Westra, L.Y.T., Chatrou, L.W, 2003. *Duguetia*. Flora Neotropica Monograph, New York 88, 1-274.

Mace, M. E., Howell, C. R, 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. Canadian Journal of Botany 52(11), 2423-2426. <https://doi.org/10.1139/b74-314>.

O'Brien, T.P., Feder, N., McCully, M.E, 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59, 367-373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>.

Raij, B.van., Quaggio, J.A, 1983. Métodos de análise de solo para fins de fertilidade. Campinas: Instituto Agrônomo, 31 (IAC. Boletim técnico, 81).

Rodrigues, V.E.G., Carvalho, D.A, 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. Ciência e Agrotecnologia 25 (1), 102-123.

Saldanha, A.A., Vieira, L., De Azambuja Ribeiro, R.I.M., Thomé, R.G., Dos Santos, H.B., Silva, D.B., Carollo, C.A., De Oliveira, F.M., Lopes, D.O., De Siqueira, J.M., Soares, A.C, 2019. Chemical composition and evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Duguetia furfuracea* essential oil: Effect on edema, leukocyte recruitment, tumor necrosis factor alpha production, iNOS expression, and adenosinergic and opioidergic systems. Journal of ethnopharmacology 231, 325-336. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.11.017>.

Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F., Sangwan, R.S, 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation 34, 3-21. <https://doi.org/10.1023/A:1013386921596>.

Sass, J.E, 1951. Botanical Microtechnique. 2nd ed. Des Moines: State College Press.

Shoemaker, H.E., Mclean, E.O., Pratt, P.F, 1961. Buffer methods for determining lime requirement of soils with appreciable amounts of extractable aluminium. Soil Science Society of America Proceedings 25, 274-277. <https://doi.org/10.2136/sssaj1961.03615995002500040014x>.

Silva, D.B., Tulli, E.C.O., Garcez, W.S., Nascimento, E.A., Siqueira, J.M, 2007. Chemical Constituents of the Underground Stem Bark of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). Journal of the Brazilian Chemical Society 18 (8), 1560-1565. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000800017>.

Silva, M.S.D., Tavares, J.F., Queiroga, K.F., Agra, M.D.F., Barbosa Filho, J.M., Almeida, J.R.G.D.S., Silva S.A.S.D, 2009. Alcaloides e outros constituintes de *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). Quimica Nova 32, 1566-1570. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600040>.

Valter, J.L., Alencar, K.M.C., Sartori, A.L.B., Nascimento, E.A., Chang, R., De Moraes, S.A. L., Laura, V.A., Yoshida, N.C., Carollo, C.A., Da Silva, D.B., Grassi, R.F., Fabri, J.R., De Siqueira, J.M, 2008. Variação química no óleo essencial das folhas de seis indivíduos de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae) Brazilian Journal of Pharmacognosy 18 (3), 373-378. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300011>

Conclusão

A análise de CG/EM das doze amostras de OEDF evidenciou 24 compostos que foram identificados na base de dados, a presença de monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados como predominantes, destacando β - elemeno e germacreno B. A precipitação não influenciou no rendimento do óleo essencial de *D. furfuracea*.

As análises de DPPH revelaram que todas as seis amostras apresentaram atividade antioxidante. A presença em maior quantidade de alguns compostos, como Sabinene, γ -terpinene, β -elemene, β -pinene e Germacrene B, pode ser uma justificativa para essa ação antioxidante.

A análise das amostras de solo do local de coleta de *D. furfuracea* mostraram a presença de alto teor de hidrogênio e pH alto por um solo ácido típico do local do Bioma Cerrado, sendo assim, apresenta característica esperada para o local.

Células de óleo essencial foram principalmente descobertas nas camadas do parênquima paliádico, especialmente abaixo da superfície da folha, predominantemente na parte adaxial das folhas. Compostos fenólicos em ambos os parênquimas.

Esse trabalho traz informações relevantes de *D. Furfuracea*, pela presença de substâncias nas células das folhas e pecíolos que desempenham um importante papel ecológico de manutenção e continuidade da espécie na natureza, como mecanismos contra a herbivoria e a desidratação.