

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
LABORATÓRIO DE PRODUTOS NATURAIS

Busca de biomarcadores como indicadores do mecanismo de defesa da laranja Pera à infecção de CVC através de análise Metabonômica

CRISTOVAM DO NASCIMENTO CERQUEIRA*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR EM QUÍMICA, na área de concentração QUÍMICA ORGÂNICA

Orientadora: Profa. Dra. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva

*Bolsista: CAPES

**São Carlos – SP
2016**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

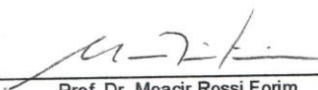
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Cristovam do Nascimento Cerqueira, realizada em 11/07/2016:



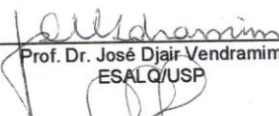
Prof. Dra. Maria Fatima das Graças Fernandes da Silva
UFSCar



Prof. Dr. Moacir Rossi Forim
UFSCar



Prof. Dr. João Batista Fernandes
UFSCar



Prof. Dr. José Djair Vendramim
ESALQ/USP



Profa. Dra. Adriana Aparecida Lopes
UNAERP

Eu peço que façam os homens rirem, pois entre as distorções da minha ideia eles se tornam amargos. Através do riso darás ao homem a esperança, e por ela voltará seus olhos novamente para mim.

*Martin Schulman
(The Moon's Nodes and Reincarnation, 1977)*

Segura essa marimba, Monamu!!

*Inês Brasil
(Evangelho Segundo o Inesismo, 2003)*

Dedico este trabalho aos meus pais que sempre me apoiaram e tiraram de onde não tinham para que eu pudesse chegar a onde cheguei, como profissional, pessoa e ser humano.

AGRADECIMENTOS

A minha família que posso com certeza dizer que é melhor família do mundo, pois ama os seus e os apoia independente de qualquer coisa – AMO VOCÊS;

A Profa. Dra. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, pela confiança, ensinamentos e exemplo de profissional pelo amor que tem pelo que faz;

Ao Dr. Wesley Gomes e Dr. Moacir Andrade, pela disponibilidade em me dar carona até Cordeirópolis para a realização de parte desse trabalho;

A Dra Barbara Sayuri e Msc Bruno Perlatti, pela grande ajuda nas análises de CL-EM e disponibilidade;

A técnica Lu do Laboratório de RMN, pela grande ajuda e compreensão que teve no momento em que o aparelho de RMN estava parado;

A Waters, em especial ao Michel Murgu, pela ajuda nos experimentos de CLUE-ESI-QTof;

A Dra Patricia Bergo pela ajuda e disponibilidade com os tratamentos quimiométricos;

Aos professores da banca pela disponibilidade, compreensão e arguição na banca;

A Vanessa Domingues por ter me dado teto, comida e roupa lavada quando eu estava sem casa;

Ao meu amigo de longa data Henrique Koch que sempre estava ali comigo na competição de quem estava mais desiludido e desesperado com a pesquisa de doutorado que nunca dava certo;

Ao grupo de enólogo Purple Mustache pelas noites de degustação amadora de vinhos e tudo que é bebida alcoólica que aparecesse na frente. Sem essas noites creio que enlouqueceria pensando nos problemas dessa pesquisa;

Aos amigos, melhor dizendo, família do PN que me ajudaram de todas as formas possíveis e estiveram junto comigo nos momentos de “Foco” e “Desfocamento”;

A CAPES, pela bolsa concedida;

A todos que de certa forma contribuíram para a realização desse trabalho de forma direta e indireta.

Muito obrigado!!!

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

μM	micromolar
A	Adenosina
ABA	Ácido Abscísico
ACN	Acetonitrila
APCI	Atmospheric pressure chemical <i>ionization</i>
C	Citosina
CCLi	Caule <i>C. limonia</i>
CCSi	Caule <i>C. sinensis</i>
CG	Cromatografia Gasosa
CISa	CauleInferiorSadio
CISi	CauleInferiorSintoma
CL	Cromatografia Liquida
CLAE-EFS-RMN	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a extrator de fase sólida acoplado à Ressonancia Magnetica Nuclear
CLAE-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
CLAE-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado detector de ultravioleta
CLUE	Cromatografia líquida de ultra eficiência
CLUE-ESI-QTof	Cromatografia líquida de ultra eficiência com <i>Electrospray ionization</i> acoplado a analisador quadrupolo- <i>time of flight</i>
CSSa	CauleSuperiorSadio
CSSi	CauleSuperiorSintoma
CVC	Clorose Variegada do Citros

Da	Dalton
DIA	<i>Data-Independent Acquisition</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EC	Eletroforese Capilar
EM	Espectrometria de massas
EPS	Exopolissacarídeos
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
FCLi	Folhas <i>C. limonia</i>
FCSi	Folhas <i>C. sinensis</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FSa	Folhas Sadia
FSi;	Folhas Sintoma
G	Guanidina
H₂O	Água
HCA	<i>Hierarchical Clusters Analysis</i>
HMDB	<i>Human Metabolome Database</i>
Hz	Hertz
HPLC	High performance liquid chromatography
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
LeuEnk	<i>Leucine-enkephalin</i>
m/z	Relação massa/carga
MALDI	<i>Matrix-assisted laser desorption / ionization</i>
MeOH	Metanol
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

METLIN	<i>Metabolomics Database</i>
N₂	Gás Nitrogênio
NuBBE	Núcleo de Pesquisa sobre Bioensaio, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais
OPLS-DA	<i>Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis</i>
PCA	<i>Principal component analysis</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PLS	<i>Partial Least Square</i>
PN	Produtos Naturais
PP	Polipropileno
RCLi	Raiz <i>C. limonia</i>
RCSi	Raiz <i>C. sinensis</i>
RDA	Retro Diels-Alder
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RNA_m	Ácido Ribonucleico mensageiro
rpm	Rotação por minuto
RSa	RaizSadia
RSi	<i>RaizSintoma</i>
SP	São Paulo
T	Tirosina
t_r	Tempo de retenção
U	Uracila
UFC_{ml}⁻¹	Unidades formadoras de colônia por mililitros
UNDP	<i>Universal Natural Products Database</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-1: Definições de termos relacionados à metabonômica conforme a literatura.....	23
Tabela 3-1:Gradiente de eluição utilizado durante análises de CLAE (linha A: H ₂ O + 0,1% de Ácido Fórmico; linha B: Acetonitrila + 0,1% de Ácido Fórmico).	46
Tabela 3-2:Condições cromatográficas utilizadas durante análises de CLUE-ESI-QTOF (linha A: H ₂ O + 0,1% de Ácido Fórmico; linha B: Acetonitrila + 0,1% de Ácido Fórmico).....	47
Tabela 3-3:Parâmetros estabelecidos para análises no espectrômetro de massas .	47
Tabela 4-1:Estrutura da tabela do banco de dados.....	50
Tabela 4-2: Valores de rendimentos de extração (n=5) das amostras de diferentes órgão vegetais.	53
Tabela 4-3:Prováveis metabólitos secundários das raízes dos <i>Citrus</i> evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (ESI positivo).....	90
Tabela 4-4:Prováveis metabólitos secundários dos caules do <i>Citrus</i> evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (ESI positivo).....	95
Tabela 4-5: Prováveis metabólitos secundários das folhas do <i>Citrus</i> evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (ESI positivo).....	103
Tabela 4-6: Prováveis metabólitos secundários das raízes do <i>Citrus</i> evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (ESI negativo).....	123
Tabela 4-7: Prováveis metabólitos secundários dos caules do <i>Citrus</i> evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (ESI negativo).....	130
Tabela 4-8: Prováveis metabólitos secundários das folhas do <i>Citrus</i> evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (ESI negativo).....	140

Tabela 4-9 Todas as substâncias discriminadas pela ferramenta <i>S-plot</i> nos pés francos	148
Tabela 4-10: Prováveis metabólitos secundários das raízes dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> positivo).	162
Tabela 4-11: Prováveis metabólitos secundários dos caules inferiores dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> positivo).	167
Tabela 4-12: Prováveis metabólitos secundários dos caules superiores dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> positivo).	172
Tabela 4-13: Prováveis metabólitos secundários das folhas dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> positivo).	178
Tabela 4-14: Prováveis metabólitos secundários das raízes dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> negativo).	180
Tabela 4-15: Prováveis metabólitos secundários dos caules inferiores dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> negativo).	183
Tabela 4-16: Prováveis metabólitos secundários dos caules superiores dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> negativo).	185
Tabela 4-17: Prováveis metabólitos secundários das folhas dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico <i>S-plot</i> (<i>ESI</i> negativo).	190
Tabela 4-18 Todas as substâncias discriminadas pela ferramenta <i>S-plot</i> nos enxertos	198

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 3-1: Preparo do material vegetal por Márcio Soares em 2006.	44
Fluxograma 3-2: Preparo das amostras para análises	45
Fluxograma 3-3: Metodologia de extração das amostras.	45

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1-1: Classe majoritária de alcaloides nas Rutaceae formado pela combinação de ácido antranílico e acetato (WATERMAN, 1999).....	33
Esquema 4-1: Proposta de fragmentação para a xantiletina (<i>ESI</i> , modo positivo). ..	68
Esquema 4-2: Detalhe da proposta de fragmentação do íon $m/z185$ para $m/z157$. .	68
Esquema 4-3: Proposta de fragmentação para a seselina (<i>ESI</i> , modo positivo).	70
Esquema 4-4: Proposta de fragmentação para o xantoarnol (<i>ESI</i> , modo positivo)...	73
Esquema 4-5: Proposta de fragmentação para a 5-metoxiseselina (<i>ESI</i> , modo positivo).	75
Esquema 4-6: Proposta de fragmentação para os íons não observados referentes à luvangetina.	75
Esquema 4-7: Proposta de fragmentação para a xantoxiletina (<i>ESI</i> , modo positivo).75	
Esquema 4-8: Proposta de fragmentação para a suberenona (<i>ESI</i> , modo positivo).77	
Esquema 4-9: Proposta de fragmentação para o suberenol (<i>ESI</i> , modo positivo)....	79
Esquema 4-10: Proposta de fragmentação para a ostol (<i>ESI</i> , modo positivo).....	80
Esquema 4-11: Proposta de fragmentação para a nordentatina (<i>ESI</i> , modo positivo).	84
Esquema 4-12: Proposta de fragmentação para a thamnosina (<i>ESI</i> , modo positivo).86	
Esquema 4-13: Proposta de fragmentação para a clausarina (<i>ESI</i> , modo positivo). 88	
Esquema 4-14: Proposta de fragmentação para a Nobiletina (<i>ESI</i> , modo positivo)..	94
Esquema 4-15: Proposta de fragmentação para o Citropteno (<i>ESI</i> , modo positivo).97	
Esquema 4-16: Proposta de fragmentação para o Bergapteno(<i>ESI</i> , modo positivo) 99	
Esquema 4-17: Proposta de fragmentação para o 6-Demetoxitangeretina (<i>ESI</i> , modo positivo).....	102

Esquema 4-18: Proposta de fragmentação para o cafeoato de prenila (<i>ESI</i> , modo negativo)	105
Esquema 4-19: Proposta de fragmentação para a citramina (<i>ESI</i> , modo negativo)	107
Esquema 4-20: Proposta de fragmentação para o lemobilina (<i>ESI</i> , modo negativo)	109
Esquema 4-21: Proposta de fragmentação para a grandisina I (<i>ESI</i> , modo negativo)	111
Esquema 4-22: Proposta de fragmentação para a 7-Demetóxisuberosina (<i>ESI</i> , modo negativo)	112
Esquema 4-23: Proposta de fragmentação para o álcool 5-hidròxinoracrinocina (<i>ESI</i> , modo negativo)	114
Esquema 4-24: Proposta de fragmentação para a evoprenina (<i>ESI</i> , modo negativo)	115
Esquema 4-25: Proposta de fragmentação para o yukovanol (<i>ESI</i> , modo negativo)	118
Esquema 4-26: Detalhes do mecanismo da perda de CO ₂ a partir do pico <i>m/z</i> 227	119
Esquema 4-27: Proposta de fragmentação para a grandisinina (<i>ESI</i> , modo negativo)	120
Esquema 4-28: Proposta de fragmentação para o lanhocarpol A (<i>ESI</i> , modo negativo)	122
Esquema 4-29 Proposta de fragmentação para a vicenina-2 (<i>ESI</i> , modo negativo)	126
Esquema 4-30 Proposta de fragmentação para a 7-demetilisotamarina (<i>ESI</i> , modo negativo)	128
Esquema 4-31 Proposta de fragmentação para o Ácido nomilínico (<i>ESI</i> , modo negativo)	133
Esquema 4-32 Proposta de fragmentação para a 5,4'-diidròxi-7,8-dimetoxiflavona (<i>ESI</i> , modo negativo)	135
Esquema 4-33 Proposta de fragmentação para o xantomicrol (<i>ESI</i> , modo negativo)	137
Esquema 4-34: Proposta de fragmentação para o Isotymusina (<i>ESI</i> , modo negativo)	139

Esquema 4-35: Proposta de fragmentação para o Bufotenina O-glucosídeo (<i>ESI</i> , modo positivo).....	158
Esquema 4-36: Proposta de fragmentação para o decursinol (<i>ESI</i> , modo positivo)160	
Esquema 4-37: Proposta de fragmentação para a luvangetina (<i>ESI</i> , modo positivo)161	
Esquema 4-38: Lunacrina como precursora na biossíntese do alcaloide eskimianina (SEIGLER, 1998).	164
Esquema 4-39: Proposta de fragmentação para a Lunacrina (<i>ESI</i> , modo positivo) 165	
Esquema 4-40: Proposta de fragmentação para a limonina (<i>ESI</i> , modo positivo) ..	167
Esquema 4-41: Proposta de fragmentação para a 6-Demetoxinobiletina (<i>ESI</i> , modo positivo)	171
Esquema 4-42: Proposta de fragmentação para a hesperidina (<i>ESI</i> , modo positivo)175	
Esquema 4-43: Proposta de fragmentação para a Aurantenina (<i>ESI</i> , modo positivo)177	
Esquema 4-44: Proposta de fragmentação para o 5-Hidróxinoracronicina (<i>ESI</i> , modo negativo)	183
Esquema 4-45Proposta de fragmentação para a Diosmina-8-C-glucosídeo(<i>ESI</i> , modo negativo).	187
Esquema 4-46: Proposta de fragmentação para o Rutina (<i>ESI</i> , modo negativo)....	190

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-1: Esquema de propagação por enxertia. A - Copa (espécie a ser propagada); B - Porta-enxerto (espécies de rústica) (MORALES, 2010).....	3
Figura 1-2: Laranja Pêra - <i>C. sinensis</i> - (copa) enxertada sobre Limão Cravo - <i>C. limonia</i> -(porta-enxerto) (ABDELNUR, 2006).....	4
Figura 1-3: Sintomas foliares da CVC: a, b - clorose intravenal; c, d - clorose pontuada; e, f - clorose contínua; g - desfolha e morte de ramos ponteiros (COLETTA-FILHO; BORGES; MACHADO, 2000; FUNDECITRUS, 2007).	7
Figura 1-4: Sintomas da CVC nos frutos: a, b, c – comparação dos frutos sadios e doentes; d – frutos produzidos em cachos; e – frutos com queimaduras de sol (COLETTA-FILHO; BORGES; MACHADO, 2000; FUNDECITRUS, 2007).	8
Figura 1-5: Cigarrinhas vetores da transmissão da CVC (SOUZA, 2014).	9
Figura 1-6: Imagens de <i>X. fastidiosa</i> observada em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) : a, b – agregado de bactérias; c, d, e - agregados de bactérias colonizando o xilema; f, g – cavidade bucal da cigarrinha infectada com a bactéria (DALKE, 2002; NEWMAN et al., 2004; PESQUISA FAPESP, 2010; FUNDECITRUS, 2016).	11
Figura 1-7: Mapa de distribuição de casos de <i>X. fastidiosa</i> causando algum tipo de doença (BAKER et al., 2015).	12
Figura 1-8: Mapa de distribuição da <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>pauca</i> responsável pela CVC (BAKER et al., 2015).	14
Figura 1-9: Agregados de bactérias obstruindo vasos xilemáticos: a, b – corte transversal do xilema; c - corte longitudinal do xilema; d, e – agregado bacteriado com formação de biofilme (NEWMAN et al., 2004; ALVES et al., 2009; KITAJIMA, 2010).....	15

Figura 1-10: Imagens obtidas por MEV de cristais formados em vasos xilemáticos próximos às colônias de por <i>X. fastidiosa</i> : a – cristais de oxalato de cálcio em videira; b – e – cristais de hesperidina em citros. * = Cristais de oxalato; C = Cristais de hesperidina; → = Colônias de <i>X. fastidiosa</i> (FRY; MILHOLLAND, 1990; ALVES et al., 2009).....	17
Figura 1-11: MALDI Imagem reconstruído com os íons m/z 633 $[M+Na]^+$ referente a hesperidina: a – corte transversal do pecíolo infectado; b - corte transversal do pecíolo sadio; c - corte transversal da folha infectada; d - corte transversal da folha sadia. Detalhes em vermelho e em amarelo indicam a presença da hesperidina (SOARES et al., 2014).	18
Figura 1-12: Flavonoides isolados no estudo de RIBEIRO e colaboradores (2008). .	19
Figura 1-13: Cumarinas isoladas no estudo de RIBEIRO e colaboradores (2008). ..	20
Figura 1-14: Alcaloide e terpenoides isoladas no estudo de RIBEIRO e colaboradores (2008).	21
Figura 1-15: Fórmula estrutural dos flavonoides hesperidina e rutina.	22
Figura 1-16: Cascata “ÔMICA” e seus pontos de regulação (MARIA-RESENDE; CAMERON, 2010).....	24
Figura 1-17: Classificação geral da Metabonômica (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009).....	26
Figura 1-18: a - Alcaloide tropânico; b - Alcaloide indólico; c - Glucosinolato; d – Chalcona dimerica; e - Isoflavonoide.	32
Figura 1-19: Esqueletos de limonoides comuns no gênero <i>Citrus</i>	34
Figura 1-20: Esqueletos básicos de cumarinas encontradas na família Rutaceae. ...	35
Figura 3-1: Esquema de separação das mudas enxertadas [adapatado de (BELLETE, 2014)]......	44

Figura 4-1: Cromatogramas sobrepostos obtidos via CLAE-UV dos extratos de: FSi – folhas com sintoma; CSSi – Caule superior com sintoma; CISi – Caule inferior com sintoma; RSi – Raiz com sintoma. (–) Extração banho ultrassom 30 min.; (–) Extração banho ultrassom 20 min.; (–) Homogeneizador UltraTurrax.	52
Figura 4-2: Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos <i>C. limonia</i> : a - FCLi; b - CCLi; c - RCLi. Modo de ionização positivo e negativo.	55
Figura 4-3: Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos <i>C. sinensis</i> : a - FCSi; b - CCSi; c - RCSi. Modo de ionização positivo e negativo.	55
Figura 4-4: Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos sadios: a - FSa; b - CSSa; c - CISa; d - RSa. Modo de ionização positivo e negativo.	56
Figura 4-5: Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos doentes: a - FSi; b - CSSi; c - CISi; d - RSi. Modo de ionização positivo e negativo.	57
Figura 4-6 Cromatogramas sobrepostos dos enxertos obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos: a - Folhas; b – Caule Superior; c – Caule Inferior; d - Raiz. Modo de ionização positivo e negativo.(–) Amostra Sadia; (–) Amostra Infectada.	58
Figura 4-7: Cromatogramas sobrepostos dos pés francos obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos: a - Folhas; b - Caule; c - Raiz. Modo de ionização positivo e negativo.(–) <i>C. limonia</i> ; (–) <i>C. sinensis</i>	59
Figura 4-8: Análises quimiométricas no modo positivo de ionização de todos os órgãos vegetais dos pés francos: A- PCA – gráfico de <i>scores</i> de PC1xPC2 ; B- HCA- dendrograma de similaridade	62

Figura 4-9: Análises quimiométricas no modo negativo de ionização de todos os órgãos vegetais dos pés francos: A- PCA – gráfico de <i>scores</i> de PC1xPC3 ; B- HCA- dendrograma de similaridade	62
Figura 4-10 Análise de PCA: gráfico de <i>loadings</i> da PC1 X PC2 das análises realizadas no modo positivo de ionização dos órgãos vegetais.	64
Figura 4-11 Análise de PCA: gráfico de <i>loadings</i> da PC1 X PC3 das análises realizadas no modo negativo de ionização dos órgãos vegetais.	65
Figura 4-12: Gráfico <i>S-Plot</i> das raízes de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> no modo positivo de ionização.....	66
Figura 4-13: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes das raízes.	66
Figura 4-14: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 229,0869 no <i>t_r</i> 8,16 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	67
Figura 4-15: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 229,0869 <i>t_r</i> de 8,35 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	68
Figura 4-16: Estrutura química das cumarinas xantiletina e seselina.	69
Figura 4-17: Cromatograma de massa das raízes de <i>C. limonia</i> : a - de <i>m/z</i> 213; b - <i>m/z</i> 175; c - <i>m/z</i> 229.....	71
Figura 4-18: Estrutura das cumarinas de massa neutra 262,0842 Da referente ao <i>m/z</i> 263,0920.	72
Figura 4-19: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 263,0920 de <i>t_r</i> de 5,42 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	72

Figura 4-20: Estrutura das piranocumarinas de massa neutra 258,0894 Da referente a m/z 259,0973 e m/z 259,0966.....	74
Figura 4-21: Espectro de massas para o íon m/z 259,0966 de t_r de 5,68 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	74
Figura 4-22: Espectro de massas para o íon m/z 259,0973 de t_r de 8,72 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	76
Figura 4-23: Estrutura das piranocumarinas de massa neutra 244,0735 Da referente a m/z 245,0820	76
Figura 4-24: Espectro de massas para o íon m/z 244,0820 de t_r de 6,57 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	77
Figura 4-25: Estrutura das cumarinas de massa neutra 260,1048 Da referente ao m/z 261,1132.	78
Figura 4-26: Espectro de massas para o íon m/z 261,1132 de t_r de 7,11 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	78
Figura 4-27: Estrutura das cumarinas de massa neutra 244,1099 Da referente a m/z 245,1194.	79
Figura 4-28: Espectro de massas para o íon m/z 245,1194 de t_r de 9,60 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	80
Figura 4-29: Estrutura das cumarinas de massa neutra 312,1361 Da referente a m/z 313,1445.	81

Figura 4-30: Cromatograma de íon totais das raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo positivo) evidenciando outra banda cromatográfica com massa acurada de m/z 313,1445.....	82
Figura 4-31: Espectro de massas para o íon m/z 313,1445 de t_r de 10,15 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	82
Figura 4-32: Proposta de quebra dos anéis e reciclagem destes nas cumarinas nordentatina e citrusarinas durante o processo de fragmentação.	83
Figura 4-33: Espectro de massas de íons produtos do íon m/z 313,1445 encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo positivo): a- t_r 11,71 min; b- t_r 10,15 min. banda 10.....	83
Figura 4-34: Estrutura das biscumarinas de massa neutra 484,1885 Da referente a m/z 485,1960.	85
Figura 4-35: Espectro de massas para o íon m/z 485,1960 de t_r de 10,56 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	85
Figura 4-36: Estrutura das piranocumarinas de massa neutra 380,1987 Da referente a m/z 381,2061.	87
Figura 4-37: Espectro de massas para o íon m/z 381,2061 de t_r de 11,47 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	87
Figura 4-38 Estrutura dos limonoides de massa neutra 514,2202 Da referente a m/z 515,2290.	89
Figura 4-39: Espectro de massas para o íon m/z 515,2290 de t_r de 7,60 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	89

Figura 4-40: Gráfico <i>S-Plot</i> dos caules de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> no modo positivo de ionização.....	91
Figura 4-41: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes de caule.	91
Figura 4-42: Estrutura dos limonoides de massa neutra 454,1991 Da referente aom/z455,2076.	92
Figura 4-43: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 455,2076 de <i>t_r</i> de 8,28 min. encontrado nos caules de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	92
Figura 4-44: Estrutura das flavonas polimetoxiladas de massa neutra 402,1314 Da referente aom/z403,1393.	93
Figura 4-45: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 403,1405 de <i>t_r</i> de 8,91 min. encontrado nos caules de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	93
Figura 4-46: Estrutura do cetólídeo Cetromicina metabólito incomum na família Rutaceae (765.4200 Da).....	94
Figura 4-47: Gráfico <i>S-Plot</i> das folhas de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> no modo positivo de ionização.....	95
Figura 4-48: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes de folhas.	96
Figura 4-49: Estrutura cumarinas simples de massa neutra 206,0584 Da referente aom/z207,0659.	97
Figura 4-50: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 207,0659 de <i>t_r</i> de 6,85 min. encontrado nas folhas de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	97

Figura 4-51: Cromatograma de massa m/z 207 das folhas de <i>C. limoniae</i> <i>C. sinensis</i>	98
Figura 4-52: Estrutura das furanocumarinas de massa neutra 216,0422 Da referente ao m/z 217,0504.	99
Figura 4-53: Espectro de massas para o íon m/z 217,0504 de t_r de 7,00 min. encontrado nas folhas de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	99
Figura 4-54: Perfis de fragmentação das cumarinas Xantoxiletina e Bergapteno em <i>ESI-QTOF</i> a 40eV no modo positivo obtidos na literatura (SMITH et al., 2005)	100
Figura 4-55: Estrutura das flavonas tetrametoxilados de massa neutra 342,1103 Da referente ao m/z 343,1188.	101
Figura 4-56: Espectro de massas para o íon m/z 343,1188. de t_r de 8,79 min. encontrado nas folhas de <i>C. limonia</i> (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	101
Figura 4-57: Gráfico <i>S-Plot</i> das raízes de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> no modo negativo de ionização.....	103
Figura 4-58: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes das raízes.	104
Figura 4-59: Estrutura Cafeoato de prenila de massa neutra 248,1048 Da referente ao m/z 247,0977.	105
Figura 4-60: Espectro de massas para o íon m/z 247,0977 de t_r de 6,01 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (<i>ESI</i> , modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	105
Figura 4-61: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 317,0899	106

Figura 4-62: Espectro de massas para o íon m/z 316,0819 de t_r de 6,94 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	107
Figura 4-63: Estrutura do alcaloide furanoquinolínico de massa neutra 243,1259 Da referente a m/z 242,1187.	108
Figura 4-64: Espectro de massas para o íon m/z 242,1187 de t_r de 8,14 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	108
Figura 4-65: Estrutura dos alcaloides acridônicos de massa neutra 301,0950 Da referente a m/z 300,0878.	110
Figura 4-66: Espectro de massas para o íon m/z 300, 0878 de t_r de 8,21 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	110
Figura 4-67: Estrutura as cumarinas preniladas de massa neutra 230,0942 Da referente a m/z 229,0867.	112
Figura 4-68: Espectro de massas para o íon m/z 229,0867 de t_r de 8,70 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	112
Figura 4-69: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 339,1106 Da referente a m/z 338,1035.	113
Figura 4-70: Espectro de massas para o íon m/z 338,1035 de t_r de 9,34 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	113
Figura 4-71: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 339,1470 Da referente a m/z 338,1396.	115

Figura 4-72: Espectro de massas para o íon m/z 338,1396 de t_r de 10,44 min. encontrado nas raízes de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	115
Figura 4-73: Estrutura do flavonanol de massa neutra 354,1103 Da referente ao $[M-H_2O-H]^-$ m/z 335,0919.....	116
Figura 4-74: Espectro de massas para o íon m/z 335,0919 de t_r de 10,46 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	117
Figura 4-75: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 369,1576 Da referente ao m/z 368,1508.	119
Figura 4-76: Espectro de massas para o íon m/z 368,1508 de t_r de 10,57 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	120
Figura 4-77: Estrutura da flavanona de massa neutra 408,1936 Da referente ao m/z 407,1866.	121
Figura 4-78: Espectro de massas para o íon m/z 407,1866 de t_r de 10,75 min. encontrado nas raízes de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	122
Figura 4-79: Gráfico <i>S-Plot</i> dos caules de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> no modo negativo de ionização.	124
Figura 4-80: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes dos caules.....	124
Figura 4-81: Estrutura das flavonas glicosiladas de massa neutra 594,1584 Da referente ao m/z 593,1506.	125

Figura 4-82: Espectro de massas para o íon m/z 593,1506 de t_r de 3,83 min. encontrado nos caules de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	125
Figura 4-83 Fragmentações características de flavonoides C-glicosilados e O-glicosilados (BELLETE, 2014).....	126
Figura 4-84: Estrutura da cumarina de massa neutra 246,0892 Da referente aom/z245,0819.....	127
Figura 4-85: Espectro de massas para o íon m/z 245,0819 de t_r de 6,27 min. encontrado nos caules de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	127
Figura 4-86 Estrutura do limonoide de massa neutra 424,1885 Da referente aom/z423,1809.....	128
Figura 4-87: Espectro de massas para o íon m/z 423,1809 de t_r de 10,05 min. encontrado nos caules de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	129
Figura 4-88: Gráfico S-Plot das folhas de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> no modo negativo de ionização.....	131
Figura 4-89: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico S-plot nas matrizes das folhas.	131
Figura 4-90 Estrutura dos limonoides de massa neutra 532,2308 Da referente aom/z531,2225.....	132
Figura 4-91: Espectro de massas para o íon m/z 531,2225 de t_r de 7,67 min. encontrado nas folhas de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	132
Figura 4-92 Estrutura flavona de massa neutra 314,0790 Da referente aom/z313,0717.....	134

Figura 4-93: Espectro de massas para o íon m/z 313,0717 de t_r de 8,09 min. encontrado nas folhas de <i>C. limonia</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	134
Figura 4-94 Estrutura flavona polimetoxilada de massa neutra 344,0896 Da referente aom/z343,0819.	136
Figura 4-95: Espectro de massas para o íon m/z 343,0819 de t_r de 8,65 min. encontrado nas folhas de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	136
Figura 4-96 Estrutura flavona polimetoxilada de massa neutra 374,1001 Da referente aom/z373,0923.	138
Figura 4-97: Espectro de massas para o íon m/z 373,0923 de t_r de 8,76 min. encontrado nas folhas de <i>C. sinensis</i> (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	138
Figura 4-98: Substâncias putativamente identificadas (ESI + e ESI -) nas raízes dos pés francos com seus respectivos códigos de identificação, espécie em que foi mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, A = alcaloide, L= limonoide, F= flavonoide, FP = fenilpropanoide. Espécies La= laranja (<i>C. sinensis</i>), Li= limão (<i>C. limonia</i>). DUE = Detectado em uma única espécie.	141
Figura 4-99: Substâncias putativamente identificadas (ESI + e ESI -) nos caules dos pés francos com seus respectivos códigos de identificação, espécie em que foi mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, A = alcaloide, L= limonoide, F= flavonoide. Espécies La= laranja (<i>C. sinensis</i>), Li= limão (<i>C. limonia</i>). DUE = Detectado em uma única espécie.	142
Figura 4-100: Substâncias putativamente identificadas (ESI + e ESI -) nas folhas dos pés francos com seus respectivos códigos de identificação, espécie em que foi	

mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, L= limonoide, F= flavonoide.	
Espécies La= laranja (<i>C. sinensis</i>), Li= limão (<i>C. limonia</i>).....	142
Figura 4-101: Rota metabólica resumida dos metabólitos secundários oriundos da rota Chiquimato.....	143
Figura 4-102: Variação das cumarinas (médias das áreas das bancas cromatográficas) xantiletina e seselina nos órgãos de <i>C. limonia</i> e <i>C. sinensis</i>	144
Figura 4-103: Variação dos limonoides (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos órgãos de <i>C. limonia</i> e <i>C. sinensis</i> (código de identificação dos limonoides na Tabela 4-9)	144
Figura 4-104: Cumarinas citadas na literatura que apresentaram grande inibição na formação de biofilmes em agregados bacterianos.	146
Figura 4-105 Variação dos flavonoides (médias das áreas das bancas cromatográficas) nas folhas de <i>C. limonia</i> e <i>C. sinensis</i> (código de identificação dos flavonoides na Tabela 4-9).....	147
Figura 4-106: Análises quimiométricas no modo positivo de ionização de todos os órgãos vegetais dos enxertos sadios e infectados A- PCA – gráfico de scores de PC1xPC2 ; B- HCA- dendrograma de similaridade	152
Figura 4-107: Análises quimiométricas no modo negativo de ionização de todos os órgãos vegetais dos enxertos sadios e infectados A- PCA – gráfico de scores de PC1xPC3 ; B- HCA- dendrograma de similaridade	152
Figura 4-108: Cromatogramas (<i>ESI</i> positivo) sobrepostos do (-) CISa – Caule Inferior Sadio e (-) RSi – Raiz Sintoma. No gráfico de HCA está destacado em verde.....	153
Figura 4-109: Cromatogramas (<i>ESI</i> positivo) sobrepostos do (-) CISi – Caule Inferior Sintoma e (-) RSa – Raiz Sadio. No gráfico de HCA está destacado em azul	154

Figura 4-110: Análise de PCA: gráfico de <i>loadings</i> da Componente 1 X Componente 2 das análises realizadas no modo positivo de ionização dos órgãos vegetais.	155
Figura 4-111: Análise de PCA: gráfico de <i>loadings</i> da Componente 1 X Componente 3 das análises realizadas no modo negativo de ionização dos órgãos vegetais.	155
Figura 4-112: Gráfico <i>S-Plot</i> das raízes dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.	156
Figura 4-113: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes das raízes dos enxertos.	157
Figura 4-114: Estrutura do alcaloide glicosilado de massa neutra 366,1790 Da referente aom/z367,1870.	158
Figura 4-115: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 367,1870 de <i>t_r</i> de 1,15 min. encontrado nas raízes dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	158
Figura 4-116: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 263,0924 de <i>t_r</i> de 5,53 min. encontrado nas raízes dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	159
Figura 4-117: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 259,0974 de <i>t_r</i> de 9,16 min. encontrado nas raízes dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	161
Figura 4-118: Gráfico <i>S-Plot</i> dos caules inferiores dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.	163
Figura 4-119: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes dos caules inferiores dos enxertos.	163

Figura 4-120: Estrutura do alcaloide glicosilado de massa neutra 273,1364 Da referente aom/z274,1449.	164
Figura 4-121: Espectro de massas para o íon m/z 274,1449 de t_r de 3,38 min. encontrado nos caules inferiores dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	164
Figura 4-122: Única estrutura encontrada no banco de dados de massa neutra 470,1940 Da referente aom/z471,2017.	166
Figura 4-123: Espectro de massas para o íon m/z 471,2017 de t_r de 6,86 min. encontrado nos caules inferiores dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	166
Figura 4-124: Gráfico <i>S-Plot</i> dos caules superiores dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.	168
Figura 4-125: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes dos caules superiores dos enxertos.	168
Figura 4-126: Estrutura dos ciclopeptídeos de massa neutra 727,3904Da referente aom/z728,3976.	169
Figura 4-127: Espectro de massas para o íon m/z 728,3976 de t_r de 7,47 min. encontrado nos caules superiores dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	169
Figura 4-128: Estrutura das flavonas pentametoxiladas de massa neutra 372,1209 Da referente aom/z373,1286.	171
Figura 4-129: Espectro de massas para o íon m/z 373,1286 de t_r de 8,29 min. encontrado nos caules superiores dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	171
Figura 4-130: Proposta de estabilização do radical formado referente ao pico m/z 358 observado.	172

Figura 4-131: Gráfico <i>S-Plot</i> das folhas dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.....	173
Figura 4-132: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes das folhas dos enxertos.....	173
Figura 4-133: Estrutura das flavanonas glicosiladas de massa neutra 610,1897Da referente aom/z611,1970.....	174
Figura 4-134: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 611,1970 de <i>t_r</i> de 5,41 min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	175
Figura 4-135: Estrutura dos dissacarídeos rutinose e neohesperidose e posição das suas ligações interglicosídicas.....	176
Figura 4-136: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 373,1288 de <i>t_r</i> de 8,10 min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).....	177
Figura 4-137: Gráfico <i>S-Plot</i> das raízes dos enxertossadios e infectados no modo negativo de ionização.....	179
Figura 4-138: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes das raízes dos enxertos.....	179
Figura 4-139: Espectro de massas para o íon <i>m/z</i> 229 encontrado nos <i>t_r</i> de 7,70min. e <i>t_r</i> de 8,70encontrado nas raízes dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo negativo)..	180
Figura 4-140: Gráfico <i>S-Plot</i> dos caules inferiores dos enxertossadios e infectados no modo negativo de ionização.....	181
Figura 4-141: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes dos caules inferiores dos enxertos.....	181
Figura 4-142: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 323,1157Da referente aom/z322,1081.....	182

Figura 4-143: Espectro de massas para o íon m/z 322,1081 de t_r de 10,30 min. encontrado nos caules inferiores dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	182
Figura 4-144: Gráfico <i>S-Plot</i> dos caules superiores dos enxertossadios e infectados no modo negativo de ionização.....	184
Figura 4-145: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes dos caules superiores dos enxertos.....	184
Figura 4-146: Gráfico <i>S-Plot</i> das folhas dos enxertossadios e infectados no modo negativo de ionização.	185
Figura 4-147: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico <i>S-plot</i> nas matrizes das folhas dos enxertos.....	186
Figura 4-148 Estrutura dos flavonoides glicosilados de massa neutra 462,1162Da referente aom/z461,1088.	187
Figura 4-149 Espectro de massas para o íon m/z 461,1088 de t_r de 5,08 min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	187
Figura 4-150 Perda de água observada em flavonoides 6-C-glicosilados envolvendo o grupo 2''-hidroxílico do resíduo de açúcar com os grupos hidroxílicos 5 ou 7 do flavonoide (CUYCKENS; CLAEYS, 2004).	188
Figura 4-151 Estrutura dos flavonoides glicosilados de massa neutra 610,1533Da referente aom/z609,1459.	189
Figura 4-152 Espectro de massas para o íon m/z 609,1459 de t_r de 5,21 min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (<i>ESI</i> , modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).	189
Figura 4-153: Substâncias putativamente identificadas (<i>ESI</i> + e <i>ESI</i> -) nas raízes dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi	

mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, A = alcaloide, L= limonoide, F= flavonoide. Espécies Sad= Sadia, Inf= Infectado. DUE = Detectado em uma única espécie.	191
Figura 4-154 Substâncias putativamente identificadas (<i>ESI</i> + e <i>ESI</i> -) nos caules inferiores dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, A = alcaloide, L= limonoide, F= flavonoide. Espécies Sad= Sadia, Inf= Infectado.	192
Figura 4-155 Substâncias putativamente identificadas (<i>ESI</i> + e <i>ESI</i> -) nos caules superiores dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, A = alcaloide, L= limonoide, F= flavonoide, Cic= ciclopeptídeo. Espécies Sad= Sadia, Inf= Infectado. DUE = Detectado em uma única espécie.	192
Figura 4-156 Substâncias putativamente identificadas (<i>ESI</i> + e <i>ESI</i> -) nas folhas dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: C = cumarina, A = alcaloide, L= limonoide, F= flavonoide, Cic= ciclopeptídeo. Espécies Sad= Sadia, Inf= Infectado. DUE = Detectado em uma única espécie.	193
Figura 4-157 Variação dos metabólitos secundários (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos caules inferiores e raízes dos enxertos sadios e infectados(código de identificação dos metabólitos na Tabela 4-18).....	194
Figura 4-158 Variação dos alcaloides (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos órgãos dos enxertos sadios e infectados(código de identificação dos metabólitos na Tabela 4-18)	195
Figura 4-159: Alcaloides acridônicos avaliados no trabalho de Foutosa e colaboradores (2013) (FOUOTSA et al., 2013), frente a diferentes espécies de bactérias.	196

Figura 4-160 Variação das cumarinas seselina e xantiletina (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos órgãos dos enxertos sadios e infectados e nos pés francos de *C. limonia* e *C. sinensis* 197

RESUMO

“BUSCA DE BIOMARCADORES COMO INDICADORES DO MECANISMO DE DEFESA DA LARANJA “PERA” À INFECÇÃO DE CVC ATRAVÉS DE ANÁLISE METABONÔMICA”. O trabalho descreve a busca e identificação de prováveis biomarcadores relacionados ao mecanismo de defesa acionado pelas plantas ao processo de infecção de *Xylella fastidiosa*, bactéria causadora da Clorose Variegada do Citros (CVC), que é uma das mais sérias doenças causadoras de prejuízos na citricultura brasileira. Para isso, avaliou-se através de ferramentas quimiométricas e de métodos analíticos como, CLUE-ESI-QToF a variação metabólica entre pés francos de *C. sinensis* e *C. limonia* na busca e identificação de biomarcadores que pudessem indicar o mecanismo bioquímico que explicasse a resistência deste último frente a CVC. Também foram analisados enxertos de *Citrus sinensis* sobre *C. limonia* sadios e infectados com a *X. fastidiosa* na busca de biomarcadores para tentar associá-los às rotas metabólicas e prover uma explicação do mecanismo de defesa da espécie vegetal no processo de combate à infecção. Para que tal objetivo fosse alcançado foram utilizados bancos de dados da literatura como também foi criado um banco de dados de metabólitos secundários do gênero *Citrus* com todos os metabólitos já registrados na literatura, possibilitando uma melhor seleção e mais fácil identificação desses biomarcadores. As ferramentas quimiométricas (PCA, HCA, S-plot) aplicadas aos dados obtidos nos estudos de CL-EM permitiram discriminar 47 compostos, dos quais 35 foram identificados putativamente, como sendo responsável pelo processo de resistência do *C. limonia* ao processo de infecção da bactéria, onde propõe-se que os aspectos químicos relacionados a tal característica se deve às altas concentrações das cumarinas seselina e xantiletina nas folhas que impediria o processo inicial de adesão das bactérias nos vasos xilemáticos como também as maiores concentrações de flavonoides que desempenhariam o papel de agente bactericida. Nas análises dos enxertos sadios e infectados foi possível discriminar 41 compostos, dos quais 30 foram identificados putativamente, onde a análise dos aspectos metabólitos indicaram que durante o processo infeccioso há uma alta expressão dos genes da família poliketide sintase do qual é responsável pela alta produção dos alcaloides acridônicos nos caules e raízes infectados, como também dos flavonoides nas folhas infectadas. Podendo ser associado como um mecanismo de defesa.

ABSTRACT

"SEARCHING OF BIOMARKERS AS AN ORANGE PERA DEFENSE MECHANISM INDICATORS AGAINST CVC INFECTION THROUGH METABONOMICS ANALYSIS." This paper describes the search and identification of probable biomarkers related to defense mechanism triggered by the plants to the infection process of *Xylella fastidiosa*, bacterium that causes Citrus Variegated Chlorosis (CVC), which is one of the most serious diseases that cause losses in the Brazilian citrus industry. For this purpose, it was evaluated by chemometric tools and analytical methods such as, UPLC-ESI-QToF the metabolic variation between seedlings developed by seed of *Citrus sinensis* and *C. limonia* in the search and identification of biomarkers that could indicate the biochemical mechanism that would explain the resistance of *C. limonia* against CVC. It was also analyzed seedlings, healthy and infected by *X fastidiosa*, of *C. sinensis* grafted on *C. limonia* in the searching of biomarkers to attempt to associate them with the metabolic routes and provide a defense mechanism explanation these seedlings against the infection process. For this objective to be achieved it has been used online databases as was also set up a secondary metabolite database of *Citrus* genus with all the metabolites recorded in the literature, enabling better selection and easier identification of these biomarkers. The chemometric tools (PCA, HCA, S-plot) applied to the data obtained in studies of LC-MS, discriminating 47 compounds, of which 35 were putatively identified as being responsible for *C. limonia* resistance process against to the bacterial infection process, where proposes that the chemical aspects related to this characteristic is due to the high concentrations of coumarins Seselin and Xanthyletin in the leaves that would prevent the initial bacterial adhesion process in xilematics vessels as well as proposes the highest flavonoid concentrations that would play the role of bactericidal agent. In the analysis of healthy and infected grafts it was possible to discriminate 41 compounds, of which 30 were putatively identified, where the analysis of metabolites aspects indicated that during the infectious process there is a high expression of the family genes polyketide synthase which is responsible for high production alkaloids acridonicos in the infected roots and stems as well as in infected leaves of flavonoids. It may be associated as a defense mechanism.

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Família Rutaceae	1
1.2	Citricultura Brasileira	2
1.2.1	Enxertia	3
1.2.2	Doenças Citrícolas	4
1.3	Clorose Variegada Dos Citros (CVC)	5
1.3.1	Sintomatologia da CVC	6
1.3.2	Transmissão e Medidas de Controle da CVC	8
1.3.3	Agente Causal: <i>Xylella fastidiosa</i>	10
1.3.4	Histórico da <i>Xylella fastidiosa</i>	12
1.3.5	Interação Patógeno - Hospedeiro: Possíveis Mecanismos de Patogenicidade e Resistência	14
1.4	Característica química do enxerto de <i>Citrus sinensis</i> sobre <i>C. limon</i>	18
1.5	Metabolômica/Metabonômica	22
1.5.1	Biomarcadores	25
1.5.2	Análises Metabonômicas	26
1.6	Análises quimiométricas.....	28
1.7	Banco de dados metabolômico	29
1.8	Quimiossistemática.....	31
2	OBJETIVOS.....	37
2.1	Objetivo Geral	37
2.2	Objetivos Específicos.....	37
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	39
3.1	Materiais	39
3.1.1	Solventes.....	39
3.1.2	Colunas cromatográficas	39
3.1.3	Materiais diversos.....	39
3.2	Equipamentos	40
3.2.1	Purificador de água.....	40
3.2.2	Centrífuga.....	40
3.2.3	Moinhos.....	40
3.2.4	Balanças analíticas.....	40
3.2.5	Dispersadores / Homogeneizadores	40
3.2.6	Banho de ultrassom.....	40
3.2.7	Cromatógrafo Líquido	41

3.2.8	Espectrômetros de Massa	41
3.3	Softwares de processamento e análise e interpretação de dados	41
3.3.1	Processamento e análise de dados	41
3.3.2	Interpretação de dados	41
3.4	Levantamento bibliográfico	42
3.4.1	Ferramenta de pesquisa	42
3.4.2	Repositório de artigos científicos e livros	42
3.5	Material vegetal.....	42
3.5.1	Preparo dos enxertos e pés francos	42
3.5.2	Inoculação da bactéria <i>X. fastidiosa</i>	43
3.5.3	Preparo do material vegetal.....	43
3.6	Preparo das amostras para análises	44
3.7	Avaliação da metodologia de extração via CLAE	46
3.8	Análise da variação do perfil químico via CLUE-ESI-QToF	47
3.9	Construção do banco de dados de <i>Citrus</i>	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Banco de dados do gênero <i>Citrus</i>	49
4.2	Método de extração	51
4.3	Estudo Metabonômico	53
4.3.1	Avaliação da variação do perfil cromatográfico dos extratos de <i>Citrus</i> estudados via CLUE-ESI-QToF	54
4.3.2	Organização e pré-tratamento dos dados.....	59
4.3.3	Investigação da relação susceptibilidade-resistência entre as espécies de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i> à CVC	61
4.3.4	PCA e HCA das amostras de <i>C. sinensis</i> e <i>C. limonia</i>	61
4.3.5	Análises discriminantes dos biomarcadores via <i>S-plot</i> dos pés francos das análises no modo positivo de ionização	65
4.3.6	Análises discriminantes dos biomarcadores via <i>S-plot</i> dos pés francos das análises no modo negativo de ionização	103
4.3.7	Aspectos metabólicos no processo de resistência	140
4.3.8	Investigação do provável mecanismo de defesa de <i>C. sinensis</i> enxertado sobre <i>C. limonia</i> frente à CVC	151
4.3.9	PCA e HCA das amostras de enxertos infectadas e sadias.....	151
4.3.10	Análises discriminantes dos biomarcadores via <i>S-plot</i> dos enxertos das análises no modo positivo de ionização	156
4.3.11	Análises discriminantes dos biomarcadores via <i>S-plot</i> dos enxertos das análises no modo negativo de ionização	178
4.3.12	Aspectos metabólicos em resposta ao processo de infecção da <i>X. fastidiosa</i>	190
5	CONCLUSÕES.....	201

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	204
ANEXO	220

1 INTRODUÇÃO

1.1 Família Rutaceae

A ordem Sapindales (nova classificação para a antiga ordem Rutales) é formada pelas seguintes famílias: Rutaceae, Meliaceae, Burseraceae, Simaroubaceae, Anacardiaceae, Sapindaceae, Nitrariaceae, Kirkiaceae, Bierbersteiniaceae (APG III, 2009).

A família Rutaceae constitui o maior grupo da ordem Sapindales, possuindo cerca de 170 gêneros e 2040 espécies que variam de ervas arbustivas a árvores (KUBITZKI, KALLUNKI E DURETTO, 2011), amplamente distribuídas nas regiões tropicais e temperadas do mundo, havendo uma maior ocorrência na América tropical, sul da África, Ásia e Austrália (PORTER; ELIAS, 1979; BAYER et al., 2009). No Brasil ocorrem 33 gêneros e cerca de 194 espécies, onde o centro de diversidade são a Mata Atlântica e a Amazônia (PIRANI; GROppo, 2016). Esta família é formada pelas subfamílias Amyridoideae, Aurantioideae, Cneoroideae Rutoideae, sendo as três últimas que abrigam o maior número de gêneros e espécies (MORTON E TELMER, 2014).

A Rutaceae destaca-se das demais famílias por abrigar espécies de grande importância econômica, como aquelas do gênero *Policarpus* que fornecem a poliacarpina, um alcaloide utilizado no tratamento do glaucoma (CHASE; MORTON; KALLUNLI, 1999); gênero *Euxylophora*, *Zantozylum*, *Flindersia* e *Balfouidendron* que são utilizadas na indústria madeireira (LORENZI, 1992; CARVALHO, 1994; RICHTER; DALLWITZ, 2009); as espécies dos gêneros *Boronia*, *Choisya*, *Poncirus*, *Skimmia*, *Clausena*, *Correa*, *Murraya*, *Ravenia* e *Triphasia* que são utilizadas em ornamentos (CHASE; MORTON; KALLUNLI, 1999; PIRANI, 1999); e as espécies de gênero *Citrus* que abastecem o mercado mundial com seus frutos (laranjas, limões, tangerinas, limas e outros) destinados às indústrias para produção de sucos e concentrados como também seu consumo *in natura*, e seus óleos essenciais destinados às indústrias de cosméticos e perfumaria (SOUZA, 2001). Outro fator que evidencia essa família, do ponto de vista químico, é a sua vasta variedade de metabólitos secundários que não são comuns nas outras famílias da ordem Sapindales. Os mais representativos são os alcaloides derivados do ácido antranílico, cumarinas, flavonoides e limonoides

(WATERMAN, 1999).

1.2 Citricultura Brasileira

Entre os principais grupos de frutas no mundo os citros se destacam em volume de produção estando em quarto lugar, perdendo apenas para as culturas de banana, melancia e maçã, e mundialmente são produzidas em torno de 68,3 milhões de toneladas de laranja(ANDRADE, 2012). Os países que se destacam como maiores produtores mundial de citros são: Brasil representando 37,0%, Estados Unidos 20,4%, China 12,6%, México 8,8% e Espanha com representatividade de 8,6% (FAO, 2010). O setor agroindustrial citrícola no Brasil rendeu uma parcela equivalente do PIB de US\$ 6,5 bilhões, gerando 230 mil empregos diretos e indiretos e uma massa salarial de R\$676 milhões (NEVES et al., 2010).

A laranja (*Citrus sinensis*) representa cerca de 44% da produção Frutícula nacional, conferindo ao Brasil o título de maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo com 50% da participação mundial, sendo o estado de São Paulo a ocupar a 1ª posição nacional com 71,2% da produção(NEVES et al., 2010; ANDRADE, 2012). A citricultura brasileira se encontra presente em todos os Estados da Federação, sendo a região Sudeste, representada por São Paulo e Minas Gerais, a deter o título de maior produtora de laranja representando 80% da produção nacional. Estados que também têm importante participação na citricultura brasileira, embora menos representativas, e indicam uma potencialidade de expansão da cultura são: Bahia (6,0%), Sergipe (4,2%), Paraná (2,8%) e Rio Grande do Sul (1,8%) (ABECITROS [ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA EXPORTADORES DE CITROS], 2010; AGRIANUAL, 2010; CITRUS BR, 2012).A liderança brasileira na produção de laranja se deve graças a alteração do padrão tecnológico que levaram a um incremento de produtividade, dando destaque a tais medidas:utilização de mudas de melhor qualidade, provenientes de viveiros telados e de procedência genética; aprimoramento do conhecimento aplicado para melhorar o manejo dos pomares e a qualidade do controle fitossanitário;melhores combinações de porta-enxerto (NEVES et al., 2010).

1.2.1 Enxertia

A enxertia é uma técnica que consiste em transplantar uma muda chamada copa, cavaleiro ou enxerto, em outra planta denominado cavalo, ou porta-enxerto, provida de raízes. A copa é a planta que se pretende propagar, devido ao seu valor comercial, e o porta-enxerto geralmente é uma planta proveniente de sementes ou casca, de elevada rusticidade (**Figura 1-1**). Nesta técnica cria-se uma associação simbiótica benéfica para ambos os indivíduos que são geneticamente diferentes. Desta maneira a nova variedade da copa sofre alterações que são induzidas pelo porta-enxerto, tais como: mudança da época de maturação, peso do fruto, produtividade, precocidade da produção, coloração da casca e do suco, permanência dos frutos nas plantas, conservação da fruta após a colheita, transpiração das folhas, fertilidade do pólen, capacidade de absorção, teores de açúcares e ácidos, síntese e utilização de nutrientes, tolerância a salinidade, resistência à seca e ao frio, resistência e tolerância a moléstias e pragas e resposta a produtos de abscisão (POMPEU JÚNIOR, 1991; CÉSAR, 1996; GARCIA, 2005).

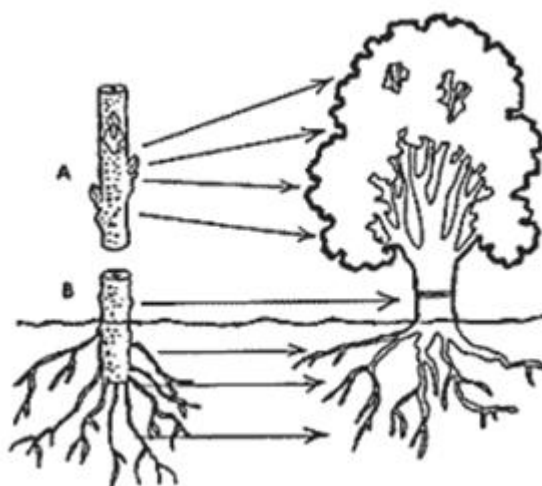


Figura 1-1: Esquema de propagação por enxertia. **A** - Copa (espécie a ser propagada); **B**- Porta-enxerto (espécies de rústica)(MORALES, 2010).

A escolha do porta-enxerto é um fator importante ao se levar em conta o objetivo final da produção. Como ocorre em todas as regiões citrícolas do mundo em que há uma preferência por dado tipo de porta-enxerto, no Brasil não é diferente, onde o porta-enxerto mais utilizado é o Limão Cravo (*Citrus limonia*). Sendo utilizados em todo o país, em diferentes climas, tipos de solo e em

combinação com diferentes variedades. Essa preferência pelo Limão Cavo como porta-enxerto se dá pela sua resistência à seca, precocidade na produção e maturação dos frutos e boa produtividade. A laranja 'Pêra' enxertada sobre o limão 'Cravo' (**Figura 1-2**) é a planta mais utilizada na citricultura brasileira nos últimos anos. (ABDELNUR, 2006; EMBRAPA, 2003). Contudo, apesar dessas características vantajosas o *C. limonia* (Limão Cravo) quando usado no processo de enxertia (espécie desenvolvida em conjunção simbiótica com outra espécie) como porta-enxerto não conferesistência ou tolerância a Clorose Variegada do Citrosà copa (*C. sinensis*), diferentemente de quando é desenvolvido como pé franco (espécie nascida e desenvolvida individualmente a partir de sementes).

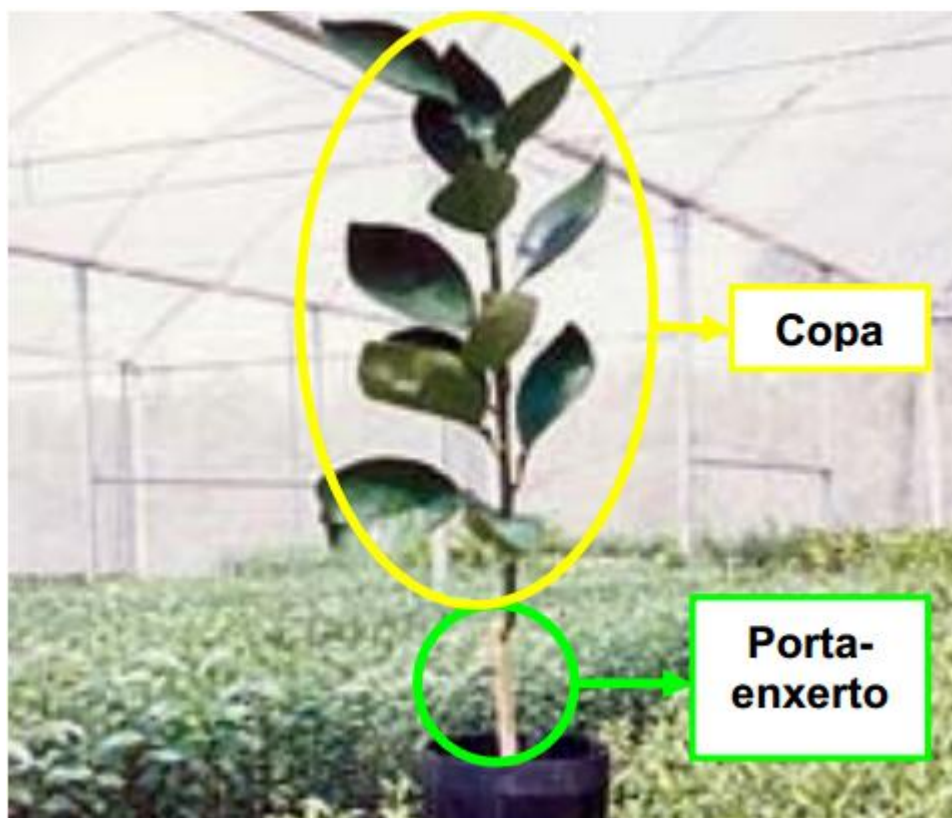


Figura 1-2: Laranja Pêra - *C. sinensis* - (copa) enxertada sobre Limão Cravo - *C. limonia* - (porta-enxerto) (ABDELNUR, 2006).

1.2.2 Doenças Citrícolas

Como toda cultura, a citricultura é alvo de várias doenças e pragas que causam a diminuição da produção e da qualidade dos frutos, e sem medidas de controle pode tornar o pomar improdutivo ou até mesmo levar a sua irradicação,

onde na última década causou a perda de mais de 40 milhões de árvores que gerou uma perda de aproximadamente de 80 milhões de caixas de 40,2 kg por ano (NEVES et al., 2010).

Muitas dessas doenças se devem ao inconveniente de alicerçar a citricultura em uma única espécie de porta-enxerto, como já foi constatado na década de 40 pelas grandes perdas ocasionadas pela Tristeza dos Citros que dizimou quase toda citricultura brasileira por utilizar apenas a Laranja Azeda (*Citrus aurantium*) como porta-enxertos. Isto posteriormente levou a utilização do Limão Cravo como porta-enxerto pelas qualidades já citadas acima, além do fato de ser resistente à Tristeza dos Citros. Contudo a baixa diversidade de espécies de porta-enxertos conduzem a uma alta vulnerabilidade da citricultura à ocorrência de epidemias conhecidas (Exocortis, Xiloporose, Gomose e Declínio) e de novas doenças (POMPEU JUNIOR, 1991; JORGE, 2003).

As principais doenças citrícolas que causam danos significativos são: Leprose dos Citros, Gomose de *Phytophthora*, Huanglongbeing (HLB), Cancro Cítrico, Declínio, Mancha Alternaria, Morte Súbita dos Citros (MSC), Podridão Floral dos Citros, Rubelose, Tristeza – *Citrus Tristeza Virus* (CTV), Mancha Preta do Citros (MPC) e Clorose Variegada dos Citros (CVC), dando destaque para a última que é o foco desta tese. A CVC é uma das fitopatologias mais importante da citricultura brasileira, onde só no estado de São Paulo cerca de 6 milhões de árvores são perdidas anualmente, chegando a causar um prejuízo de US\$ 120 milhões de dólares por ano (BOVÉ; AYRES, 2007).

1.3 Clorose Variegada Dos Citros (CVC)

A Clorose Variegada dos Citros (CVC), anteriormente denominada de “amarelinho dos citros”, é uma doença que ataca todas as variedades de laranjas doces comerciais (*Citrus sinensis* L. Osbeck) – Pera, Natal, Hamlim, Valência, Folha Murcha, Baianinha, Barão, entre outras - independente do porta-enxerto empregado – limão Cravo, Trifoliata, tangerinas Cleópatra e Sunki, laranja Caipira, etc - (ROSSETTI; DE NIGRI, 1990; CAVALCANTI, 2005). Esta fitopatologia foi observada pela primeira vez em 1984 na Argentina (BRLANSKY et al., 1991) e os primeiros relatos dessa doença no território brasileiro foram em 1987 no estado de São Paulo e no Triângulo Mineiro atacando laranjeiras doces (DE NEGRI, 1990;

ROSSETTI et al., 1990). Atualmente essa doença se encontra disseminada nos estados de Sergipe, Bahia, Rio de Janeiro, Santa Catarina, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e São Paulo e no Distrito Federal (LARANJEIRA et al., 2005).

1.3.1 Sintomatologia da CVC

Os sintomas da CVC se propagam nas folhas, ramos e frutos, até o dado momento não havendo relatos de anomalia ou disfunção nas raízes dos citros. Nas plantas afetadas os sintomas típicos observados são manchas amareladas nas folhas, daí o nome inicialmente empregado de “amarelinho dos citros”, e redução do tamanho dos frutos (EMBRAPA, 2010). A taxa de contaminação da doença é menor em plantas mais velhas, sendo que à medida que a planta infectada é mais jovem mais rapidamente ela será totalmente tomada pela infecção. Os sintomas característicos são mais observáveis nas folhas maduras da copa, enquanto aquelas jovens de plantas severamente afetadas não são notadas tais anomalias (ROSSETTI; DE NIGRI, 1990).

Os sintomas nas folhas podem apresentar-se de três formas: clorose intravenal típica da deficiência de zinco, afetando todo o limbo (**Figura 1-3: a, b**); clorose pontuada de distribuição ao acaso (**Figura 1-3: c,d**), semelhante a picadas de insetos; clorose contínua e restrita a algumas áreas da folha (**Figura 1-3: e,f**). À medida que a doença avança os sintomas se estendem para os ramos, sendo comum a desfolha e a morte de ramos ponteiros (**Figura 1-3: g**). As gemas dos ramos infectados tendem a brotar com uma frequência maior, comparados aos saudáveis, além do fato de haver um encurtamento dos entre-nós dando assim uma aparência de “envassourado” aos ramos (EMBRAPA, 2010).

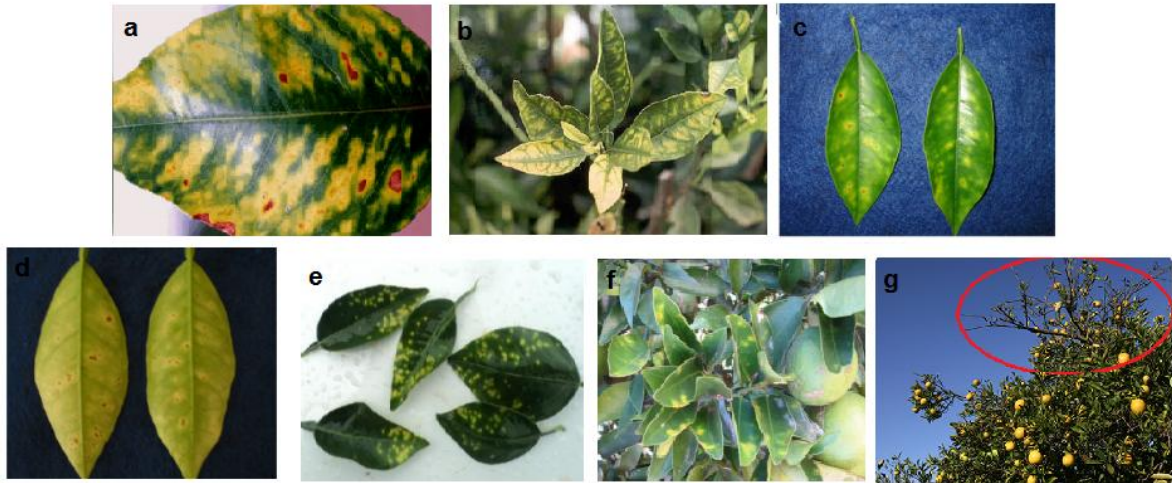


Figura 1-3:Sintomas foliares da CVC: **a,b** -clorose intravenal; **c, d** - clorose pontuada; **e, f** - clorose contínua; **g** - desfolha e morte de ramos ponteiros(COLETTA-FILHO; BORGES; MACHADO, 2000; FUNDECITRUS, 2007).

Nos frutos as anomalias devido à infecção aparecem após os sintomas foliares, e apenas nos ramos já afetados pela doença. Os frutos afetados sofrem uma interrupção do seu crescimento tornando-se pequenos e duros a ponto de causar danos às máquinas de moagem das fábricas de suco concentrado (**Figura 1-4: a-c**). Observa-se também que esses frutos tendem a produzirem em cachos (**Figura 1-4: d**), além do fato de possuírem uma casca mais fina, em relação aos sadios, que facilita ocorrência de queimaduras do sol (**Figura 1-4: e**), tornando-os imprestáveis para comercialização *in natura* quanto para produção de suco (PALAZZO; CARVALHO, 1992; EMBRAPA, 2010).



Figura 1-4: Sintomas da CVC nos frutos: **a, b, c** – comparação dos frutos sadios e doentes; **d** – frutos produzidos em cachos; **e** – frutos com queimaduras de sol (COLETTA-FILHO; BORGES; MACHADO, 2000; FUNDECITRUS, 2007).

As características físicas e químicas internas dos frutos doentes são demasiadamente afetadas, havendo um aumento na concentração de sólidos solúveis e na acidez. Somado a isso, foi averiguado uma diminuição no número de frutos produzidos, como também um decréscimo no peso e diâmetro daqueles doentes, sendo que os danos na produção podem chegar a 80% para a variedade Pera, 67% para a Natal e 76% para a Valência (LARANJEIRA; PALAZZO, 1994, 1999; LARANJEIRA, 2002).

1.3.2 Transmissão e Medidas de Controle da CVC

A transmissão da doença ocorre através das cigarrinhas da família Cicadellinea que são insetos que se alimentam da seiva bruta das plantas, sendo que, até o momento já foram identificadas 12 espécies transmissoras, dando destaque para *Bucephalagonia xanthophis*, *Oncometopia facialis*, *Dilobopterus costalimae*, *Homalodisca ignorata*, *Acrogonia citrina* e *Molomea cincta* (Figura 1-5) (VET et al., 1983; SWALLOW, 1985; LOPES et al., 1996; PURCELL; HOPKINS, 1996; ROBERTO et al., 1996, 2000; YAMAMOTO et al., 2001; DALLA PRIA JR et al., 2002; EMBRAPA, 2010).

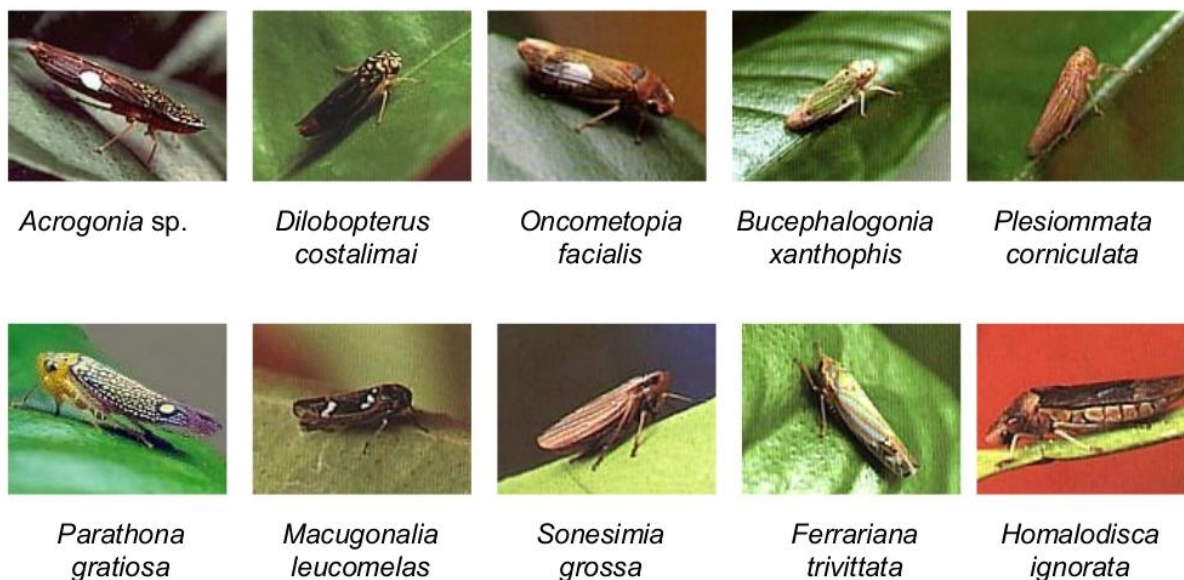


Figura 1-5: Cigarrinhas vetores da transmissão da CVC (SOUZA, 2014).

As cigarrinhas que atacam os citros alimentam-se de grandes quantidades de seiva do xilema das plantas e em condições naturais são polífigas, alimentando-se e desenvolvendo-se em árvores, arbustos e ervas daninhas que geralmente se encontram presentes perto dos pomares de citros (MARUCCI; CAVICHIOLI; ZUCCHI, 1999; LOPES; GIUSTOLIN, 2000). Estudos constam que diferentes espécies desses insetos possuem hábitos alimentares distintos, onde em viveiros, principalmente nos dois primeiros anos de vida da muda, *B. xanthophis* predomina, enquanto em pomares em produção com plantas de altura mais elevada devido ao seu hábito arbóreo encontra-se geralmente: *A. citrina* que se alimenta sobre as folhas novas; *D. costalimai* que prefere ramos jovens; *O. facialis* que prefere ramos maduros de citros (PAIVA et al., 1996; FUNDECITRUS, 2000; ROBERTO et al., 2000; YAMAMOTO; LOPES, 2004).

Outra forma de transmissão é pelo processo de enxertia por borbulha, entretanto por encostia ela é mais eficiente. Além desses processos a transmissão também pode acontecer por sementes e frutos de laranja doce com sintomas de CVC, reforçando o cuidado com a propagação de mudas saudáveis, já que é na fase do viveiro que a transmissão se torna mais crítica. Até o dado momento não foi observada transmissão da CVC por equipamentos cortantes (LI, 1997; NUNES, 1999; LI et al., 2003; EMBRAPA, 2010).

Apesar dos avanços científicos a respeito da CVC tenham crescido, atualmente ainda não há um método eficiente de eliminá-la, restando apenas uma integração de medidas em conjunto no sentido de controlá-la. A primeira e mais importante medida adotada é a utilização e comercialização de mudas sadias produzidas em viveiros livres de insetos vetores da CVC. Outra importante medida é a poda de mudas infectadas em plantas adultas com poucos sintomas, em plantas novas essa medida é ineficaz. Plantas de 2 a 4 anos severamente afetadas, que possuam muitos ramos com frutos pequenos, a única alternativa é a sua erradicação, já que a poda não terá bons resultados, pois o patógeno da doença já se encontra disseminado até no tronco (CARLOS et al., 1997; EMBRAPA, 2010). O controle químico utilizado no sentido de conter a disseminação da CVC só funciona no âmbito de eliminar as cigarrinhas que são os vetores do patógeno, tendo como uso inseticidas sistêmicos no tronco das plantas. Ainda visando o controle da disseminação da doença pelas cigarrinhas, medidas visando a eliminação de ervas daninhas é importante para controlar a população desses insetos. Somado a isso, o conhecimento e controle nos pomares de espécies de plantas invasoras ou nativas que podem ser hospedeiras do patógeno é importante, pois muitas delas não evidenciam sintomas por serem tolerantes ou resistentes à bactéria *X.fastidiosa*(EMBRAPA, 2010).

1.3.3 Agente Causal: *Xylella fastidiosa*

A *Xylella fastidiosa*, única representante do gênero *Xylella*, é uma bactéria Gram-negativa, aflagelada (não possui mobilidade), baciloforme, estritamente aeróbica, não apresenta pigmentação, apresenta crescimento fastidioso em meios de cultura e é restrita ao xilema das plantas (**Figura 1-6: a-e**), como seu próprio nome sugere, podendo ser encontrada nas sementes, frutos, caules, folhas e raízes de citros (WELLS et al., 1987; HOPKINS, 1989; CHAGAS; ROSSETI; BERETTA, 1992; PURCELL; HOPKINS, 1996; BERETTA et al., 1997; LARANJEIRA, 2002; LI et al., 2003). Em seus insetos vetores (cigarrinhas) ela é encontrada no lúmen do canal alimentar (**Figura 1-6: f,g**) (HOPKINS, 1995; PARRA et al., 2005).

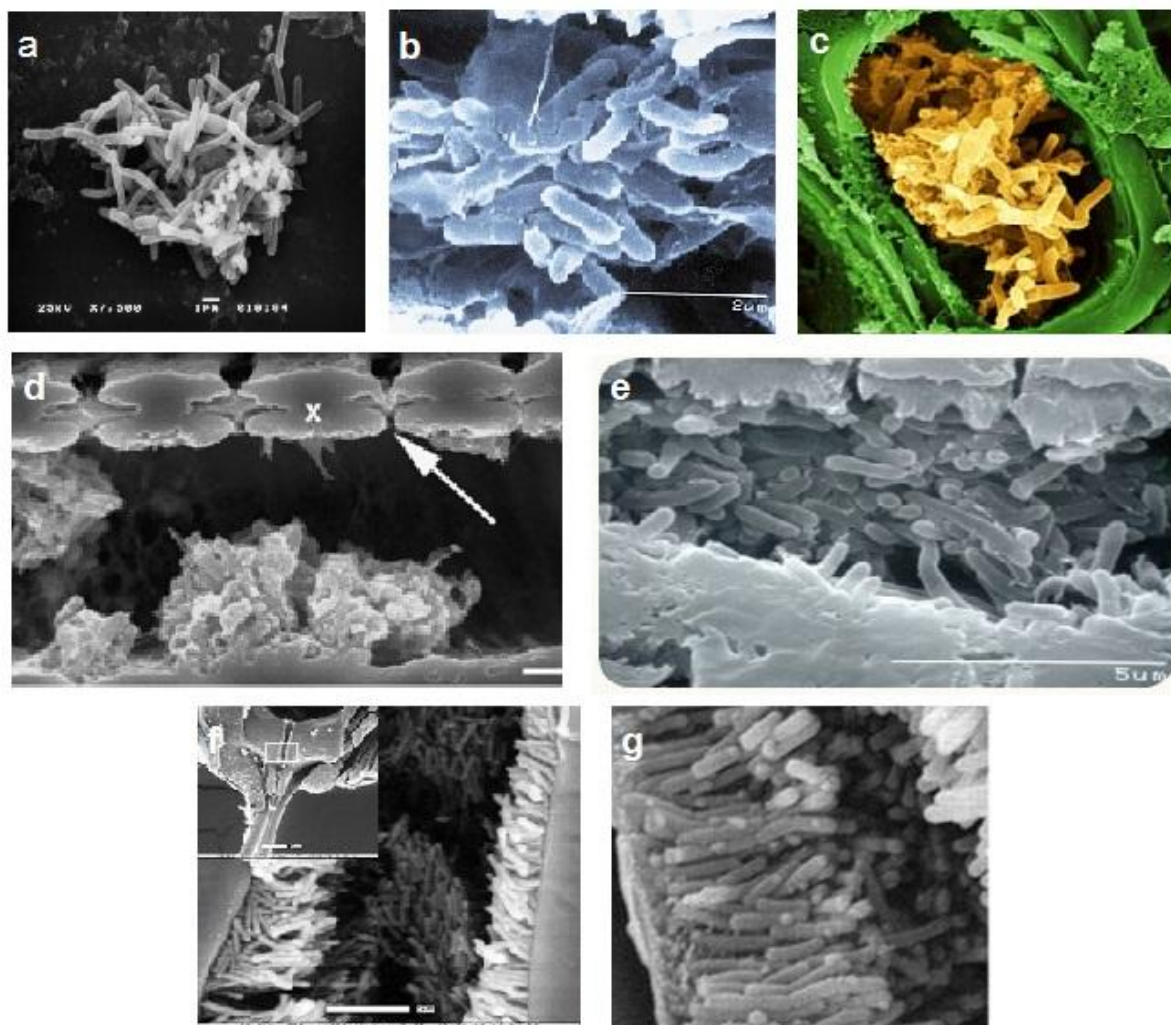


Figura 1-6:Imagens de *X. fastidiosa* observada em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV):**a,b** –agregado de bactérias;**c,d, e** -agregados de bactérias colonizando o xilema;**f, g** – cavidade bucal da cigarrinha infectada com a bactéria (DALKE, 2002; NEWMAN et al., 2004; PESQUISA FAPESP, 2010; FUNDECITRUS, 2016).

A *X. fastidiosa* possui uma ampla faixa de hospedeiros, englobando espécies de cerca de 63 famílias distribuídas em 193 gêneros e 309 espécies, sendo plantas mono e dicotiledôneas(BAKER et al., 2015). Devido a essa vasta e diversificada gama de hospedeiros, somada ao grande número de insetos vetores, torna-se praticamente impossível à erradicação da *X. fastidiosa* no cenário agrônômico.

Excetuando a África e a Oceania, as doenças causadas por essa bactéria já foram registradas em todos os outros continentes, mas apresenta uma ocorrência maior no continente americano, como pode ser observado na **Figura 1-7**.A velocidade com que essa doença se dissemina através dos seus vetores

naturais (cigarrinhas) e a vasta variedade de plantas hospedeiras, levou os países produtores de citros e videira, como a África do Sul e a Austrália, a tomarem medidas de controles extremo, classificando esse fitopatógeno como praga quarentenária A1. (BERISHA, 1998; LEU, 1993; RATHÉ, 2012; REDAK *et al.*, 2004).

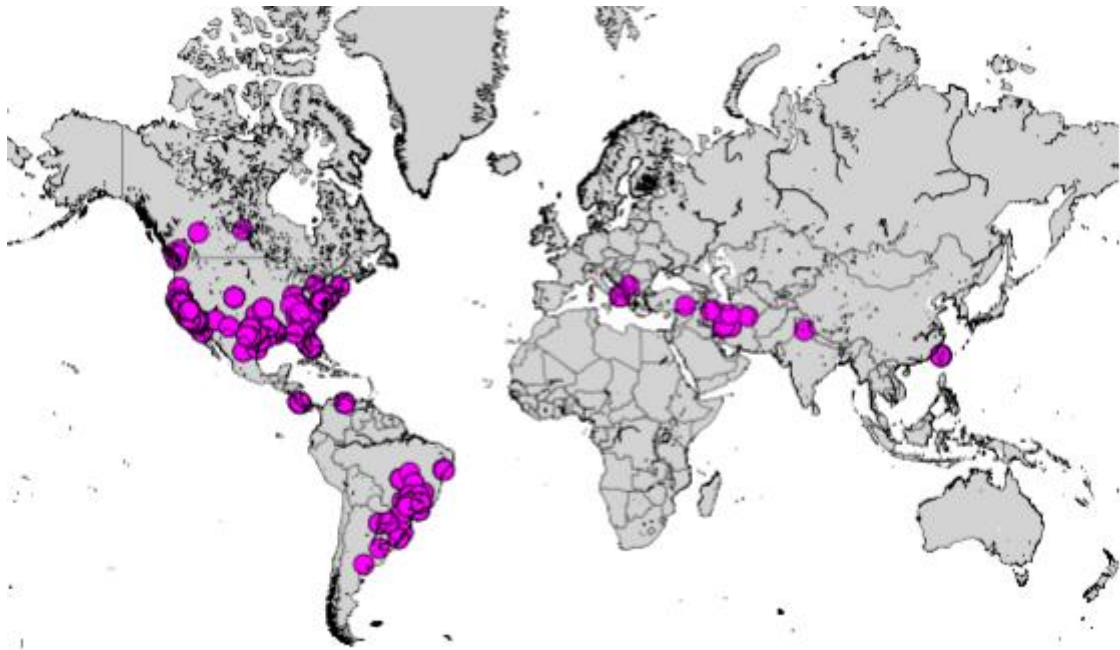


Figura 1-7:Mapa de distribuição de casos de *X. fastidiosa* causando algum tipo de doença(BAKER *et al.*, 2015).

1.3.4 Histórico da *Xylella fastidiosa*

O primeiro relato da *X. fastidiosa* registrado foi feito pelo fitopatologista Newton B. Pierce, onde ele em seu boletim técnico descreve uma doença atacando videiras, causando manchas cloróticas nas folhas e prejudicando o desenvolvimento das bagas no sul da Califórnia nos EUA. Nesse seu trabalho ele documenta que os primeiros poucos casos dela atacando videiras datam de 1884, passando a chamar atenção apenas em 1886, onde a partir desse ano até 1887 causou a morte de milhares de acres de videiras (PIERCE, 1892; WELLS *et al.*, 1987; PEARSON; GOHEEN, 1988).

Os danos causados na cultura de videira por esse fitopatógeno de identidade desconhecida e a velocidade com que se disseminava foi tão grande que suas plantações foram substituídas por culturas de citros e abacates. Teorias foram levantadas para a identidade do agente causal, onde foi proposto em 1888 que a causa da doença seria por fungo, sendo descartada tal teoria logo em seguida (GARDNER; HEWITT, 1974). Hewitt em 1954 propôs que a causa da doença seria devido à vírus habitantes no xilema da planta. Estes sendo transferidos através de enxertia de plantas doentes para plantas saudáveis (HEWITT et al., 1949; HEWITT, 1958). Contudo em 1971 essa teoria começou a ser refutada com o trabalho de Hopkins e Mortensen (1971), ao conseguirem redução dos sintomas da doença ao aplicarem tetraciclinas (antibiótico) na região radicular das videiras, sugerindo assim que se tratava de uma bactéria. Dois anos depois a *X. fastidiosa* foi observada nos xilemas de videiras por meio de microscopia eletrônica (GOHEEN; NYLAND; LOWE, 1973) e somente em 1978 que a teoria da causa da doença nessas plantas foi totalmente derrubada. Nesse período DAVIS, PURCELL e THOMSON (1978) (DAVIS; PURCELL; THOMSON, 1978), conseguiram o cultivo axênico da bactéria e conseguiram cumprir todas as etapas do Postulado de Koch, identificando o agente causal da doença como uma bactéria Gram-negativa. Em 1987 foi criado o gênero *Xyella* com uma única espécie representante a *X. fastidiosa*, entretanto quase cem anos antes Pierce já havia sugerido que a causa da doença que atacavam as videiras era devido à bactéria, mas na época ele não havia conseguido isolá-la, não podendo provar sua teoria. Em estudos recentes as linhagens da *X. fastidiosa* foram separadas nas seguintes subespécies: *X. fastidiosasubsp. piercei*, para as linhagens de videira, alfafa, amendoeira e bordo; *X. fastidiosasubsp. multiplex*, para as linhagens de pessegueiro, olmo, ameixeira, sicômoro e amendoeira; *X. fastidiosasubsp. pauca*, para linhagens de citros, e provavelmente café; *X. fastidiosasubsp. sandyi*, para linhagens de espirradeira, jacarandá, magnólia e *daylily*; e *X. fastidiosasubsp. tashke*, para linhagens de chitalpa (SCHAAD et al., 2004; SCHUENZEL et al., 2005; HERNANDEZ-MARTINEZ et al., 2007; RANDALL et al., 2009; JANSE; OBRADOVIC, 2010).

Na América do Sul a *X. fastidiosa* teve seus primeiros relatos em 1975 na Argentina e em 1978 no Brasil (Rio Grande do Sul), em ambos os países a

bactéria estava causando a escaldadura das folhas de ameixeira (*Prunus salicina*) (KITAJIMA; BAKARCIC; FERNANDES-VALIEGA, 1975; FRENCH; KITAJIMA, 1978). Como foi abordado no tópico anterior, seu primeiro relato atacando citros causando a CVC no Brasil foi em 1987 e somente em 1993 os postulados de Koch para essa moléstia foram cumpridos (LEE et al., 1993). Atualmente a subespécie *pauca* causadora da CVC, excetuando a Itália, limita-se ao continente americano (Figura 1-8), ocasionando grande prejuízo no setor agroindustrial do Brasil e EUA, e a grandes produtores de citros do mundo.

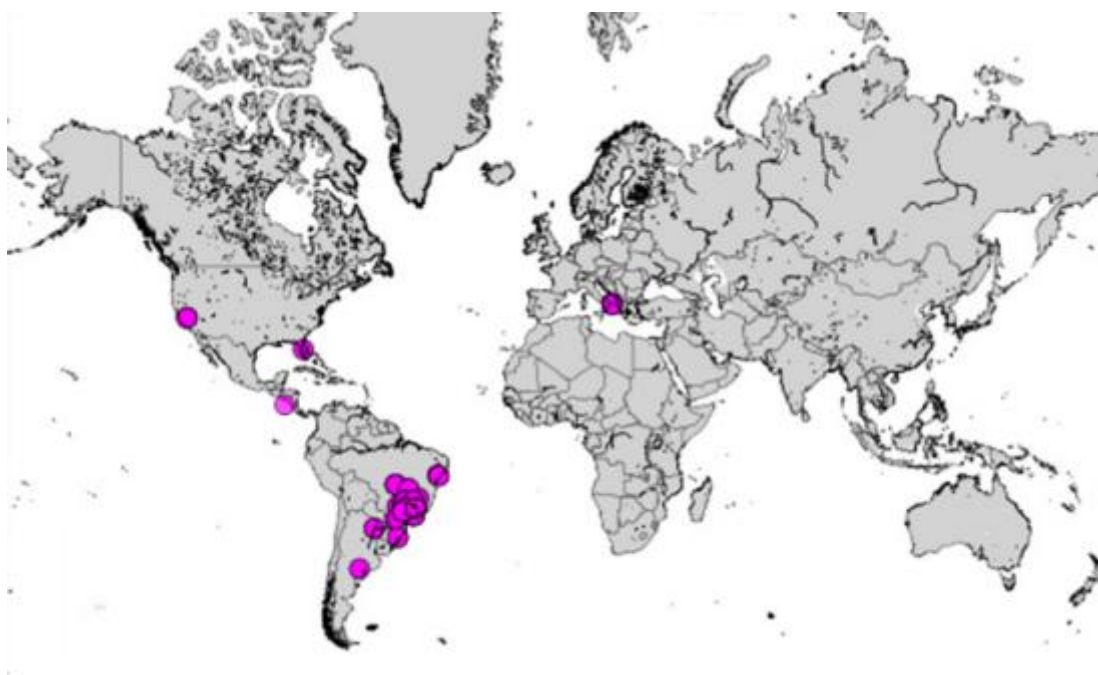


Figura 1-8:Mapa de distribuição da *X. fastidiosa* subsp. *pauca* responsável pela CVC(BAKER et al., 2015).

1.3.5 Interação Patógeno - Hospedeiro: Possíveis Mecanismos de Patogenicidade e Resistência

Como pode ser notado pelo que foi descrito anteriormente, a *X. fastidiosa* possui uma grande relevância tanto no âmbito econômico como científico, o que levou a ser o primeiro fitopatógeno a ter seu genoma totalmente sequenciado, possibilitando sugerir prováveis mecanismos de patogenicidade através da análise do genes (SIMPSON et al., 2000). Apesar desse avanço

científico, ainda não está bem claro como a *Xylella* se estabelece no hospedeiro e quais mecanismos de patogenicidade são empregados. Várias teorias foram levantadas a esse respeito, onde os principais são: disfunção do sistema condutor de água pela obstrução dos vasos xilemáticos causado por tilose, agregado de bactérias, formação de biofilme pelas bactérias ou a ação conjunta do agregado de bactérias e seu biofilme (**Figura 1-9**); fitotoxinas, que seria responsável pelos sintomas de queimaduras; alterações na concentração dos reguladores de crescimento (fitohormônios); e competição por nutrientes entre o hospedeiro e o fitopatógeno (MIRCETICH et al., 1976; FRENCH; KITAJIMA, 1978; LEE et al., 1982; HOPKINS, 1989; LEITE et al., 2002; SILVA-STENICO et al., 2009). Apesar de não haver um consenso sobre o mecanismo de fitopatogenicidade, a hipótese mais levantada e pesquisada no meio científico é o do bloqueio dos vasos xilemáticos do hospedeiro, impossibilitando o transporte de água do solo para as partes aéreas. Tal hipótese é sustentada devido aos sintomas apresentados pelo hospedeiro infectado serem característico aos sintomas de deficiência hídrica, em adição da redução da taxa de fotossíntese e de transpiração, diminuição da condutância estomática e do potencial de água na folha, somado ao fato que em plantas infectadas por CVC quando irrigada não houve redução da doença ou atenuação dos seus efeitos (MACHADO et al., 1994; MEDINA, 2002; HABERMANN et al., 2003; HAMMER; BASSLER, 2003).

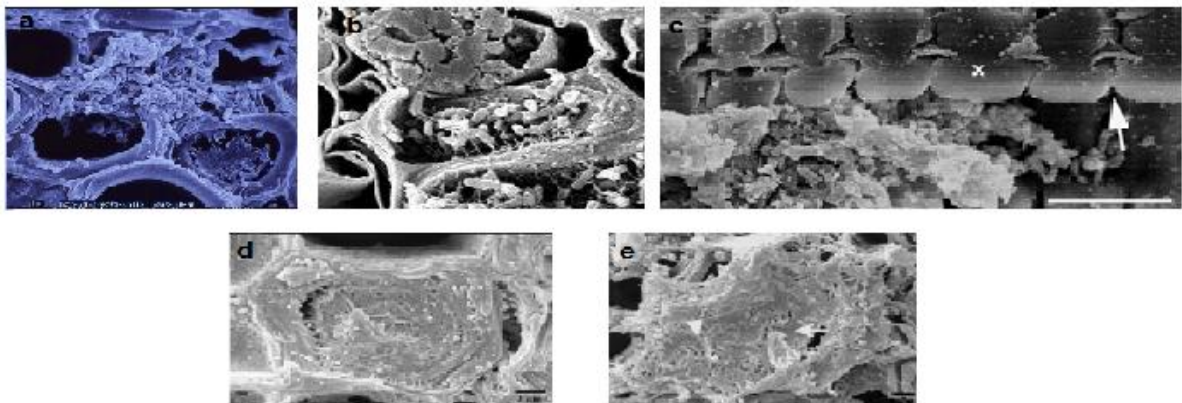


Figura 1-9: Agregados de bactérias obstruindo vasos xilemáticos: **a, b** – corte transversal do xilema; **c**- corte longitudinal do xilema; **d, e** – agregado bacteriado com formação de biofilme (NEWMAN et al., 2004; ALVES et al., 2009; KITAJIMA, 2010).

O estudo genômico da bactéria revelou genes ligados à biogênese de fímbrias e à biossíntese de exopolissacarídeos – EPS que são responsáveis pela

formação de agregado bacteriano e por sua adesão na superfície dos vasos xilemáticos, um fator importante para a colonização (HOPKINS, 1989; SIMPSON et al., 2000; SOUZA et al., 2006). Além de contribuir no processo de adesão, a biossíntese de EPS, denominada “goma fastidiana”, parece contribuir também no processo de fitopatogenicidade da *X. fastidiosa*, resultando na formação do biofilme bacteriano (DA SILVA et al., 2001). O biofilme é uma matriz que inclui ácidos nucleicos, proteínas, substâncias húmicas e o próprio EPS. Sabe-se que a formação de biofilme traz uma grande vantagem sob o hospedeiro, pois a sua formação promove proteção das células bacterianas contra fatores de defesa do hospedeiro, como toxinas e antibióticos; desidratação; aumento da capacidade das células bacterianas em conseguir nutrientes; adesão; e uma expressão coordenada eficiente dos genes de patogenicidade através do *quorum sensing*, conferindo uma boa adaptabilidade em diferentes ambientes (partes aéreas e raízes) do hospedeiro (HAMMER; BASSLER, 2003; STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004; BRANDA et al., 2005).

Vale a pena salientar que apesar da alta correlação entre os sintomas causados pelo estresse hídrico concorde com a teoria da oclusão dos vasos xilemáticos pelo biofilme da *X. fastidiosa*, não se deve descartar os outros mecanismos de patogenicidade, já que de acordo com o que foi abordado anteriormente, percebe-se que o agregado bacteriano no biofilme tem uma ação efetiva na captura de nutrientes no xilema do hospedeiro que é um ambiente pobre neste o que causaria um desbalanço nutricional. Variação esta observada por MACHADO, (1994), que constataram que em citros infectados houve um aumento na concentração de ácido abscísico (ABA), frutose, glucose, Ca^{2+} e Mg^{2+} e redução na concentração de Zn^{2+} e K^+ . A deficiência de zinco nas plantas infestadas pela bactéria pode sugerir uma diminuição na produção de ácido indolacético (AIA), pois a produção desses fitohormônio é mediada pelo zinco. Teoria essa corroborada pelos sintomas apresentados por plantas deficientes de zinco serem iguais aos da planta afetada por CVC, somado aos resultados obtidos ao se administrar AIA em videiras moderadamente resistentes a infecção da *X. fastidiosa*, houve uma inibição no desenvolvimento dos sintomas (HOPKINS, 1985; QUEIROZ-VOLTAN; PARADELA FILHO, 1999), o que apoia a hipótese da

causa de um desbalanço nutricional e nos reguladores de crescimento pela ação da *X. fastidiosa*.

Não são incomuns os sintomas apresentados pelas plantas estarem relacionados às suas próprias reações de resistência. Estudos de *X. fastidiosa* infectando videiras revelaram reações de resistência como deposição de goma, pectina e formação de tiloses por esse hospedeiro, como também foram observados a formação de cristais de oxalato de cálcio (**Figura 1-10:a**) nos vasos xilemáticos colonizados (MOLLENHAUER; HOPKINS, 1976; TYSON et al., 1985; FRY; MILHOLLAND, 1990). No caso da CVC também foram observados, por técnicas de Microscopia de Luz e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a formação de cristais próximos das colônias de bactérias no lúmen dos vasos do xilema das plantas, sendo possivelmente do flavonoide hesperidina (**Figura 1-10:b-e**) (QUEIROZ-VOLTAN; PARADELA FILHO, 1999; ALVES et al., 2009).

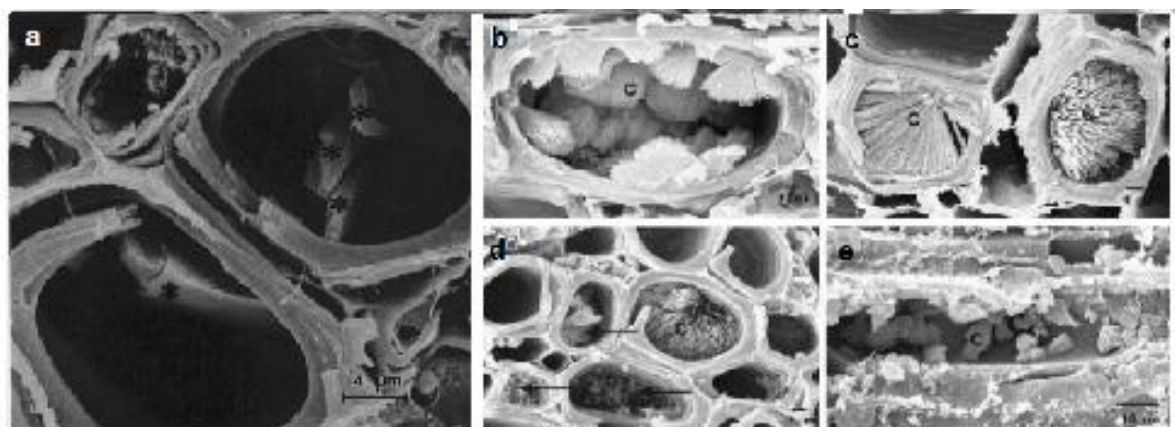


Figura 1-10: Imagens obtidas por MEV de cristais formados em vasos xilemáticos próximos às colônias de por *X. fastidiosa*: a – cristais de oxalato de cálcio em videira; b – e – cristais de hesperidina em citros. * = Cristais de oxalato; C = Cristais de hesperidina; → = Colônias de *X. fastidiosa* (FRY; MILHOLLAND, 1990; ALVES et al., 2009).

Contudo Alves (2003), sugere que esses cristais de hesperidina não estão associados à oclusão dos vasos xilemáticos, causando os sintomas de deficiência hídrica, mas é um mecanismo de defesa da planta contra a bactéria e que sua formação se deve à precipitação durante o preparo das amostras para análises de MEV, já que uma das etapas do preparo consiste em desidratar o material vegetal em acetona. Soares (2014), através de Espectrometria de MALDI Imagem constatou também a presença de hesperidina nas folhas de *C. sinensis*

infectadas e o aumento de sua concentração em relação às plantas saudias (**Figura 1-11**), corroborando o fato da atuação dessa substância como fitoalexina.

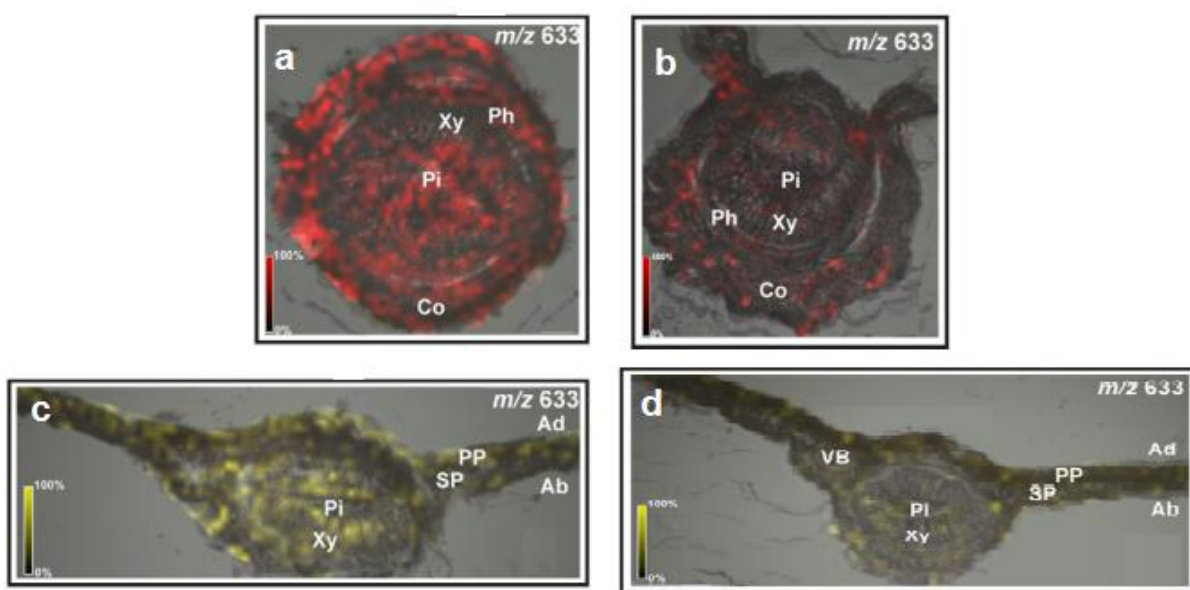


Figura 1-11: MALDI Imagem reconstruído com os íons m/z 633 $[M+Na]^+$ referente a hesperidina: **a** – corte transversal do pecíolo infectado; **b** - corte transversal do pecíolo sadio; **c** - corte transversal da folha infectada; **d** - corte transversal da folha sadia. Detalhes em vermelho e em amarelo indicam a presença da hesperidina(SOARES et al., 2014).

1.4 Característica química do enxerto de *Citrus sinensis* sobre *C. limon*

Como já foi relatado anteriormente, sabe-se que no Brasil há uma preferência na utilização da espécie *C. limonia* como porta-enxerto na produção de laranja doce (*C. sinensis*), e que *C. limonia* apresenta uma tolerância à presença da bactéria *X. fastidiosa*. Visando comparar a o perfil químico do metabolismo secundário dessas espécies de citros o grupo de Produtos Naturais da UFSCar vem realizando estudos fitoquímicos na tentativa de entender o papel dos metabólitos secundários no processo de enxertia, como também na tolerância e susceptibilidade de *C. limonia* e *C. sinensis*, respectivamente.

Em 2008, Ribeiro e colaboradores realizaram um estudo fitoquímico clássico das raízes de *C. limonia* e das partes vegetais de *C. sinensis* (folhas e caules superiores) enxertado sobre *C. limonia* (caules inferiores e raízes), isolando

e identificando 27 metabólitos secundários pertencentes às classes de flavonoides, terpenoides, cumarinas e alcaloides.

No estudo das partes superiores os autores isolaram das folhas do enxerto (*C. sinensis*): flavonoides – tetra-*O*-metilescutelareina, tangeretina, sinasetina, nobiletina, 3,3',4',5,6,7,8-heptametoxiflavonol, 5-hidróxi-3',4',6,7-tetrametoxiflavona, 5-demetoxinobiletina, 5-hidróxi-3',4',7,8-tetrametoxiflavona e hesperidina (**Figura 1-12**) ; cumarina – xantiletina (Figura 1-13); terpenoides – sitosteróis, estigmasterol e campesterol. Nos caules superiores do enxerto (*C. sinensis*) foram isolados dois flavonoides (hesperidina e nobiletina -**Figura 1-12**), uma cumarina (xantoxiletina – **Figura 1-13**) e dois terpenoides (friedelina e 3 β -*O*- β -D-glucopiranosil-sitosterol – **Figura 1-14**).

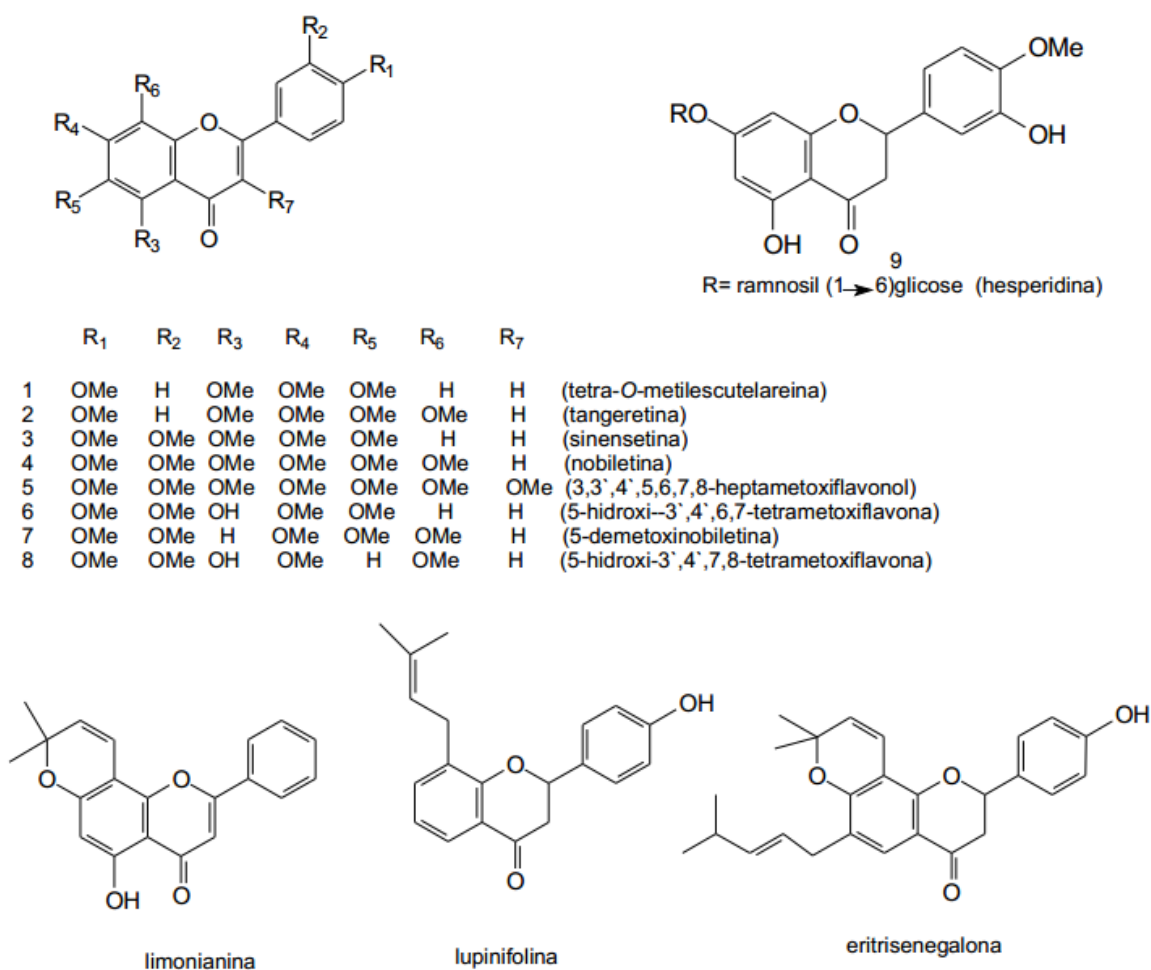


Figura 1-12:Flavonoides isolados no estudo de RIBEIRO e colaboradores (2008).

Nas partes inferiores foram isolados do caule inferior do porta-enxerto (*C. limonia*): cumarinas – xantiletina, seselina, suberosina, crenulatina e tamarina (**Figura 1-13**); flavonoides – limonianina, lupinifolina e eritrisenegalona (**Figura**

1-12); alcaloide – 5-hidróxinoracornicina (**Figura 1-14**). Das raízes do porta-enxerto (*C. limonia*) foram isolados: cumarinas – xantoxiletina, suberosina, crenulatina, buntasina, (*E*)-suberenol, (*Z*)-suberenol, clausarina e nordentatina (**Figura 1-13**); terpenoides – limonina e acetato de limonina (**Figura 1-14**); alcaloide - 5-hidróxinoracornicina - (**Figura 1-14**); flavonoide – lupinifolina (**Figura 1-12**).

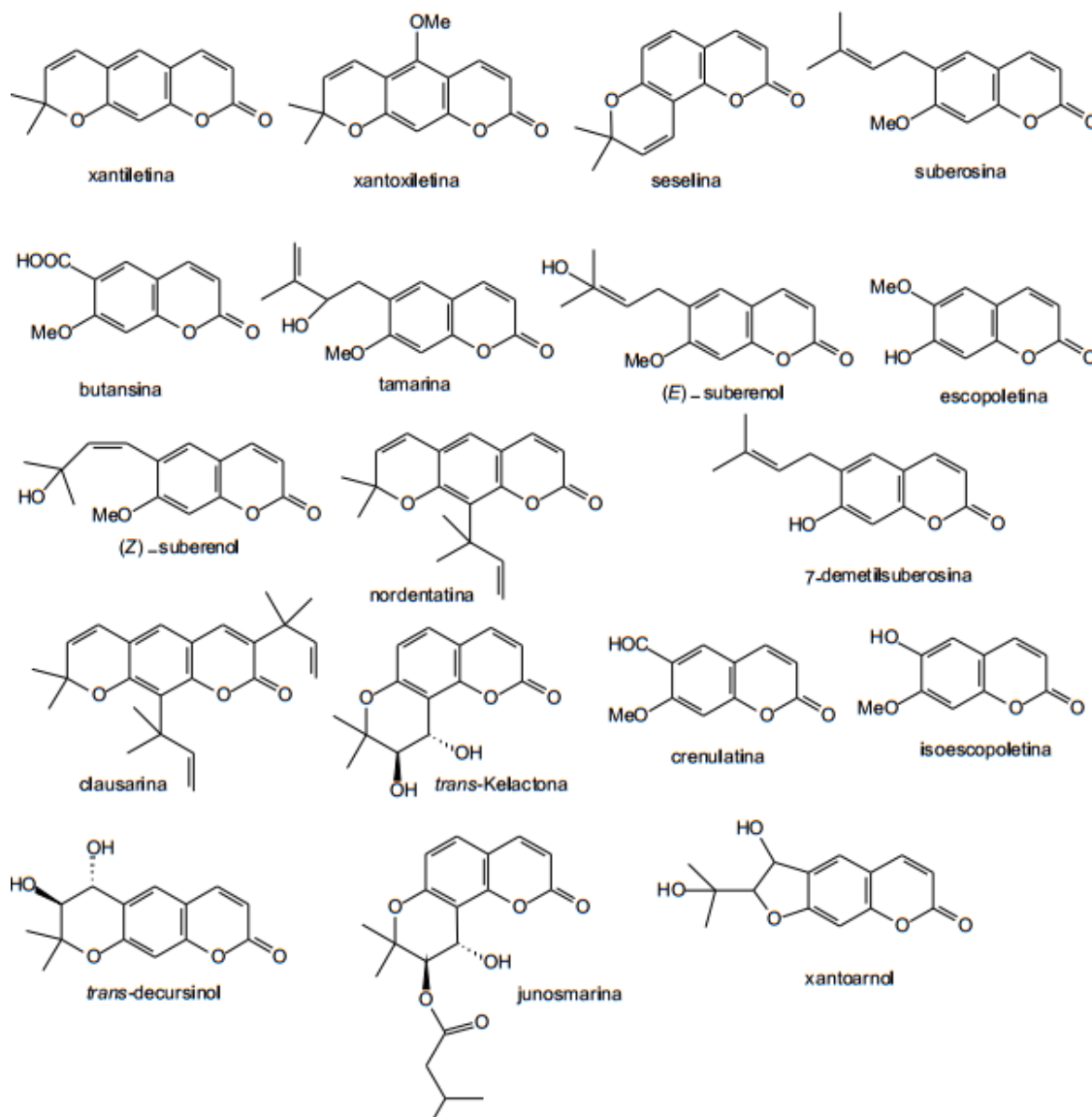


Figura 1-13: Cumarinas isoladas no estudo de RIBEIRO e colaboradores (2008).

Na busca de obter um melhor conhecimento sobre o metabolismo secundário da raiz de *C. limonia* sem a influência do processo de enxertia, os autores fizeram também um estudo fitoquímico apenas com as raízes dos pés francos (planta desenvolvida a partir de sementes), levando ao isolamento de: flavonoides – limonianina e eritrisenagolona (**Figura 1-12**); terpenoides – sitisterol, estigmasterol e campesterol; cumarinas – xantiletina, seselina, xantoxiletina,

clausarina, escopoletina, *trans*-kelactona, *trans*-decursidinol, junosmarina, isoescopoletina, 7-demetilsuberosina e xantoarnol (**Figura 1-13**).

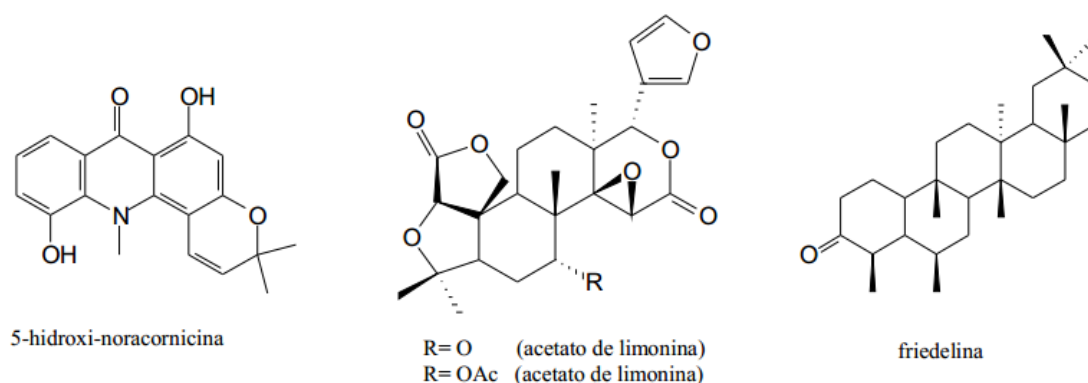


Figura 1-14:Alcaloide e terpenoides isoladas no estudo de RIBEIRO e colaboradores (2008).

Nesse trabalho os autores ressaltam a presença quase que exclusiva de flavonoides nas folhas da planta enxertada e a pouca diversidade destes encontrados nas outras partes do enxerto. Outro fato observado é que esse fenômeno acontece também com as raízes, só que para a classe das cumarinas, onde eles encontraram uma grande diversidade delas além de uma variação notável na quantidade destas isoladas. Nas raízes foram isoladas quantidade na ordem de grama, enquanto nas outras partes foram obtidas apenas na ordem de miligramas, sugerindo que as cumarinas sejam produzidas nas raízes e translocadas posteriormente para outras partes da planta e também que elas possam estar relacionadas com caráter tolerante de *C. limoniana* presença da *X. fastidiosa*. Ainda neste trabalho os autores avaliaram a atividade biológica de vários produtos naturais frente à bactéria *X. fastidiosa*, onde eles notaram que o flavonoide hesperidina apresentou melhor inibição de $3.3 \times 10^3 \mu\text{M}$. Esse resultado sugere que esse flavonoide possa estar envolvido no mecanismo de defesa de *C. sinensis* quando infectado pela bactéria.

Soares em 2011 (SOARES, 2011), baseado nas premissas do trabalho de Ribeiro, em sua pesquisa de doutorado avaliou a variação do perfil químico em enxertos de *C. sinensis* sobre *C. limonia* após a inoculação da bactéria *Xylella fastidiosa*, onde foi observado um aumento na produção das cumarinas xantiletina e seselina (**Figura 1-13**) nas raízes e dos flavonoides hesperidina e rutina (**Figura 1-15**) na parte superior do enxerto. Ele desenvolveu métodos analíticos CLAE-UV e

CLAE-EM para quantificar tanto os flavonoides como as cumarinas. Comparando os dados obtidos referentes aos enxertos sadios e com CVC verificou-se que a concentração da seselina diminui (não significativamente) cerca 1,06 vezes nas raízes do enxerto com sintoma e de 1,44 vezes naquelas assintomáticas (onde a bactéria foi inoculada, mas não apresentaram sintomas) quando comparado ao controle (enxerto sem inoculação da bactéria). A concentração da xantiletina ao contrario aumentou nestas mesmas matrizes numa relação de 1,44 e 0,76, respectivamente. Estes resultados sugerem que estes enxertos na presença da bactéria inibem a biossíntese da cumarina angular seselina, desviando a prenilação da umbeliferona para o carbono C-6, para posteriormente levar à xantiletina em um percentual maior. Estes estudos de quantificação mostraram que a concentração da rutina no geral não se altera quando as folhas deste enxerto possuem a bactéria em seu interior. Ao contrário a concentração da hesperidina nas folhas com sintomas de CVC aumenta em 1,69 vezes àquela do enxerto padrão, e em 1,22 vezes naquelas onde a bactéria foi inoculada, mas não apresentaram o sintoma. Concluindo, a variação na concentração da xantiletina e hesperidina no enxerto na presença da bactéria pode ser interpretada como uma reação ao patógeno, e estes metabólitos sendo fitoantecipinas.

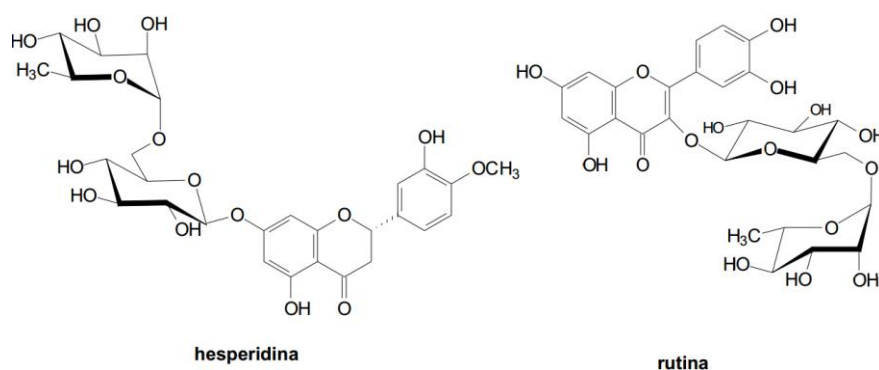


Figura 1-15:Fórmula estrutural dos flavonoides hesperidina e rutina.

Técnicas metabonômicas é uma boa proposta para complementar os trabalhos de Ribeiro, sobre o processo de resistência de *C. limonia* em relação à *C. sinensis* à CVC, e de Soares, sobre os estímulos fisiopatológicos causados pela *X.fastidiosa*.

1.5 Metabolômica/Metabonômica

Por volta do fim dos anos 90 para início dos anos 2000 os termos *Metaboloma*, *Metabolômica* e *Metabonômica* começaram a ser inseridas no campo científico. Foi o início da era das chamadas tecnologias “ÔMICAS”, de genômica, transcriptômica, proteômica, dentre outras que começaram a surgir e estão por surgir (NICHOLSON; LINDON; HOLMES, 1999; FIEHN et al., 2000; FIEHN, 2002; BINO et al., 2004). De certa forma já se subentende que tais termos estão relacionados ao conceito *Metabólito* e aos seus campos científicos e tecnológicos. A **Tabela 1-1** apresenta as definições proposta na literatura para os diferentes termos, apesar de na prática serem usados indistintamente.

Tabela 1-1: Definições de termos relacionados à metabonômica conforme a literatura.

Termo	Definição
Metabólito	Moléculas de baixa massa molecular que participam em reações metabólicas e são necessárias para preservação, crescimento e funcionamento normal da célula (SCHRIJVER, 2010).
Metabolismo	Processo dinâmico de um conjunto de reações químicas, organizadas em vias metabólicas, que são sequências de reações enzimáticas, influenciado por fatores endógenos e exógenos, e pode ser encontrado em equilíbrio dinâmico (homeostase), desequilibrado, ou em um novo equilíbrio com algum fator estressante (alostase) (GOMES, 2013).
Metaboloma	Conjunto de todos os metabólitos e substâncias de baixa massa molecular (abaixo de 1500 Da) que podem ser encontrados em uma célula, órgão ou organismo (WISHART, 2008).
Metabolômica	A tecnologia voltada para o fornecimento de uma visão geral compreensiva qualitativa e quantitativa dos metabólitos presentes em um organismo sob um dado conjunto de condições (HALL, 2006).
Metabonômica	Medida da resposta metabólica dinâmica multiparamétrica de sistemas vivos a estímulos fisiopatológicos ou modificação genética (NICHOLSON; LINDON; HOLMES, 1999).

Em termos práticos o termo *Metabonômica* é uma subárea da *Metabolômica* e ambas têm como objeto de estudo o metaboloma, sendo que elas se diferem mais em termos práticos e aplicabilidade que em definição. Desta forma, *Metabolômica* seria a ciência que estuda os perfis metabólicos produzidos por uma célula, tecido, órgão ou organismo, como produto final dos processos celulares em condições homeostáticas, enquanto a *Metabonômica* seria o estudo dos processos celulares em condições adversas - um novo equilíbrio com algum fator estressante

(alostase) como: modificações genéticas, resposta a ação de um xenobiótico ou infecção de um hospedeiro e estresse nutricional ou ambiental.

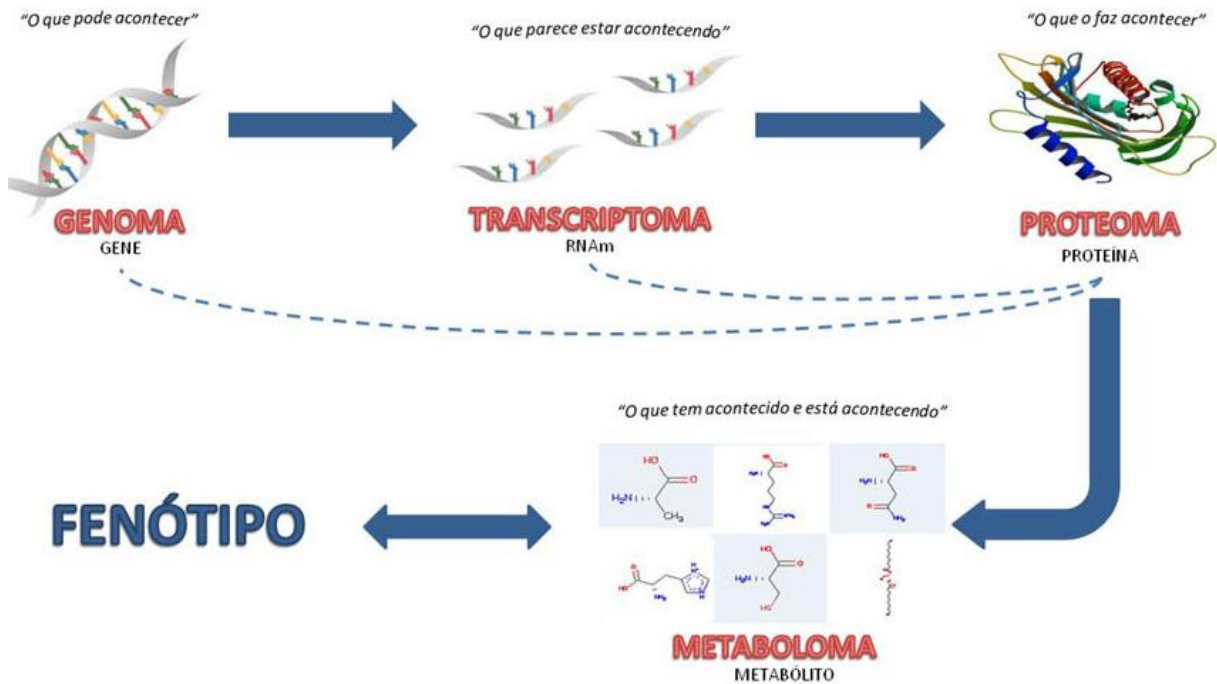


Figura 1-16: Cascata "ÔMICA" e seus pontos de regulação (MARIA-RESENDE; CAMERON, 2010).

Apesar do grande desenvolvimento da Genômica, Transcriptômica e da Proteômica, elas ainda não são capazes de revelar tudo o que realmente acontece no interior da célula devido aos seus diferentes pontos de regulação (**Figura 1-16**), dado que o genoma nos diz qual informação está contida em um gene podendo ou não ser processada num produto gênico; o transcriptoma representa o mecanismo de entrega do código gênico para a síntese de proteínas nas células, em que aumentos nos níveis de RNA mensageiros (RNAm) nem sempre se correlacionam com aumentos nos níveis de proteínas; o proteoma por sua vez, nos informa a proteína traduzida, contudo esta pode estar ou não enzimaticamente ativa, não representando uma resposta final do sistema biológico à mudanças genéticas, ambientais, fisiopatológicas ou nutricionais (SUMNER, L. W.; MENDES, P.; DIXON, 2003; MA et al., 2012). A metaboloma por outro lado é ponto final do que foi proposto pela genômica, contudo ela não é meramente o produto final da expressão do gene, já que ela é um reflexo das consequências das interações do genoma, transcriptoma e proteoma do sistema com o seu meio ambiente e suas demais perturbações (ROCHFORD, 2005).

Desta forma, estudos metabonômicos têm ganhado espaço entre as outras ciências “ÔMICAS” nos últimos anos devido a seu rápido desenvolvimento (somado ao desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis e sofisticadas e de ferramentas estatísticas e quimiométricas) e grande potencial em compreender sistemas biológicos complexos do ponto de vista de moléculas pequenas, onde quaisquer processos celulares em condições adversas levam a pequenas mudanças potencialmente mapeáveis, podendo revelar uma nova sequela bioquímica, uma nova visão mecanística, ou identificação de um potencial biomarcador de causa e/ou efeito do qual vale esforços de um processo de validação (ROBERTSON, 2005; LABORDE et al., 2012; VEENSTRA, 2012; GOMES, 2013).

1.5.1 Biomarcadores

Biomarcadores são moléculas cujas variações de concentrações em um sistema biológico servem como provas ou bases de medição de condições adversas à homeostase. A maioria das análises bioquímicas hoje em dia se baseia na ideia dos biomarcadores, pois as alterações metabólicas são observadas em condições experimentais e verdadeiramente correlacionadas às situações de que foram derivadas (SCHUDOMA et al., 2009; GOMES, 2013).

De acordo com o FDA (Food and Drug Administration), biomarcador seria “uma característica que é medida de forma objetiva com o propósito de servir como indicadora de: um processo biológico normal do organismo, um processo patológico associado a uma doença, ou um padrão de resposta a uma dada intervenção terapêutica” (FDA, 2005).

A identificação de biomarcadores ganhou muita atenção na fisiologia vegetal, sendo aplicado no melhoramento de plantas para observar diferenças imprevistas em cultivares selvagens e geneticamente modificadas; determinação de susceptibilidade ou resistência entre plantas a uma determinada praga pela identificação de metabólitos diferentes entre elas; diagnóstico e indicadores de progressão de doenças; efeito de pesticidas no organismo; e efeito da ação de um hospedeiro no processo de infecção ou mecanismo de defesa acionado pela planta contra essa infecção (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009; WOLFENDER et al., 2013).

1.5.2 Análises Metabonômicas

Análises metabonômicas têm sido classificadas como “direcionadas” (“*Targeted*”) ou “não direcionadas” (“*Untargeted*”) (Figura 1-17). Análises “direcionadas” destinam-se a um grupo específico de metabólitos de interesse com o propósito, na maioria dos casos, de identificar e quantificar o maior número de metabólitos dentro dessa classe (RAMAUTAR; DEMIRCI; JONG, 2006; DUDLEY et al., 2010). Análises “direcionadas” são importantes para avaliar o comportamento de um grupo específico de compostos na amostra nas condições determinadas. Metabonômica “direcionada” normalmente exige maior nível de purificação e também uma metodologia de extração de metabólitos mais seletiva. Em contraste, a metabonômica “não direcionada” destina-se à detecção de tantas classes de metabólitos quanto possíveis, para obter padrões ou “*fingerprint*”, sem necessariamente identificar ou quantificar tais compostos (DE VOS et al., 2007; MONTON; SOGA, 2007). Análise “não direcionada” tem sido utilizadas para a identificação de possíveis “*fingerprint*” de fenômenos biológicos, tais como doenças de plantas (CEVALLOS-CEVALLOS; ROUSEFF; REYES-DE-CORCUERA, 2009).

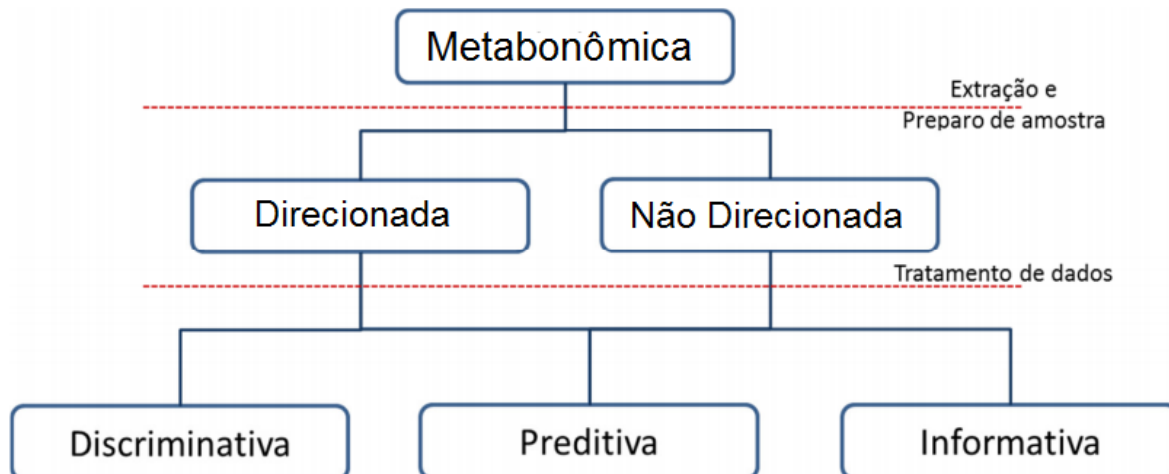


Figura 1-17:Classificação geral da Metabonômica(CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009).

Baseando-se no objetivo específico da análise e no tratamento de dados, a maioria dos estudos metabonômicos também podem ser classificados como discriminativo, informativo ou preditivo.

Análises **Discriminativas** são destinadas a encontrar diferenças entre populações de amostras sem necessariamente criar modelos estatísticos ou avaliar

possíveis rotas que possam elucidar tais diferenças. Essas análises são geralmente obtidas através da utilização de Análise Multivariada de Dados, técnica destinadas a maximizar a classificação, sendo a Análise dos Componentes Principais (PCA) a ferramenta mais utilizada (KEMSLEY et al., 2007). Em contraste, as análises metabonômicas **Informativas** concentraram-se na identificação e quantificação de metabólitos “direcionados” ou “não direcionados” para obter informações intrínsecas da amostra. Possíveis rotas metabólicas, descoberta de novos compostos bioativos, descoberta de biomarcadores, e criação de bancos de dados especializados também podem ser obtidos fazendo-se uso de análises metabonômicas informativas (WISHART, 2008). Por fim, existe também o tipo de análise metabonômica **Preditiva**. Neste caso, modelos estatísticos baseados no perfil metabólito e na sua abundância são criados para prever uma variável que é difícil de quantificar por outros meios. Estes modelos são geralmente produzidos pela ferramenta quimiométrica PLS (Partial Least Square) (IKEDA et al., 2007).

Os experimentos de metabonômica fornecem resultados únicos para melhorar a compreensão das informações biológicas relacionadas ao metaboloma e mais comumente à genômica funcional. O tamanho do metaboloma varia muito, pois depende do organismo estudado. *Saccharomyces cerevisiae*, por exemplo, contém aproximadamente 600 metabólitos, identificados até o momento, enquanto as plantas têm, aproximadamente, 200.000 metabólitos primários e secundários (DUNN; ELLIS, 2005).

Somado a isso, o metaboloma consiste numa diversidade extremamente grande de compostos químicos com uma ampla variedade de propriedades físicas e químicas (devido ao seu diverso arranjo atômico), quando comparados com transcriptoma e o genoma (biopolímeros compostos de 4 diferentes nucleotídeos) e o proteoma (biopolímeros compostos de 22 diferentes aminoácidos). Essa complexidade torna impossível determinar simultaneamente o metaboloma completo em apenas uma análise devido à inabilidade de incluir todos os metabólitos que variam de espécies polares como compostos orgânicos iônicos e carboidratos a apolares como lipídios e terpenoides (DUNN; ELLIS, 2005; VILLAS-BÔAS et al., 2005).

Desta forma, as análises metabonômicas exigem uma sequência de etapas, incluindo o preparo de amostras, extração de metabólitos, separação e detecção destes, e tratamento de dados. No entanto, nem todas as etapas são

sempre necessárias. Somente a detecção e a análise de dados são realmente passos essenciais em todos os estudos metabonômicos relatados. A escolha das etapas depende do tipo de estudo (“direcionado” ou “não direcionado”), o tipo de amostra, a instrumentação a ser usada na separação – Cromatografia Gasosa, Cromatografia Líquida ou Eletroforese Capilar - e método de detecção – Infravermelho, Espectrometria de Massas ou Ressonância Magnética Nuclear, por exemplo – sendo as duas últimas mais empregadas nos estudos (VILLAS-BÔAS et al., 2005; CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009). A análise dos dados de metabonômica geralmente é realizada por ferramentas quimiométricas.

1.6 Análises quimiométricas

Os avanços nas técnicas de separação (CG, CL e EC) e de detecção (EM e RMN) possibilitaram a análise de um número enorme de metabólitos, permitindo assim uma melhor compreensão da metabonômica do organismo. Entretanto, tais avanços vêm aumentando, conseqüentemente, cada vez mais a complexidade das tabelas de dados gerados que são difíceis de resumir e visualizar sem ferramentas apropriadas. Sendo assim, a aplicação de métodos matemáticos e estatísticos a um conjunto de dados de natureza multivariada permite uma simplificação do mesmo em um espaço dimensional de fácil interpretação e visualização (DE SENA et al., 2000; TAULER; BARCELLO; THURMAN, 2000).

Portanto, as técnicas quimiométricas têm contribuído fundamentalmente para os estudos metabonômicos, na medida em que incluem métodos robustos e eficientes para modelagem e análise de complexas tabelas de dados geradas a partir de dados químicos ou biológicos, resultando em modelos interpretáveis e confiáveis (TRYGG; LUNDSTEDT, 2007). Desta maneira, os métodos quimiométricos podem ser aplicados em dados multivariados com os propósitos qualitativos (análise exploratória e reconhecimento de padrões) e quantitativos (calibração).

De acordo com Kowalski (1991), a Quimiometria pode ser definida como “... *uma disciplina química que emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimentos de forma otimizada e para fornecer o máximo de informação química com a análise dos dados obtidos*”.

A aplicabilidade dessas análises multivariadas a estudos metabolômicos é indiscutível, dada à quantidade e variedade de trabalhos da área que fazem uso dessa abordagem e inúmeros são os trabalhos utilizando a quimiometria aliada a RMN ou a Cromatografia Líquida.

Ao se analisar quimiometricamente um conjunto de dados, organiza-se os dados experimentais obtidos em uma matriz, chamada de matriz de dados, onde os experimentos ou amostras correspondem às linhas e os parâmetros dos experimentos (variáveis) correspondem às colunas. A matriz dos dados originais é constituída por n amostras e m variáveis. No caso da RMN as variáveis são os deslocamentos químicos e no caso da Cromatografia Líquida os tempos de retenção de um pico ou banda cromatográfica (SOARES, 2011).

Em seguida, na matriz de dados, aplicam-se métodos quimiométricos de análise para reconhecimento de padrões e classificação que poderão ser feito utilizando uma primeira abordagem com técnicas quimiométricas multivariadas como uma análise de dados não supervisionada, tal como PCA (*Principal Component Analysis*), HCA (*Hierarchical Clusters Analysis*) seguida de métodos supervisionados, como PLS (*Partial Least Square Discriminant Analysis*) e o OPLS-DA (*Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis*).

O PCA e o HCA dos dados são usados para se obter uma revelação de agrupamentos ou tendências de separação, enquanto o PLS-DA e o OPLS-DA são métodos de classificação supervisionados recomendados para casos de duas classes ou múltiplas classes (TRYGG; LUNDSTEDT, 2007).

1.7 Banco de dados metabolômico

Integrado a todo esse processamento e refinamento dos dados gerados, que determinam as variáveis estatisticamente significantes (biomarcadores) em cada experimento, é de fundamental importância a utilização de bancos de dados metabolômicos para a identificação putativa dos metabólitos e inferir a sua influência em variações fisiopatológicas ou estressantes. Na sequência, os metabólitos previamente identificados são associados às suas devidas rotas biossintética através de bancos de dados com tal finalidade como o KEGG, por exemplo, podendo assim determinar quais enzimas foram expressas e quais genes foram ativados.

Esta é provavelmente uma das partes mais problemáticas, pois a identificação depende muito de uma biblioteca que possa servir de comparação dos espectros dos íons precursores e dos fragmentos. Até agora, a investigação sobre os perfis metabólicos de plantas utilizando técnicas cromatográficas acopladas a tecnologias EM para fins de banco de dados foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (SCHAUER et al., 2005; TECHNOLOGIES, 2005).

Banco de dados metabolômicos baseados em análises CL-EM são ainda mais complicadas porque cada metabólito pode estar presente como um ou adutos (por exemplo, $[M + Na]^+$ ou $[M + H]^+$) com diferentes valores de massa-carga. Em análises por CL, diferentemente das análises CG, o tempo de retenção varia como uma função dos parâmetros cromatográficos tais como a fase química da coluna, a composição da fase móvel, e a rampa do gradiente de eluição (LONGNECKER et al., 2015).

Os bancos de dados metabolômicos tem complicações adicionais em comparação com outros bancos de dados - ÔMICOS. A composição estrutural e química de genes e proteínas são inerentemente mais simples do que a de metabólitos porque o número e diversidade de blocos de construção são menos. Por exemplo, sequências de genes são compostos de apenas quatro ou cinco nucleótidos possíveis (A, G, C, T ou U). Assim, uma base de dados de ácido nucleico contém pouca complexidade química e erros estão principalmente associadas a interpretação tais como anotação de genes e as avaliações de homologia. Em contraste, os metabólitos não têm blocos de construção comuns, sendo formado por elementos de C, H, O, N, S, Cl e P; e as suas estruturas e tamanhos moleculares são extremamente diversas e complexas (DUNN; ELLIS, 2005; VILLAS-BÔAS et al., 2005; LONGNECKER et al., 2015).

Por fim, um prévio conhecimento de quimiosistemática aliado a esses bancos de dados metabolômicos pode eliminar uma boa parte dos metabólitos que não fazem parte do grupo quimiotaxonômico da espécie estudada. Infelizmente apesar do grande valor comercial e estudos relacionados ao gênero *Citrus* poucos são os bancos de dados que são abrangentes ou que correlacionam os metabólitos ao gênero. Devido a isso faz-se necessário a construção de banco de dados restrito a esse gênero.

1.8 Quimiosistemática

Quimiosistemática ou Quimiotaxonomia é uma abordagem da taxonomia no qual a natureza química das plantas é usada no desenvolvimento de classificação ou na solução de problemas taxonômicos. Dá uma estreita relação entre constituintes químicos de plantas e seu status taxonômico.

A quimiosistemática estabelece relações entre a posição da planta e exata compreensão da evolução biológica e relação natural. Mais comumente, os compostos particulares são utilizados como marcadores taxonômicos e representam caracteres adicionais para a delimitação da taxa, especialmente espécies. A ocorrência comum de compostos utilizados como marcadores filéticos em diferentes grupos taxonômicos grandes (como famílias) é frequentemente indicativo de uma estreita relação filogenética. Comparações de mudanças estruturais em moléculas têm sido empregadas para determinar padrões de ramificação e sugerir pontos de divergência em termos de tempo e linhagem. (CRAWFORD; GIANNASI, 1982).

O uso de metabólitos secundários como caracteres de importância taxonômica em classificações botânicas tornou-se mais frequente, fato este impulsionado pela importância farmacológica destas substâncias. O conhecimento quimiosistemático não permite somente classificar um determinado grupo taxonômico como também pode ser utilizado na procura de um composto bioativo cuja classe é restrita de um grupo taxonômico. Tal informação pode ser empregada na determinação estrutural de uma substância química ao prever quais possíveis compostos podem ser biossintetizados naquele determinado grupo taxonômico, eliminando assim classes de compostos naturais não pertencentes àquele grupo.

Como por exemplo, alcaloides tropânicos (**Figura 1-18-a**) é uma classe de composto de grande ocorrência em plantas da família Solanaceae, alcaloides indólicos (**Figura 1-18-b**) de Apocynaceae, glucosinolatos (**Figura 1-18-c**) são típicos de plantas da família Brassicaceae, chalconas diméricas (**Figura 1-18-d**) de Anarcardiaceae e isoflavonoides (**Figura 1-18-e**) de Fabaceae.

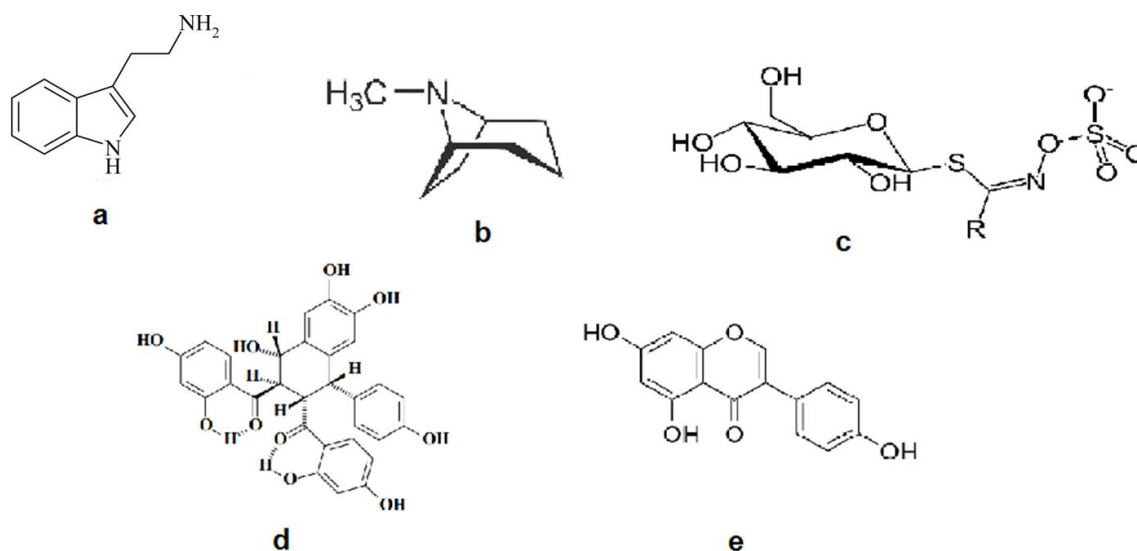
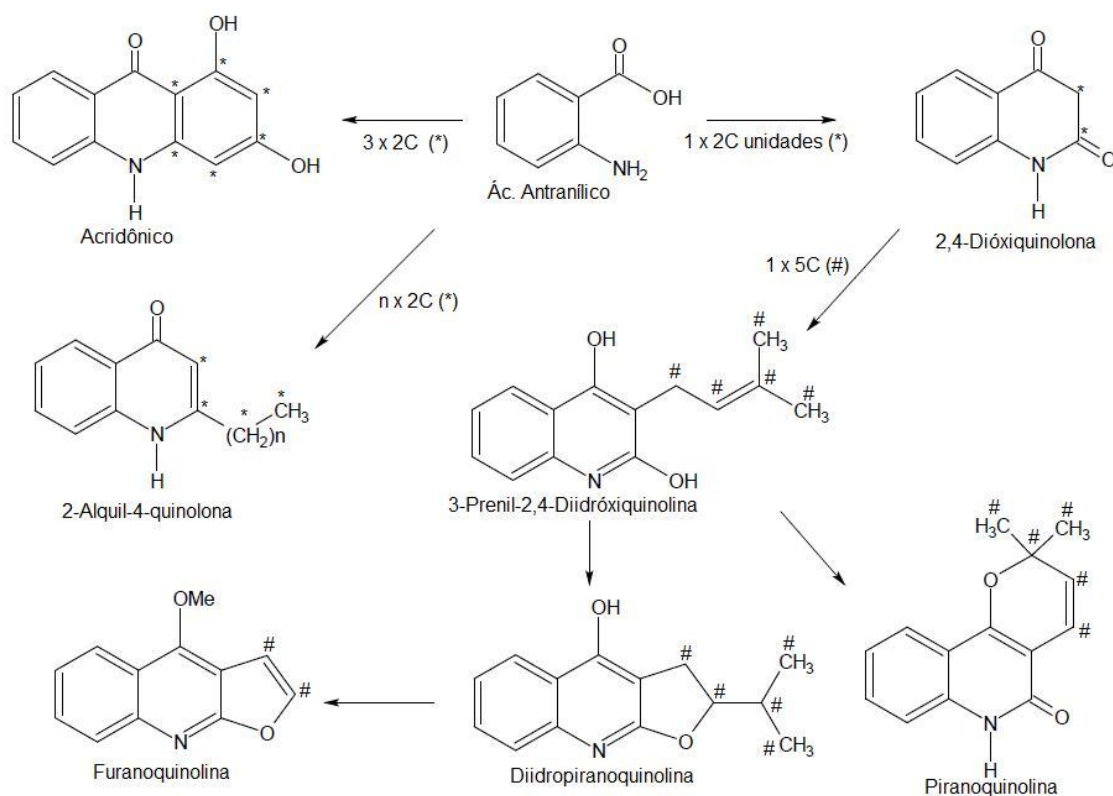


Figura 1-18:a - Alcaloide tropânico;b -Alcaloide indólico;c - Glucosinolato;d – Chalcona dímica;e - Isoflavonoide.

A Rutaceae (família que abriga o gênero *Citrus*) destaca-se das demais famílias devido a sua vasta variedade de metabólitos secundários que não são comuns nas outras famílias da ordem Sapindales. Onde os mais representativos são os alcaloides derivados do ácido antranílico, cumarinas, flavonoides e limonoides.

A família Rutaceae certamente é a única a produzir uma vasta gama de alcaloides baseados em uma combinação inicial de ácido antranílico com uma ou mais unidades de acetato (**Esquema 1-1**) e essa diversidade é ainda mais reforçada com a inserção de unidades de isopentenil (proveniente da rota mevalonato) que podem ciclizar em uma série de anéis furano, diidrofurano, pirano e diidropirano (mais raros) (WATERMAN, 1999).



Esquema 1-1: Classe majoritária de alcaloides nas Rutaceae formado pela combinação de ácido antranílico e acetato(WATERMAN, 1999).

Limonoide é uma classe de metabólito secundário quimicamente relacionado a triterpenoides tetracíclicos altamente oxigenados, sendo comumente encontrados nas famílias Rutaceae e Meliaceae, sendo que dos 50 limonoides agliconas relatados na literatura 36 deles foram isolados do gênero *Citrus* e seus híbridos(MANNERS; HASEGAWA, 1999; BERHOW; HASEGAWA; MANNERS, 2000). Os esqueletos dos limonoides comuns em *Citrus* são esses quatro observados logo abaixo (**Figura 1-19**), onde suas formas glicosiladas geralmente acontecem no anel lactônico D na posição 17:

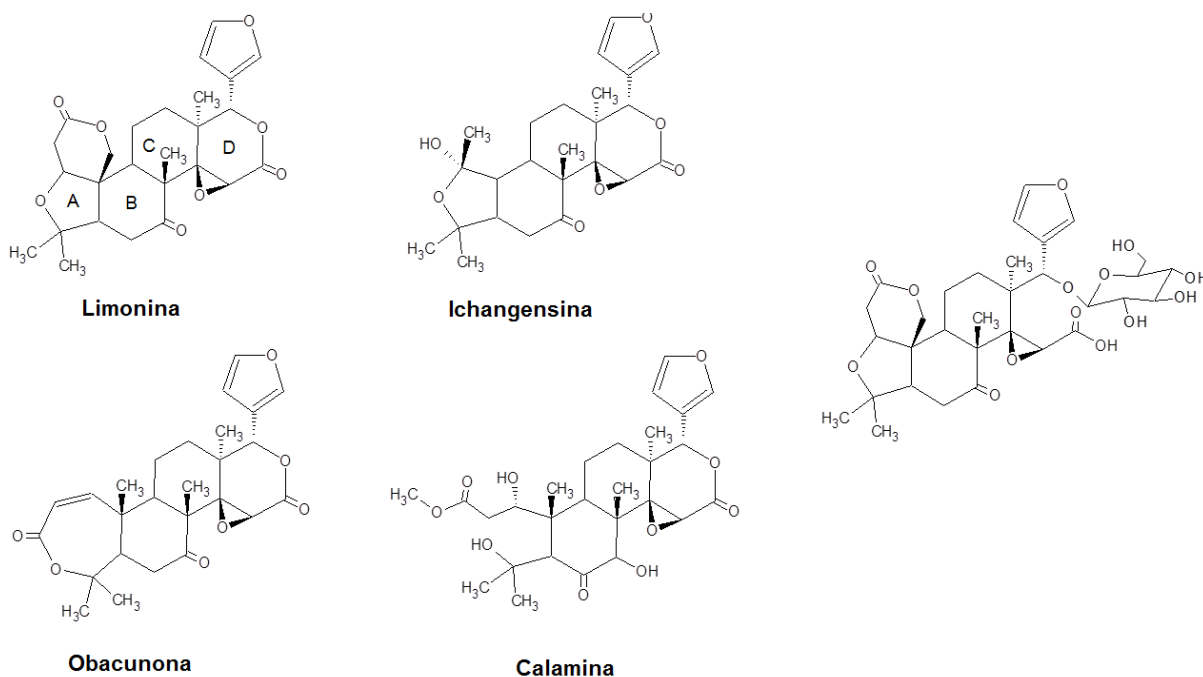


Figura 1-19: Esqueletos de limonoides comuns no gênero *Citrus*.

As cumarinas são uma classe de metabólito secundário amplamente distribuído nas plantas, mas que apresenta um maior número de ocorrência e diversificação estrutural do esqueleto básico nas famílias Apiaceae e Rutaceae (RIBEIRO; KAPLAN, 2002). Seu valor como marcador quimiotaxonomico nas Rutaceae se deve a grande variedade do esqueleto básico, em que nessa família é possível encontrar seis tipos diferentes (**Figura 1-20**) – cumarina simples, furanocumarina linear e angular, piranocumarina linear e angular e biscumarina (sete esqueletos se considerarmos as cumarinas ligadas a alcaloides) – as demais famílias do reino vegetal (excetuando a Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Oleaceae, Moraceae e Thymelaeaceae) produzem em sua grande maioria apenas cumarinas simples sendo rara a presença dos outros esqueletos (GRAY; WATERMAN, 1978; WATENNAN, 1993; RIBEIRO; KAPLAN, 2002). Outro fator que evidencia essa classe como marcador químico na família Rutaceae é que todas as cumarinas que ocorrem nessa família são oxigenadas na posição C-7 do esqueleto, além da sua capacidade de inserção de unidades C₅ provenientes do ácido mevalônico, gerando cumarinas simples preniladas (**Figura 1-20**), pirano e furanocumarinas que são esporadicamente relatadas nas famílias Moraceae, Meliaceae e Fabaceae (GRAY; WATERMAN, 1978; KUBITZKI et al., 2011).

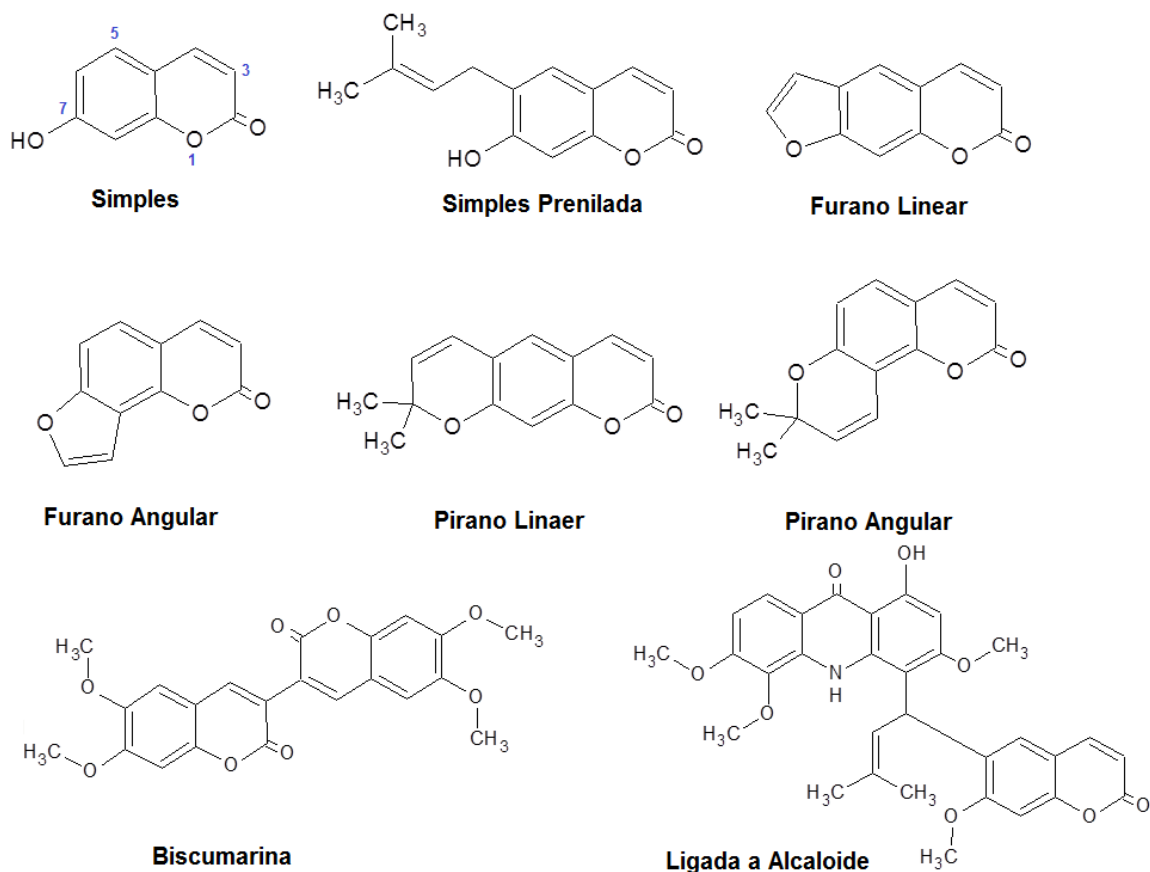


Figura 1-20: Esqueletos básicos de cumarinas encontradas na família Rutaceae.

O estudo quimiotaxonômico inclui a investigação de padrões de ocorrência de metabólitos secundários nas plantas e em especial em várias partes individuais desta como, por exemplo, raiz, caule, folhas, frutos e sementes. A experiência que o Grupo de Produtos Naturais da UFSCar tem em relação aos estudos fitoquímicos de espécies da família Rutaceae, em especial o gênero *Citrus* permite prever uma ocorrência maior de cumarinas nas raízes, flavonoides nas folhas, limonoides nas sementes e flavonoides gliconas nos frutos das espécies desse gênero.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Através de estudo metabolômico encontrar e identificar metabolitos que possam determinar a susceptibilidade do *C. sinensis* a resistência de *C. limonia* à CVC, como também identificar biomarcadores relacionados ao mecanismo de defesa acionado pelas plantas ao processo de infecção da *X. fastidiosa*, ao avaliar mudas sadias e doentes de enxertos de *C. sinensis* sobre *C. limonia*. Através desses metabolitos tentar associá-los a rotas metabólicas e prover uma explicação

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar análise das partes vegetais via CLUE-ESI-QToF;
- Realizar tratamento dos dados via ferramentas quimiométrica para encontrar possíveis biomarcadores que possam determinar a susceptibilidade de *C. sinensis* e a resistência de *C. limonia* à CVC;
- Realizar tratamento dos dados via ferramentas quimiométrica para encontrar possíveis biomarcadores que possam ser relacionados ao mecanismo de defesa acionado pelas plantas ao processo de infecção da *X. fastidiosa*;
- Construir um banco de dados com todos os compostos relatados de *Citrus*, com suas respectivas massas moleculares exatas e órgão do qual foi isolado ou detectado;
- Identificar os metabolitos por comparação da massa exata com bibliotecas públicas, a criada pelo autor da tese e, quando possível, por fragmentação em EM e comparação com um composto padrão autêntico;
- Associar os metabolitos identificados a rotas metabólicas e prover uma explicação biológica quando cabível.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

3.1.1 Solventes

- Água ultrapura, obtida no Ultra purificador de Água Master System MS2000 (Gehaka[®]) para análises de CLAE e técnicas de extração analítica;
- Solvente grau HPLC (Merck[®]; J. T. Becker[®]) para análises de cromatografia líquida e técnicas de extração analítica:
 - Metanol;
 - Acetonitrila;
 - Isopropanol.
- Solvente grau LC-EM para análises de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa e técnicas de extração analítica:
 - Metanol;
 - Acetonitrila.

3.1.2 Colunas cromatográficas

- Acquity HSS T3 (C-18) Waters[®] (2.1 x 100 mm, partículas de 1.8 µm) para análises em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE);
- Coluna Gemini C18 Phenomenex[®] (150 x 4,60mm, partículas de 5µm) acoplada a coluna de segurança C18 Phenomenex[®] (4x3 mm) para análises em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE).

3.1.3 Materiais diversos

- Tubos Falcon Perfecta[®], polipropileno (PP) de 15,0 e 50,0 mL;
- Microtubos Eppendorf[®], fundo redondo, polipropileno (PP) de 2,5 mL;
- Seringas de 10,0 mL;
- Filtro de Seringa Millipore[®] membrana politetrafluoretileno (PTFE), hidrofílica, não estéril, 45µm poro; Ø = 13 mm;
- Micropipetas marca Eppendorf[®] de 200- 1000 µL;

- Vials âmbar 2,0 mL ;
- Ponteira de 1000µL;
- Espátulas de aço;
- Pipetas Pasteur de vidro de 3mL.

3.2 Equipamentos

3.2.1 Purificador de água

- Ultrapurificador de Água Master System MS2000 Gehaka®.

3.2.2 Centrífuga

- Centrífuga marca Eppendorf modelo 5810R com sistema de refrigeração.

3.2.3 Moinhos

- Moinho de facas tipo Willye – Tecnal®;
- Moinho analítico básico A 11 - IKA®.

3.2.4 Balanças analíticas

- Sartorius® modelo BP210S;
- Bel Engineering® modelo Mark 210A.

3.2.5 Dispersadores / Homogeneizadores

- T 10 standard ULTRA-TURRAX - IKA®;
- Vórtex PHOENIX® AP56.

3.2.6 Banho de ultrassom

- Unique® Modelo USC1400 frequência ultrassônica 40 kHz.

3.2.7 Cromatógrafo Líquido

- Agilent[®] Technologies modelo 1200, equipado com bomba quaternária G1311A, degaseificador G1322A, Amostrador automático G1329A, e detector de ultravioleta de comprimento de onda variável (VWD) G1314B, forno decoluna G1316A. Software utilizado para processamento dos dados: EZCrom Elite;
- Waters[®]Acquity UPLC I-Classacoplado ao espectrômetro de massas, equipado com bomba binária, degaseificador, injetor automático, forno de coluna. Software utilizado para processamento dos dados: MassLynx 4.1.

3.2.8 Espectrômetros de Massa

- Waters[®]Synapt G2-Si HDMS de alta resolução equipado com fonte de ionizaçãoESI e APCI, analisador *íon mobility* e analisador híbrido Q-TOF (Quadropole - Time of Fligth).

3.3 Softwares de processamento e análise e interpretação de dados

3.3.1 Processamento e análise de dados

- Microsoft Office Excel[®] 2010 utilizado para construção da matriz de dados;
- Statistica[®] 12.0 (StatSoft).
- MarkerLynx[®]

3.3.2 Interpretação de dados

- HMDB - Human Metabolome Database;
- METLIN Metabolomics Database;
- MassTRIX: Mass Translator Into pathways;
- NuBBE - Núcleo de Pesquisa sobre Bioensaio, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais;
- UNDP - Universal Natural Products Database
- MassLynx 4.1;

- Banco de dados criado pelo autor da tese dos metabólitos relatados na literatura do gênero *Citrus* sp. (Anexo -CD);
- KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes;

3.4 Levantamento bibliográfico

3.4.1 Ferramenta de pesquisa

- Google;
- Google Scholar;

3.4.2 Repositório de artigos científicos e livros

- SciFinder;
- PubMed Central®;
- Scopus;
- J-STAGE;
- Scielo;
- Spell;

3.5 Material vegetal

O material vegetal utilizado no desenvolvimento deste trabalho tinham oito meses de idade e foi o mesmo utilizado pelo ex-aluno do grupo de Produtos Naturais, Márcio Soares no seu trabalho de doutorado em 2006. O material vegetal já se encontrava previamente moído e armazenado em refrigerador a -15°C para evitar degradação e ataques por fungos e bactérias.

3.5.1 Preparo dos enxertos e pés francos

O porta-enxerto utilizado no desenvolvimento do trabalho foi o limão cravo (*C. limonia*) e a copa foi a laranja pera (*C. sinensis*). As plantas utilizadas neste trabalho foram obtidas através da técnica de enxertia via borbulha, sendo preparadas 45 mudas de enxerto pelo pesquisador Sérgio Carvalho da Estação Experimental de Citricultura do Instituto Agrônomo de Campinas, cuja fazenda experimental encontra-se em Cordeirópolis, SP.

Paralelamente, produziram-se mudas por germinação de sementes de *C. limonia* e *C. sinensis*, pés-francos, quinze mudas de cada espécie. Vale ressaltar que todos os experimentos foram realizados com plantas da mesma idade e nas mesmas condições, evitando assim resultados equivocados de quantificação e de variação do perfil químico devido a fatores como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, etc.

3.5.2 Inoculação da bactéria *X. fastidiosa*

Após três meses do processo de enxertia, 30 mudas, das 45 preparadas no processo de enxertia, foram selecionadas para serem inoculadas com a bactéria *X. fastidiosa* estirpe 9a5c (as quinze restantes foram mantidas sadias como controle negativo). Esta estirpe foi isolada de uma planta matriz de *C. sinensis* com sintomas de CVC mantida em casa de vegetação. O método de inoculação da bactéria empregado foi o de inoculação mecânica, através de um objeto pontiagudo (agulha de seringa), por meio de pequenas perfurações para permitir a absorção da suspensão bacteriana de pelos vasos xilemáticos. A concentração bacteriana da suspensão era de aproximadamente $4,9 \times 10^7$ unidades formadoras de colônia por mililitros de solução (UFCml⁻¹).

O método consiste em pipetar 10µl da suspensão e as depositar sobre os caules superiores das mudas em pelo menos 3 pontos. Perfura-se com agulha sobre a gota da suspensão, onde por meio dessas pequenas perfurações a suspensão bacteriana é absorvida até os vasos xilemáticos.

Após 3 meses de inoculação da bactéria foi feito a extração do DNA, análises por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e eletroforese em gel para a confirmação da infecção da bateria. Tais procedimentos também foram realizados por Marcio Soares em 2006 na Estação Experimental de Citricultura do Instituto Agrônomo de Campinas.

3.5.3 Preparo do material vegetal

O material vegetal que já se encontrava pré-preparado pelo ex-aluno Márcio Soares foi feito da seguinte maneira: as plantas enxertadas (tanto as sadias quanto as infectadas) foram separadas em raiz, caule inferior (caule referente ao porta-enxerto), caule superior (caule referente à copa) e folhas (**Figura 3-1**),

enquanto os pés francos de *C. sinensis* e *C. limonia* foram apenas separados em folhas, caule e raiz. Estas foram lavadas, secas em estufa de circulação a 45°C durante aproximadamente 3 dias, posteriormente trituradas em moinho de facas e armazenados em refrigerador a -15°C (**Fluxograma 3-1**).

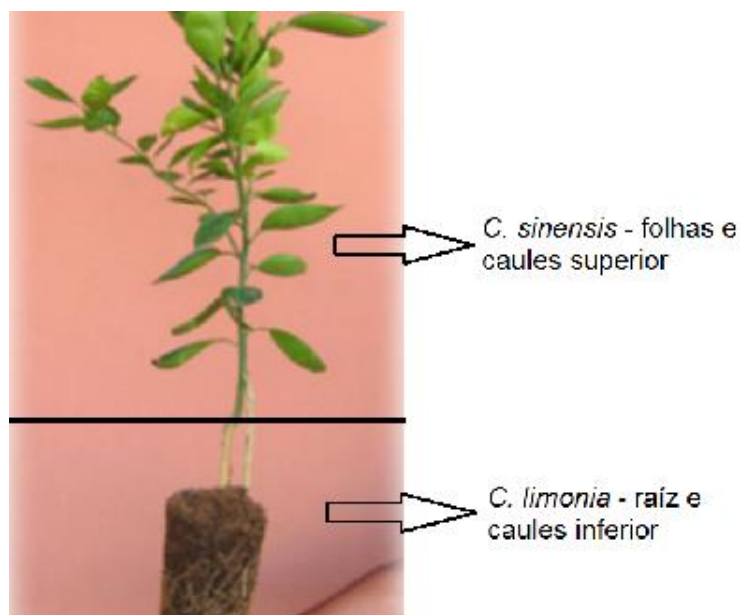


Figura 3-1: Esquema de separação das mudas enxertadas [adaptado de (BELLETE, 2014)].



Fluxograma 3-1: Preparo do material vegetal por Márcio Soares em 2006.

3.6 Preparo das amostras para análises

O material previamente moído foi moído novamente em moinho analítico a fim de diminuir a granulometria e posteriormente foi peneirado em peneiras de 250 µm a fim de deixar todas as partículas homogêneas, evitando assim erros experimentais de extração (**Fluxograma 3-2**). Para a extração, pesou-se 50mg do material já moído, transferiu-se para um tubo Falcon e adicionou-se 2 mL de uma mistura de solvente contendo MeOH:H₂O (1:1)v/v. Este foi em seguida

submetido a dois tipos diferentes de extração no intuito de avaliar o mais eficiente e rápido:

- com o auxílio de um homogeneizador/dispersor (Turax), à 20000 rpm/min, durante 90 segundos;
- em banho de ultrassom a $25 \pm 5^\circ\text{C}$, numa frequência de 40 kHz por 30 min e 20min.



Fluxograma 3-2: Preparo das amostras para análises

Após o processo de extração as amostras foram centrifugadas a 12000 rpm por 10 min., o sobrenadante coletado e o processo de extração foi repetido mais uma vez. O sobrenadante foi por fim seco em evaporador de solvente a vácuo (SpeedVac) e ressuspendido em MeOH:H₂O (1:1) v/v ate atingir a concentração de 1mg/mL e 0,5mg/mL e filtrado em filtro de seringa (PP MILLIPORE; 0,45µm poro; Ø = 13 mm)para análisesem CLAE e CLUE, respectivamente(**Fluxograma 3-3**).



Fluxograma 3-3: Metodologia de extração das amostras.

3.7 Avaliação da metodologia de extração via CLAE

A avaliação da eficiência do processo de extração foi realizada pelas possíveis diferenças no perfil cromatográfico dos extratos de folhas, caules e raízes enxertadas com sintomas (FSi, CSSi, CISi e RSi) que foi efetuada em triplicata. Para tal, houve a necessidade de se obter cromatogramas que fossem representativos, apresentando boa separação entre os picos, em um intervalo de análise de tempo razoável, e principalmente que fosse reprodutível. Comparou-se visualmente a repetibilidade de injeção através da sobreposição das bandas cromatográficas e dos tempos de retenção. As análises foram realizadas em CLAE em modo reverso de eluição gradiente e as condições de eluição, e comprimento de onda UV foram as mesmas utilizadas pelo ex-aluno de doutorado Márcio Soares (SOARES, 2011) nas suas análises via CLAE-EFS-RMN. As condições cromatográficas utilizadas podem ser verificadas na **Tabela 3-1**. A quantidade de amostra injetada foi de 20 µl, a vazão foi de 1,0 mL/min e detector de UV no comprimento de onda de 260 nm. A coluna utilizada foi a Coluna Gemini C18 Phenomenex® (150 x 4,60mm, partículas de 5 µm) e uma coluna de segurança ligada à entrada principal, sendo esta do tipo C18 (4x3 mm) também Phenomenex®.

Tabela 3-1: Gradiente de eluição utilizado durante análises de CLAE (linha A: H₂O + 0,1% de Ácido Fórmico; linha B: Acetonitrila + 0,1% de Ácido Fórmico).

Tempo(min.)	Linha A (%)	Linha B (%)
0	95	5
22	55	40
25	50	45
37	45	55
40	40	95
50	5	95
51	95	5
61	95	5

3.8 Análise da variação do perfil químico via CLUE-ESI-QToF

O estudo metabômico entre os pés francos de *C. sinensis* e *C. limonia* e entre os enxertos infectados e sadios foram realizados em triplicatas para cada parte vegetal, onde abaixo segue as partes e códigos para identificação:

- Pé franco *C. sinensis*:
 - Folhas *C. sinensis* - **FCSi**;
 - Caule *C. sinensis* - **CCSi**;
 - Raiz *C. sinensis* – **RCSi**.
- Enxerto Sadio:
 - Folhas Sadio- **FSa**;
 - CauleSuperiorSadio- **CSSa**;
 - CauleInferiorSadio – **CISa**;
 - RaizSadio – **RSa**.
- Pé franco *C. limonia*:
 - Folhas *C. limonia* - **FCLi**;
 - Caule *C. limonia* - **CCLi**;
 - Raiz *C. limonia* – **RCLi**.
- Enxerto Sintoma:
 - Folhas Sintoma-**FSi**;
 - CauleSuperiorSintoma **CSSi**;
 - CauleInferiorSintoma – **CISi**;
 - RaizSintoma – **RSi**

As análises foram efetuadas em um Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE) acoplado a um espectrômetro de massas equipado com um analisador híbrido Triplo Quadrupolo – Tempo de Vôo (Q-TOF). A coluna utilizada para este estudo foi a Acquity HSS T3 (C-18) Waters® (2.1 x 100 mm, partículas de 1.8 µm). A corrida cromatográfica foi realizada em modo reverso de eluição gradiente, sendo que as condições estabelecidas como um gradiente linear ótimas para as análises via CLUE, onde os dados da rampa de eluição seguem na **Tabela 3-2**. O fluxo utilizado foi de 0,6 mL/min, a temperatura da coluna foi mantida 40°C durante toda a corrida, e o volume de injeção foi de 2,0 µL.

Tabela 3-2: Condições cromatográficas utilizadas durante análises de CLUE-ESI-QTOF (linha A: H₂O + 0,1% de Ácido Fórmico; linha B: Acetonitrila + 0,1% de Ácido Fórmico).

Tempo (min.)	Linha A (%)	Linha B (%)
0	95	5
12	5	95
14	5	95
14,10	95	5
14,50	95	5

Por se tratar de um estudo metabômico “não direcionado”, optou-se por trabalhar tanto no modo positivo quanto no modo negativo, numa tentativa de ionizar o maior número possível de compostos. Os parâmetros de energias e fluxos de gás entre outros que foram utilizados seguem abaixo na **Tabela 3-3**:

Tabela 3-3: Parâmetros estabelecidos para análises no espectrômetro de massas

Modo de Ionização	ESI Positivo e Negativo
Temperatura da Fonte	120°C
Voltagem do Capilar	+3,0eV /-3,0eV
Cone de Amostragem	40 eV
Temperatura de Dessolvatação	450°C
Fluxo do gás (N ₂) de Dessolvatação	700,0L/h
Fluxo do gás (N ₂) do Cone	10,0L/h
Modo de Aquisição	MS ^E
Energia de Colisão	Rampa 25-35 eV
Modo de Aquisição	MS ^E
Faixa de Massa Adquirida	130 - 1000 <i>m/z</i>
<i>Lock mass (LeuEnk)</i>	Positivo, <i>m/z</i> 556.2771 e 278.1141 Negativo, <i>m/z</i> 554.2615 e 236.1035

O modo de aquisição MS^E é uma terminologia utilizada pela Waters para o modo de Aquisição de Dados Independentes (DIA – *Data-Independent Acquisition*) em analisadores de massas do tipo QTof. Esse tipo de aquisição tem mostrado uma estratégia fundamental para estudos de metabonômica, porque ele permite que se extraia em uma única corrida, tanto a massa exata de cada composto detectável, quanto seus respectivos fragmentos, sem a necessidade de uma pré-seleção de íons para a realização do MS/MS. Esse modo de aquisição MS^E registra dados sem discriminação ou seleção, e dessa maneira tem-se uma amostra muito bem explorada em uma única análise. Esse método alterna rapidamente entre duas funções: a primeira adquire dados utilizando baixas energias, obtendo assim um espectro do íon molecular precursor de massa exata; a segunda função adquire dados utilizando energias mais elevadas, obtendo dessa maneira espectro dos íons fragmentos, também com massa exata (WATERS, 2011).

3.9 Construção do banco de dados de *Citrus*

Foram utilizadas ferramentas de busca como também repositórios de artigos científicos disponíveis, levantamento bibliográfico de todas as substâncias (metabólitos secundários) detectadas e/ou isoladas registradas no formato digital no período de 1960 a 2015. As palavras-chave utilizadas nas buscas foram a associação da palavra **Citrus**+ um dos seguintes termos: **produtos naturais, metabólitos secundários, fitoquímica, biossíntese, rota biossintética, alcaloides, cumarinas, flavonoides, flavanona, flavona, flavanol, antocianina, esteroides, limonoides, triterpenos, terpenoides, alcaloides ciclopeptídicos, carotenoides, compostos bioativos, substâncias bioativas**. Todos esses termos foram pesquisados tanto no idioma Português quanto no Inglês, Espanhol e Japonês (auxílio da ferramenta Google Translate: Inglês – Japonês).

Neste levantamento não foi levado em conta compostos voláteis e a classe dos ácidos graxos, já que o trabalho em questão focou em um estudo metabômico “não direcionado” e muitos trabalhos na literatura relatam esse tipo de trabalho sendo realizado com amostras hidrofílicas apresentando melhores resultados em termos de ampla extração de compostos (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009; CEVALLOS-CEVALLOS; ROUSEFF; REYES-DE-CORCUERA, 2009). Os artigos cujo acesso era bloqueado por *paywalls* foram obtidos pelos repositórios BookZZ, BookSC e Sci-Hub. Tais repositórios de artigos científicos contornam sistemas que restringem o acesso a usuários da Internet sem registros pagos em seus sites tornando-os de acesso livre e grátis sem a necessidade de qualquer forma de registro ou taxa de adesão para seu uso.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Banco de dados do gênero *Citrus*

Como foi discutido na seção 1.7 o banco de dados metabonômico é uma parte fundamental para a identificação putativa dos metabólitos, pois a identificação depende muito de uma biblioteca que possa servir de comparação dos espectros dos íons precursores e dos fragmentos. Apesar da existência do NuBBE, um banco de dados nacional criado pelo grupo de pesquisa da UNESP de Araraquara, ele possui apenas espécies de plantas típicas do cerrado e também de algumas espécies de *Citrus*, entretanto ele não é completo para este último gênero.

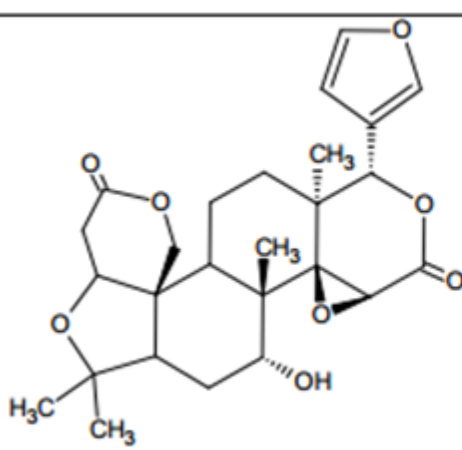
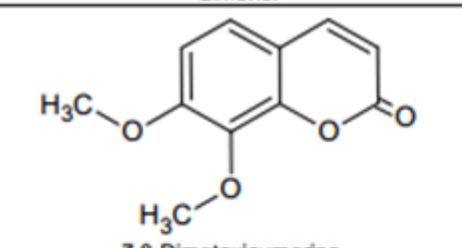
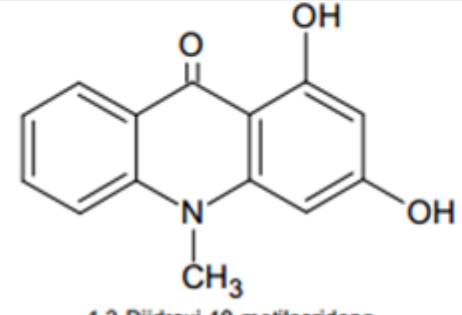
Ademais, apesar do grande valor comercial e estudos relacionados ao gênero *Citrus*, poucos são os bancos de dados que são abrangentes. Desta forma decidiu-se associar a experiência que o Grupo de Produtos Naturais da UFSCar tem em relação aos estudos fitoquímicos de espécies da família Rutaceae, em especial o gênero *Citrus*, com o conhecimento de quimiosistemática para a construção de um banco de dados de metabólitos apenas do gênero *Citrus*, no intuito de prover uma rápida seleção dos prováveis metabólitos que foram detectados nas análises via CL-EM no presente trabalho. Como foi mencionado na seção 1.8, o conhecimento quimiosistemático de uma dada família e gênero permite prever quais metabólitos poderão ocorrer nas espécies e em que parte da planta eles ocorrem mais.

Por se tratar de um estudo metabonômico “não direcionado” e muitos trabalhos na literatura relatam que nesse tipo as amostras hidrofílicas apresentam melhores resultados, em termos de ampla extração de compostos (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009; CEVALLOS-CEVALLOS; ROUSEFF; REYES-DE-CORCUERA, 2009), e pelo fato das análises no presente trabalho serem feitas com fonte de ionização *electrospray* (fonte de ionização mais indicada para compostos de média a alta polaridade), o levantamento dos dados não levou em conta compostos voláteis e a classe dos ácidos graxos e glicérides.

Foram catalogadas todas as substâncias já isoladas ou detectadas disponíveis na literatura de 1960 – 2015 e estas foram colocadas em uma tabela

como modelo mostrado abaixo(Tabela 4-1), detalhes e a tabela completa segue no Anexo no CD.

Tabela 4-1:Estrutura da tabela do banco de dados

Estrutura/Nome	Espécie de <i>Citrus</i>	Extraído	Fórmula molecular	Massa Monoisotópica
 <p>Limonol</p>	<i>C. paradisi</i>	Sementes	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	472,2097
	<i>C. reticulata</i>	Sementes		
 <p>7,8-Dimetoxicumarina</p>	<i>C. medica</i>	Casca do caule	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	206,0579
 <p>1,3-Dihidroxi-10-metilacridona</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz	C ₁₄ H ₁₁ NO ₃	241,0738

Foram catalogadas 630 substâncias, das quais 153 são terpenoides (triterpenos, esteroides, limonoides, carotenoides e sesquiterpenos), 139 cumarinas (furano-, pirano cumarinas lineares e angulares e bicumarinas), 191 flavonoides (favanol, favanona, flavona, antocianina, isoflavonoide – glicona e agliconas), 83 alcaloides (quinolinicos, ciclopéptídicos e ligados a núcleos cumarínicos) e 64 classificados como outros (derivados fenólicos, amins, amidas, entre outros). Todas as massas monoisotópicas foram calculadas pelo software ACD/ChemSketch freeware versão 12.01 com quatro casas de significância já que

as análises foram feitas em um analisador QTof que permite medidas de massa com alta exatidão e resolução do íon molecular.

A utilização do banco de dados de *Citrus* permitiu a seleção pela massa monoisotópica 97 substâncias que foram putativamente identificadas através de perfil de fragmentação e quando possível por comparação com perfis de fragmentação de banco de dados do METLIN, HMDB e MassTRIX, resultando em 58 substâncias putativamente identificadas entre os diferentes tratamentos (pés francos e enxertos). A utilização de todos os bancos de dados disponíveis resultou na putativa identificação de 64 substâncias.

4.2 Método de extração

A escolha do método de extração levou em consideração a eficiência, e o tempo total necessário e o quão laborioso era. O processo de divisão dos órgãos vegetais se encontra descrito na seção 3.8, onde haviam 14 partes vegetais entre pés francos e enxertos que foram analisados em triplicatas, totalizando no final 42 amostras. Os métodos de extração avaliados foram com o banho de ultrassom em tempos de 20 e 30 min para cada extração, um segundo usando o homogenizador com o tempo de 90 segundos para cada extração, ressaltando que o processo foi repetido mais uma vez, conforme explicado na seção 3.6. As condições cromatográficas, volume de injeção e comprimento de onda do detector UV são as descritas na seção 3.7.

As duas metodologias de extração, por banho de ultrassom (20 e 30 min.) e por homogenizador, não apresentaram diferenças no perfil cromatográfico como pode ser evidenciado na **Figura 4-1**. A primeira foi escolhida pelo fato de que no banho de ultrassom poderia ser feita extração com 12 amostras por vez, enquanto com homogenizador era feito um por vez, além da necessidade de ter que limpar sempre o aparelho para realizar uma nova extração para evitar contaminações. Não houve mudanças do perfil cromatográfico entre as extrações por banho de ultrassom a 20 e 30 min., assim foi escolhido o tempo menor (20 min.).

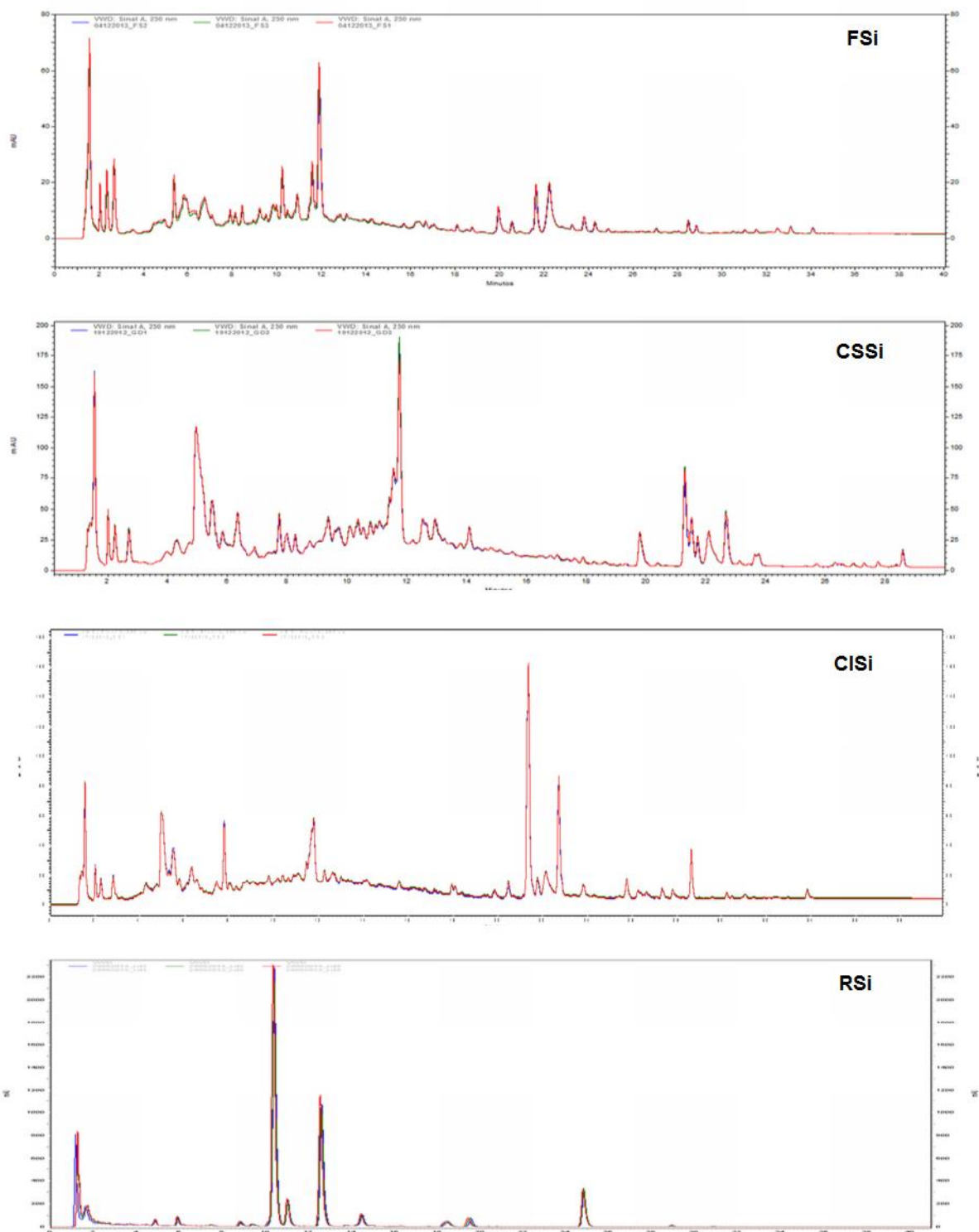


Figura 4-1: Cromatogramas sobrepostos obtidos via CLAE-UV dos extratos de: **FSi** – folhas com sintoma; **CSSi** – Caule superior com sintoma; **CISi** – Caule inferior com sintoma; **RSi** – Raiz com sintoma. (–) Extração banho ultrassom 30 min.; (–) Extração banho ultrassom 20 min.; (–) Homogeneizador UltraTurrax.

Determinado o método de extração mais eficiente e menos laborioso (banho de ultrassom durante 20 minutos) foi avaliada a reprodutibilidade do

rendimento de extração do método. O rendimento dos extratos foram calculados em relação à massa do material vegetal seco utilizado para a extração (50mg), conforme a **Tabela 4-2**, onde pode-se ver bons rendimentos com boa reprodutibilidade.

Tabela 4-2: Valores de rendimentos de extração (n=5) das amostras de diferentes órgão vegetais.

Amostra	Extrato (mg)	Rendimento (%)	CV(%)
FCLi	5,8	11,6 ± 0,8	6,9
CCLi	4,5	9,0 ± 0,9	9,9
RCLi	4,8	9,6 ± 1,0	10,6
FCSi	5,8	11,6 ± 0,8	6,9
CCSi	3,6	7,2 ± 0,9	13,0
RCSi	5,1	10,2 ± 0,4	3,9
FSa	4,8	9,6 ± 0,8	8,3
CSSa	3,5	7,0 ± 0,8	12,7
CISa	3,7	7,4 ± 0,6	10,8
RSa	3,9	7,8 ± 0,7	9,6
FSi	3,7	7,4 ± 0,8	10,8
CSSi	2,6	5,2 ± 0,7	14,3
CISi	2,2	4,4 ± 0,5	11,1
RSi	2,8	5,6 ± 0,5	8,7

CV = Coeficiente de variação

4.3 Estudo Metabolômico

Todos os resultados foram obtidos com plantas da mesma idade e nas mesmas condições, evitando assim resultados equivocados de variação do perfil químico devido a fatores como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, etc.

Optou-se por eluição gradiente, pois as substâncias presentes na amostra apresentaram ampla faixa de polaridade. Nesses casos, nenhuma condição isocrática consegue, ao mesmo tempo, oferecer boa resolução, tempo de análise adequado e pequeno alargamento de bandas. Quando isso acontece, o modo de eluição gradiente é a melhor opção a ser adotada, pois permite uma retenção adequada de todos os componentes de interesse, e conseqüentemente, as bandas cromatográficas podem ser melhor detectadas (SNYDER; KIRKLAND; GLAJCH, 1997).

A análise do perfil químico de uma dada espécie constitui um método qualitativo e pode-se ou não validar esses métodos utilizando as propriedades de mérito como a repetibilidade, e a precisão de injeção. Nesse trabalho, foram feitas extrações em triplicatas de cada parte vegetal e comparou-se visualmente a repetibilidade e a precisão de injeção através da sobreposição das bandas cromatográficas e dos tempos de retenção. Os resultados apresentados foram obtidos usando-se o modo de aquisição de dados MS^E, nos modos positivo e negativo, onde se obteve uma análise bem explorada de cada composto detectado, com espectro do íon molecular precursor de massa exata, através da baixa energia de ionização, e espectro dos íons fragmentos, também com massa exata, através de energias mais elevadas.

O estudo metabonômico realizado foi feito em duas partes, em que um avaliou os prováveis mecanismos bioquímicos do metabolismo secundário responsáveis pela resistência do *C. limonia* à CVC e a susceptibilidade do *C. sinensis* a esta. A outra parte avaliou, ao analisar plantas enxertadas sadias e doentes, prováveis mecanismos bioquímicos envolvendo o metabolismo secundário, como uma resposta de defesa ao estímulo fisiopatológico causados pela CVC.

4.3.1 Avaliação da variação do perfil cromatográfico dos extratos de *Citrus* estudados via CLUE-ESI-QToF

As **Figura 4-2a** **Figura 4-5** mostram os cromatogramas de íons totais obtidos com as replicatas (n=3) de todas as partes vegetais das espécies estudadas no modo negativo e positivo de ionização. Pôde-se concluir que a técnica de extração apresentou uma boa reprodutibilidade, além do fato de que o gradiente linear simples de água/ACN acidificados com ácido fórmico resultou em uma boa resolução e distribuição homogênea das bandas cromatográficas.

Através dos cromatogramas de íons totais foi possível também obter a ionização de diversos compostos. Uma grande quantidade de analitos foi encontrada, mas aparentemente o modo negativo apresentou melhor sensibilidade e capacidade de detecção de compostos, sendo o modo de detecção que gerou uma matriz de dados mais rica para o processamento quimiométrico.

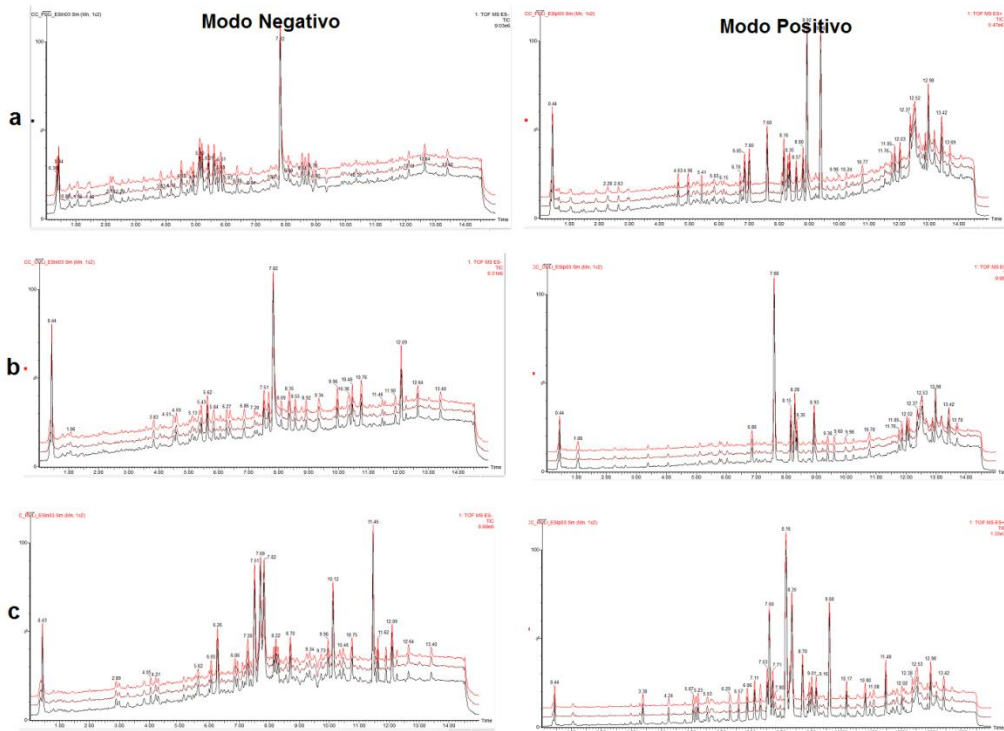


Figura 4-2:Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos *C. limonia*: **a** - FCLi; **b**- CCLi; **c** -RCLi. Modo de ionização positivo e negativo.

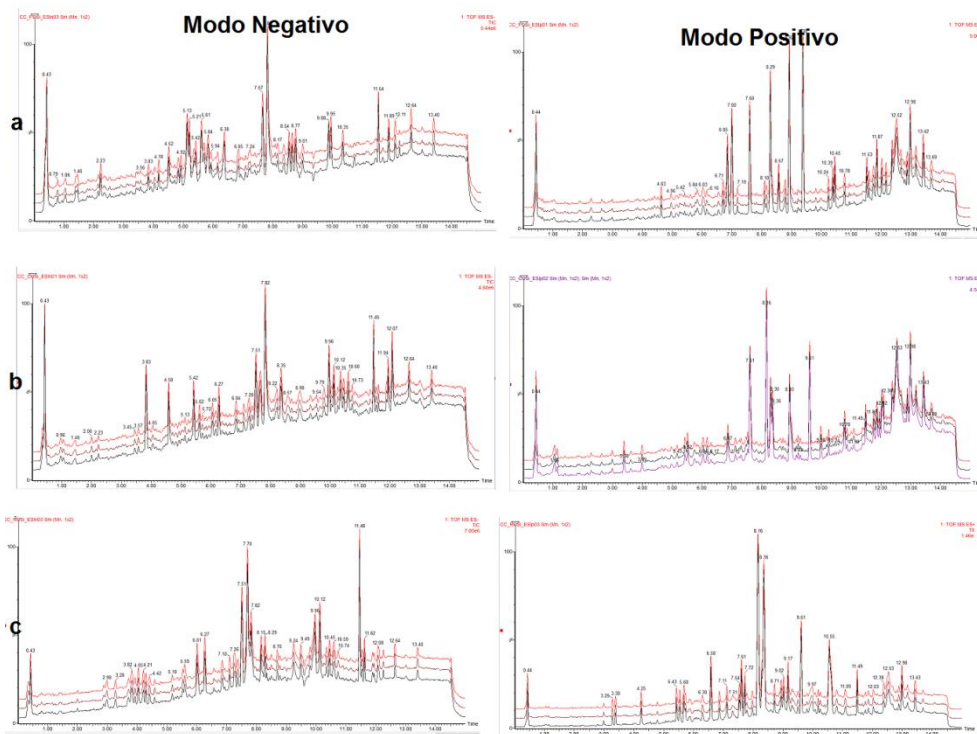


Figura 4-3:Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos *C. sinensis*: **a** - FCSi; **b**- CCSi; **c** -RCSi. Modo de ionização positivo e negativo.

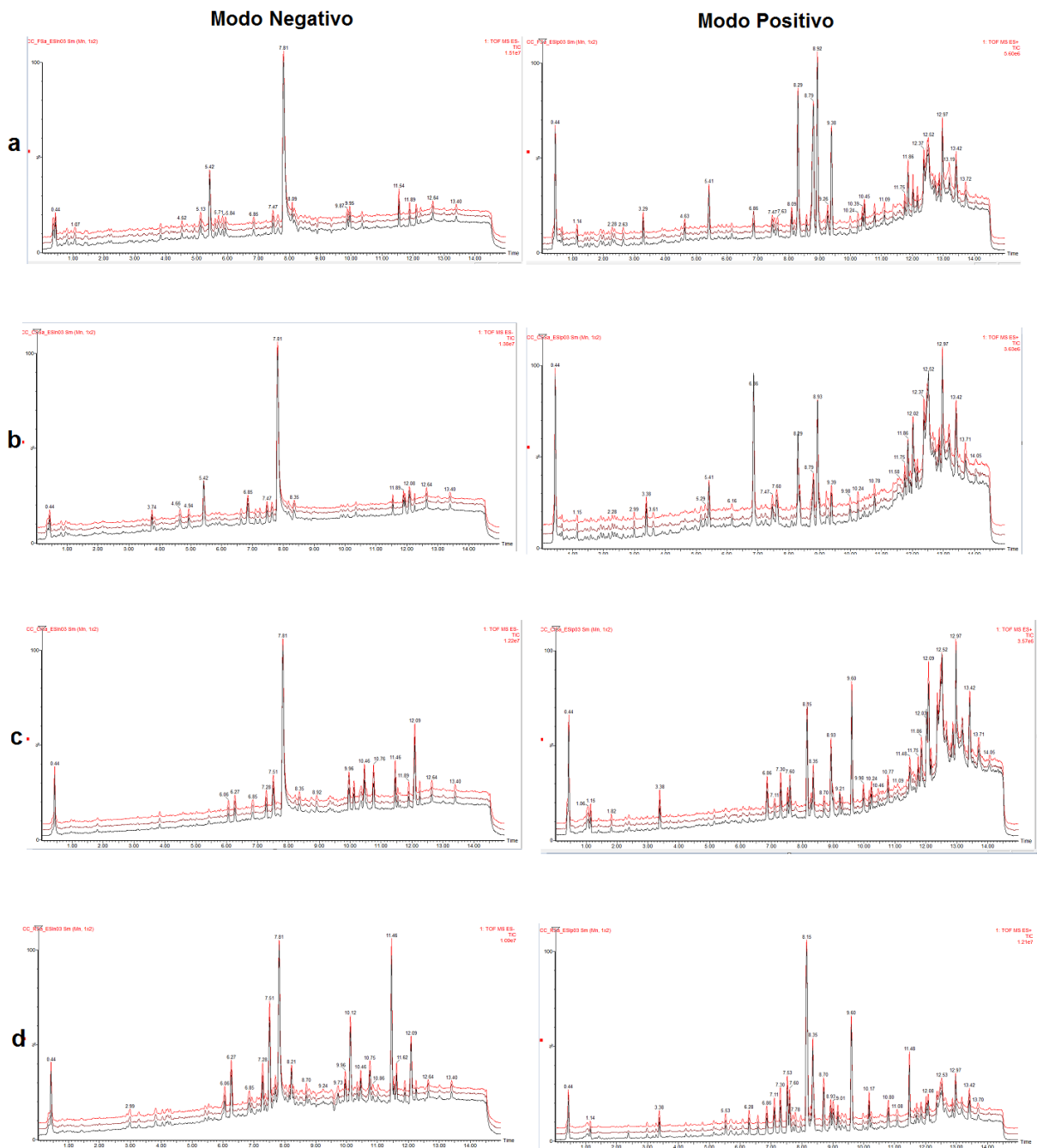


Figura4-4: Cromatogramas sobrepostos das replicatas (n=3) obtidos via CLUE-ESI-QTof dos extratos sadios: **a** - FSA; **b** - CSSa; **c** - CISa; **d** - Rsa. Modo de ionização positivo e negativo.

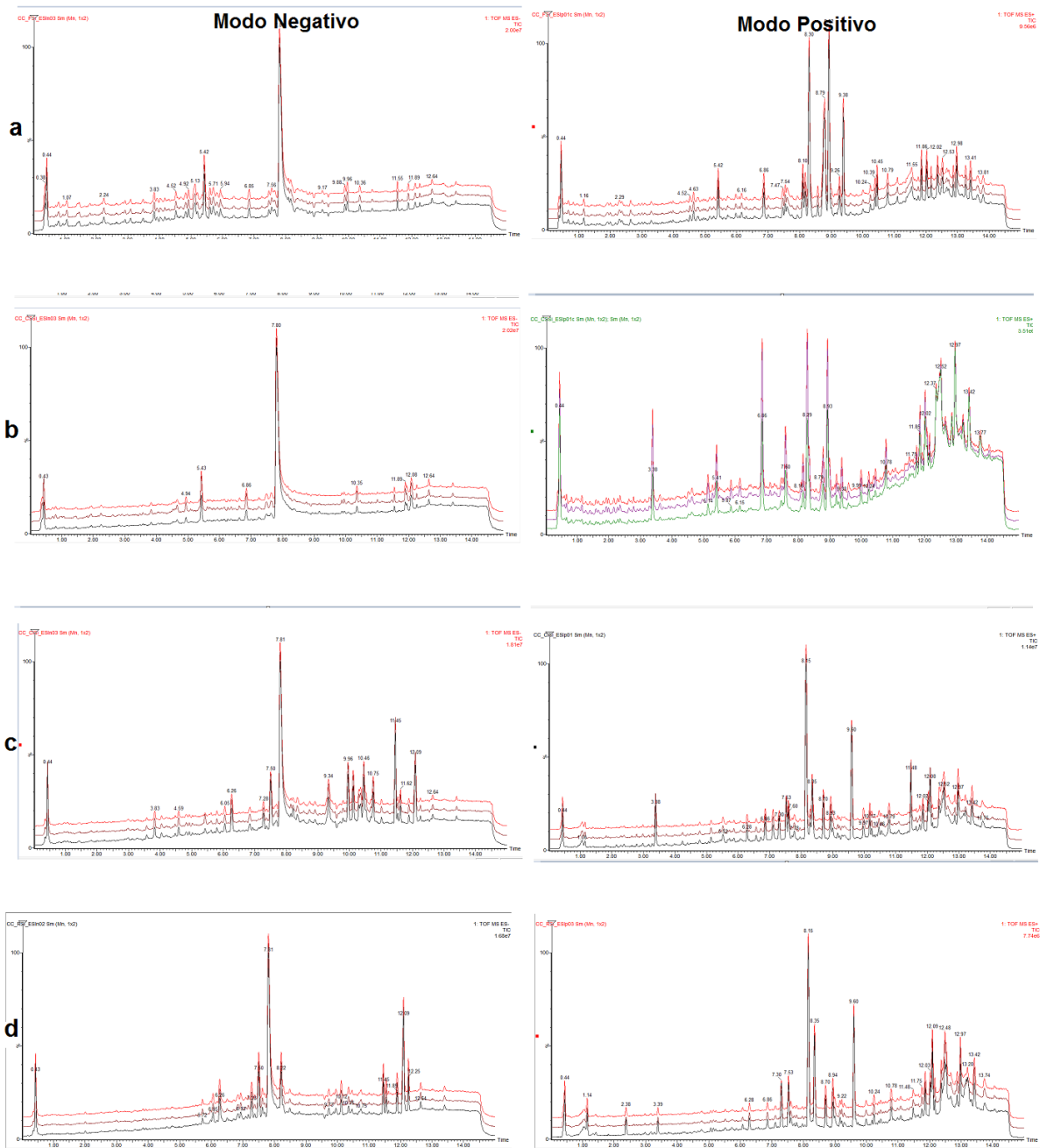


Figura 4-5: Cromatogramas sobrepostos das replicatas ($n=3$) obtidos via CLUE-ESI-QTOF dos extratos doentes: **a** - FSi; **b** - CSSi; **c** - CISi; **d** - RSi. Modo de ionização positivo e negativo.

A comparação visual entre os pés francos (**Figura 4-7**) revelou grandes diferenças no perfil cromatográfico, tanto em termos de intensidade de bandas cromatográficas como em presença e ausência de bandas. Por sua vez, a comparação entre os tratamentos dos enxertos sadios e infectados com CVC (**Figura 4-6**) apresentaram poucas diferenças visualmente, contudo uma análise mais detalhada nas bandas cromatográficas obtidas no modo negativo de

ionização revelou grandes diferenças entre os tratamentos. Contudo, estes serão abordados mais sucintamente através das análises quimiométricas multivariadas.

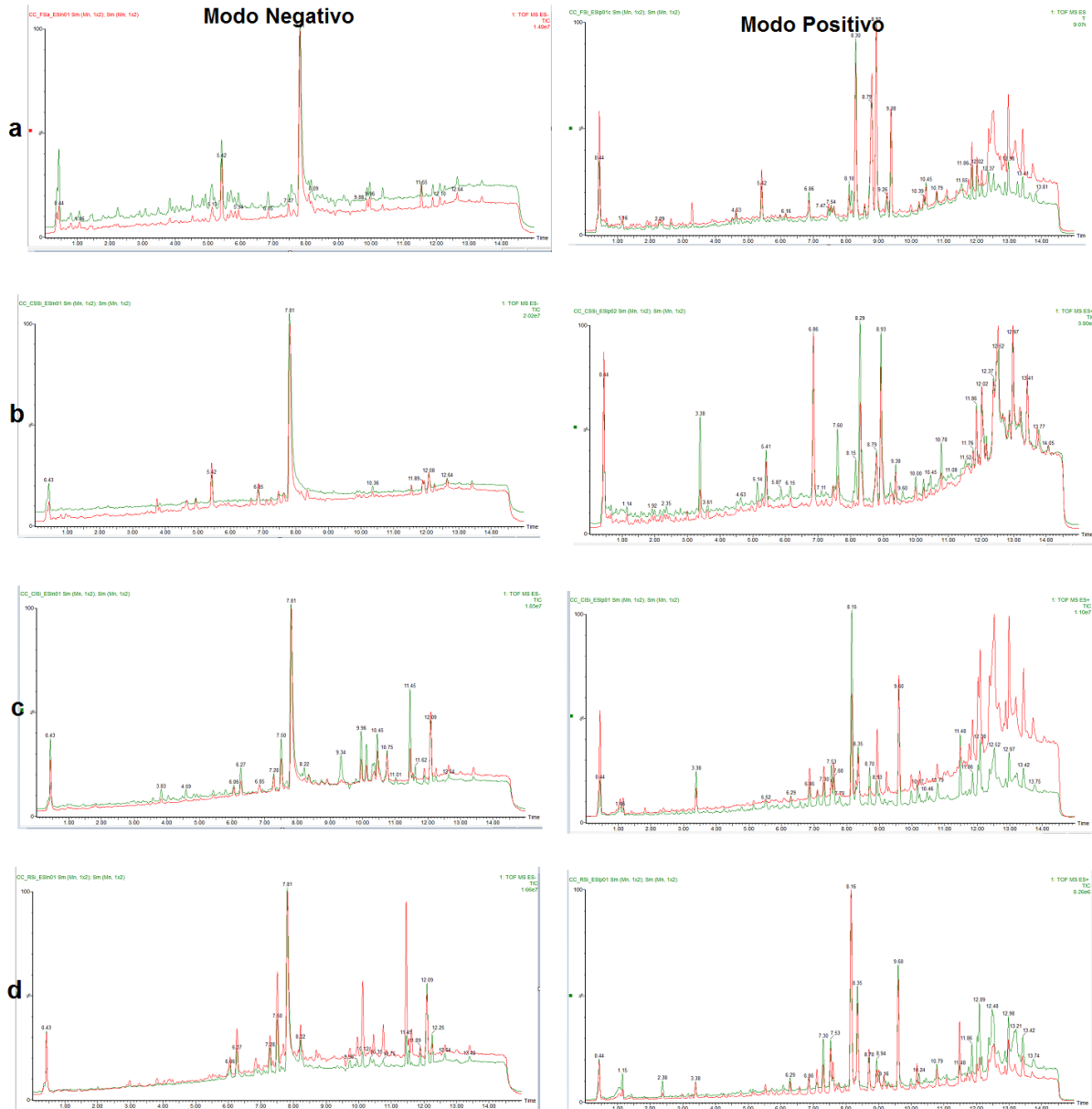


Figura 4-6 Cromatogramas sobrepostos dos exortos obtidos via CLUE-ESI-QTo dos extratos: **a** - Folhas; **b** - Caule Superior; **c** - Caule Inferior; **d** - Raiz. Modo de ionização positivo e negativo. (—) Amostra Sadia; (---) Amostra Infectada.

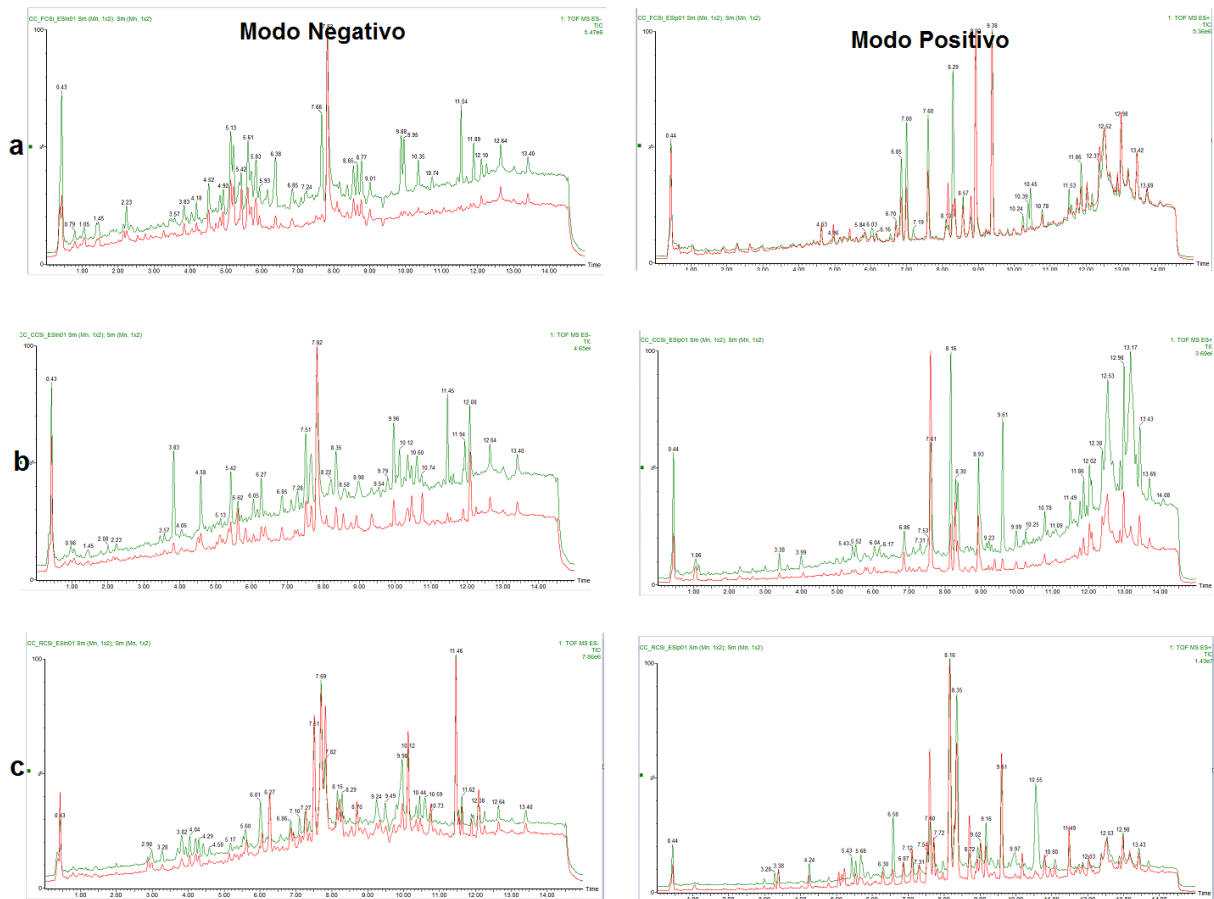


Figura 4-7: Cromatogramas sobrepostos dos pés francos obtidos via CLUE-ESI-QToF dos extratos: **a** - Folhas; **b** - Caule; **c** - Raiz. Modo de ionização positivo e negativo. (—) *C. limonia*; (—) *C. sinensis*.

4.3.2 Organização e pré-tratamento dos dados

Os cromatogramas obtidos foram transformados em dados numéricos através da integração das áreas das bandas cromatográficas, em seguida esses dados foram organizados em uma matriz, na qual as linhas representam as amostras e as colunas as variáveis nas quais em cromatografia são representadas pelos tempos de retenção.

Em sua grande maioria, os dados antes de serem submetidos a análises quimiométricas eles necessitam de algum pré-tratamento, pois estes podem não ter uma distribuição adequada para a análise, dificultando a extração de informações úteis e interpretação dos mesmos.

No caso das análises por CLUE-ESI-QToF realizado nesse trabalho, teve-se como objetivo a ionização de um maior número possível de analitos (análise metabômica “não-direcionada”), onde as energias para tal favoreceram

a ionização de algumas espécies em relação às outras. Com isso, dado tal fato tais bandas cromatográficas no modelo podem ser processadas como de maior importância em relação às bandas que apresentaram uma menor ionização. Desta maneira, com o objetivo de adequar as amostras do conjunto de maneira a maximizar ou minimizar o efeito de certas variáveis no todo, foi feito o pré-processamento de autoescalamento.

Esse tipo de pré-processamento permite que seja dado um mesmo peso a todas as variáveis, ou seja, permite que uma dada variável não se sobreponha às outras de igual importância.

No autoescalamento a matriz é centrada na média dos valores subtraindo-se o valor de cada elemento da matriz da média de cada variável (coluna) e, em seguida, é normalizada pelo desvio padrão dividindo-se o valor de cada elemento centrado na média pelo desvio padrão da variável, conforme a equação abaixo:

$$x_{ij (as)} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j}$$

onde: $x_{ij (as)}$ = valor autoescalado da variável j na amostra i ;

x_{ij} = valor da variável j na amostra i ;

\bar{x}_j = média dos valores das amostras na coluna j ;

s_j = desvio padrão dos valores da variável j .

Com esse pré-processamento as variáveis terão dessa forma média zero e um desvio padrão igual a um. Além do mesmo peso a todas as variáveis, o autoescalamento permite evidenciar e eliminar variáveis anômalas (*outliers*) que possam dificultar as análises quimiométricas (WOLD, 1987). Feito isso, as variáveis anômalas foram removidas, assim como as que tinham menos importância para a diferenciação das amostras, e foi gerada uma matriz de dados para os pés francos de 18 linhas e 183 colunas modo positivo e 18 linhas e 266 colunas no modo negativo de ionização, para os enxertos 24 linhas e 183 colunas e 24 linhas e 266 colunas no modo positivo e negativo de ionização, respectivamente.

4.3.3 Investigação da relação susceptibilidade-resistência entre as espécies de *C. sinensis* e *C. limonia* à CVC

Conforme foi descrito na introdução, sabe-se que as espécies de *C. sinensis* e suas variedades são susceptíveis ao processo de infecção da bactéria *X. fastidiosa*, enquanto a espécie *C. limonia* é resistente não apresentando sintomas ou testes sorológicos positivos (LARANJEIRA; POMPEU JUNIOR; HAKAKAVA, 1995). A literatura relata que o provável mecanismo de resistência pode estar relacionado ao impedimento do processo de locomoção das bactérias pelo xilema impedindo assim a colonização, contudo não se sabe se esse mecanismo de defesa se deve a processos físicos ou bioquímicos (NIZA, 2014).

Desta maneira, visando os aspectos bioquímicos, principalmente os referentes ao metabolismo secundário, foram analisados os diferentes órgãos (folhas, caule, raiz) dos pés francos tanto de *C. limonia* quanto *C. sinensis*, no intuito de se obter um melhor entendimento de quais rotas metabólicas são mais expressas em uma espécie em relação a outra e se estes explicariam a resistência do primeiro.

4.3.4 PCA e HCA das amostras de *C. sinensis* e *C. limonia*

PCA é uma técnica não supervisionada que reduz a dimensionalidade da matriz de dados original, retendo a quantidade máxima de variabilidade (porcentagem de variância explicada), e que permite a visualização do arranjo original das amostras em um espaço n-dimensional (geralmente 2 ou 3 dimensões), identificando as direções nas quais a maior parte da variância é retida, permitindo uma relação entre variáveis e as observações a serem estudadas, assim como também permitindo reconhecer a estrutura de dados. É, por conseguinte, possível explicar as diferenças entre as várias amostras, por meio dos elementos obtidos a partir da matriz de correlação generalizada dos conjuntos de dados, e ao mesmo tempo para determinar quais as variáveis que mais contribuem para a diferenciação (CRUZ et al., 2013).

HCA é um método de reconhecimento não supervisionado de padrões, que representa os dados multidimensionais em um gráfico bidimensional (dendrograma), utilizando uma técnica aglomerativa: considera inicialmente cada amostra como um grupo unitário, e faz agrupamentos sistematicamente, por ordem de similaridade (BARKER; RAYENS, 2003). Nas análises por HCA, a similaridade

foi calculada através da distância euclidiana entre as amostras e as conexões foram realizadas conforme o método de Ward.

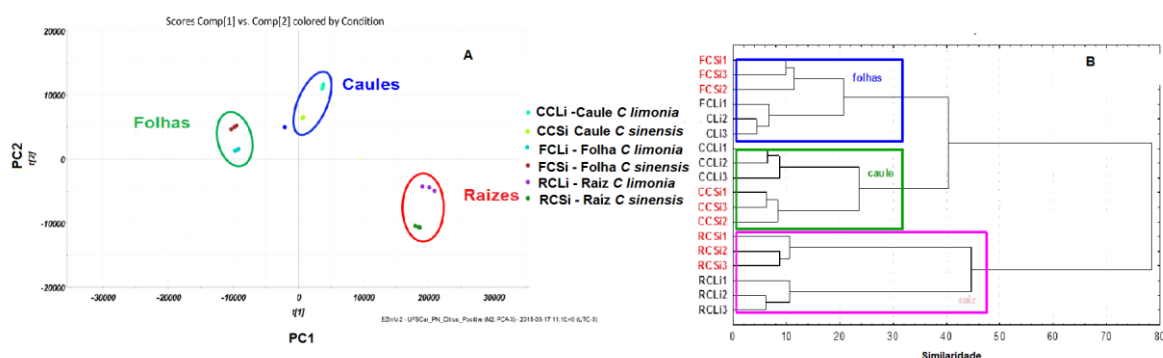


Figura 4-8: Análises quimiométricas no modo positivo de ionização de todos os órgãos vegetais dos pés francos: **A**-PCA – gráfico de scores de PC1xPC2 ; **B**-HCA- dendrograma de similaridade

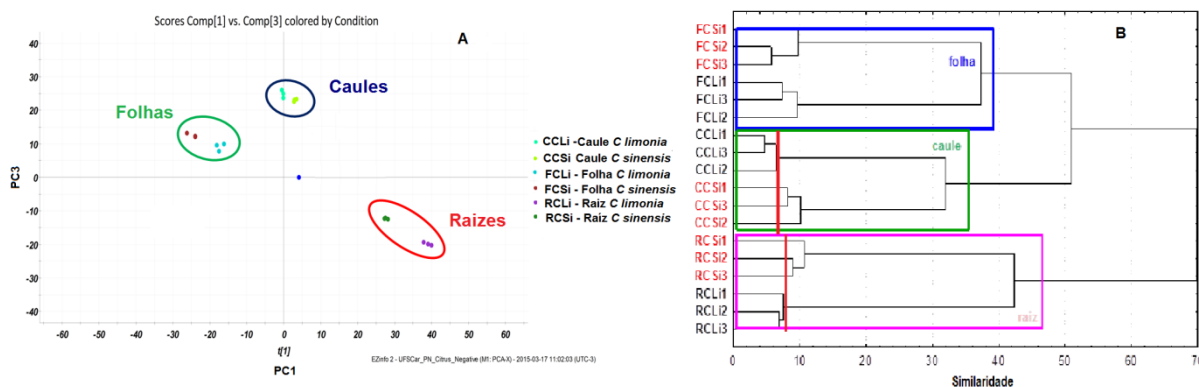


Figura 4-9:Análises quimiométricas no modo negativo de ionização de todos os órgãos vegetais dos pés francos: **A**-PCA – gráfico de scores de PC1xPC3 ; **B**-HCA- dendrograma de similaridade

A projeção das amostras no novo sistema de eixos (PC's) é visualizada através do gráfico de scores (**Figura 4-8-AeFigura 4-9-A**). Os gráficos de scores da análise de todos os dados dos espectros de massas no modo positivo e negativo de ionização mostram a separação das amostras em dois grandes grupos. As amostras das raízes aparecem mais distantes, encontrando-se na área negativa do gráfico. As amostras das folhas e caules estão mais próximas, ocupando a parte superior do gráfico. Estes gráficos indicam que ambos levarão a dendrogramas similares.

Nas análises tanto os resultados em modo positivo (**Figura 4-8-B**) quanto em modo negativo (**Figura 4-9-B**), foram observados 2 grupos, um deles formado

exclusivamente por amostras oriundas da raiz e o segundo se dividindo em outros dois correspondendo a analitos do caule e das folhas. Essa separação em dois grupos era esperada considerando o poder de previsão da quimiosistemática. Ou seja, é bem conhecido que as raízes de *C. limonia* como porta-enxerto ou sozinho, e as de *C. sinensis* são riquíssimas em cumarinas, as quais aparecem como traços nos demais órgãos. Isso será confirmado em análises quimiométricas discutidas em itens afrente, usando espectrometria de massas e análises quimiométricas supervisionadas (*s-plot*), o qual permite identificar os respectivos íons que mais diferenciam nesses órgãos.

Esse grupo é subdividido em dois, correspondendo a amostras das raízes de *C. sinensis* e *C. limonia* (em vermelho e preto, respectivamente **Figura 4-8-B** e **Figura 4-9-B**). Isto também seria esperado, pois várias cumarinas são identificadas nas raízes das duas espécies, porém em diferentes concentrações, o que será confirmado nas análises mais afrente. O segundo grupo é subdividido em dois, correspondendo às amostras do caule e das folhas, cujos órgãos compartilham alguns flavonoides, praticamente ausentes nas raízes. Os flavonoides são mais abundantes em concentração e números nas folhas, levando a sua separação do grupo dos caules. O perfil químico do *Citrus* permite essa explicação, a qual também será confirmada nas próximas discussões. Dentro desses dois grupos verifica-se uma subdivisão separando as respectivas espécies, o que com certeza ocorreu devido à diferença na área das bandas correspondentes. Esses resultados auxiliarão nas próximas análises via *S-plot*, permitindo prever o perfil químico distinto para as raízes, similares nos demais órgãos, diferenciando em concentração.

Os dendrogramas obtidos com os dados oriundos no modo positivo ou negativo de ionização são similares na separação dos dois grupos e como estes foram subdivididos. Contudo ao nível de separação das respectivas espécies notam-se algumas diferenças, por exemplo, no modo positivo de ionização FCSI1 e FCSI3 compartilham alguns íons não comuns em FCSI2, enquanto observa-se o contrário no modo negativo, FCSI1 se separa de FCSI2 e FCSI3 compartilham alguns íons não comuns em FCSI1. Ou seja, nota-se que há algumas diferenças, mas no geral pode-se dizer que o uso de ambas as ionizações podem levar a bons resultados em análise envolvendo a identificação dos respectivos metabólitos.

A importância (peso) de cada variável na descrição dos eixos (componentes) é apresentada no gráfico de PCA de *loadings*. Nesse gráfico além dos círculos representando as amostras, tem-se também triângulos que representam diferentes íons detectados no experimento. Quanto mais próximo o triângulo de um determinado grupo de amostras, mais esse íon é representativo desse grupo. Íons equidistantes entre 2 ou 3 grupos indicam que os mesmos apresentam abundância semelhante nos diferentes grupos de amostras. Na **Figura 4-10 e Figura 4-11**, tem-se o gráfico de *loadings* com todos os órgãos estudados em um único gráfico no modo positivo e negativo, respectivamente. Nesse gráfico é possível verificar a existência de íons que são característicos para cada parte da planta. Apesar de mostrar quais são os íons que mais contribuem para a diferenciação entre as amostras e diminuir o número de íons que teria que ser investigado na tentativa de identifica-lo, esse tratamento quimiométrico não faz uma discriminação da confiabilidade e do quanto esses íons estão variando nas análises sendo, portanto, necessário uma análise mais refinada que diminuirá a dimensionalidade dos dados obtidos, por isso nessas análises de PCA de *loadings* não foi discriminado aqui o número de íon e quais são eles.

Dessa maneira, as matrizes de cada órgão foram novamente reavaliadas separadamente em pares de órgão no qual se teve por objetivo avaliar suas diferenças através das análises discriminantes de *s-plot*.

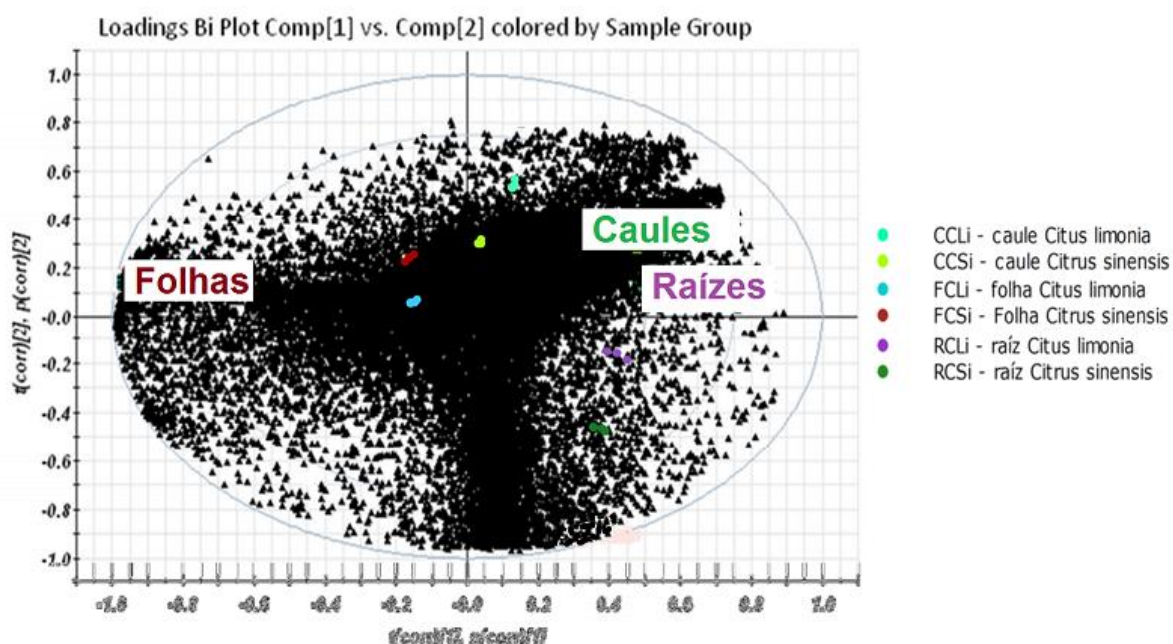


Figura 4-10 Análise de PCA: gráfico de *loadings* da PC1 X PC2 das análises realizadas no modo positivo de ionização dos órgãos vegetais.

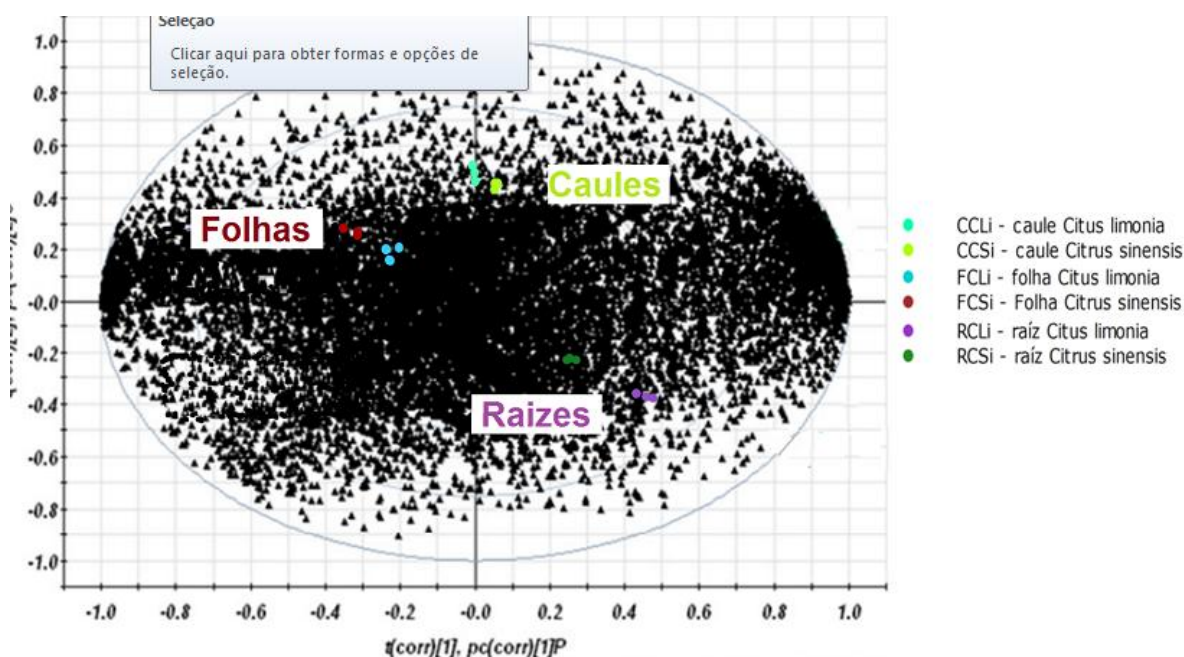


Figura 4-11 Análise de PCA: gráfico de *loadings* da PC1 X PC3 das análises realizadas no modo negativo de ionização dos órgãos vegetais.

4.3.5 Análises discriminantes dos biomarcadores via *S-plot* dos pés francos das análises no modo positivo de ionização

O *S-plot* é um gráfico de dispersão que pode ser utilizada para explicar a influência variável sobre o modelo. Através da combinação de covariância (eixo-X,) e perfis de correlação de *loadings*(eixo-y), o *S-plot* pode ser utilizado para a seleção de metabólitos estatisticamente significativos e que são de maior relevância no estudo. O quadrante superior direito de o *S-plot* mostra os componentes (no caso dessa tese, as bandas cromatográficas) que estão em maior quantidade no grupo de controle, enquanto que o quadrante inferior esquerdo mostra componentes que estão em maior quantidade no grupo tratado, neste trabalho tais grupos inferiores e superiores no gráfico são *C. limonia* e *C. sinensis*, respectivamente. Quanto mais longe ao longo do eixo-x maior será a contribuição para a variância entre os grupos, ao passo que, quanto mais distante do eixo-y maior a confiabilidade do resultado analítico. A grande vantagem do uso dessa técnica é poder identificar os íons que são mais representativos. Portanto, para esta técnica em especial, será analisado cada órgão separadamente.

4.3.5.1 Análises das raízes dos pés-francos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-12) no modo positivo de ionização das raízes foi possível evidenciar como mais significativos 13 bandas cromatográficas (Figura 4-13 e Tabela 4-3 – página 90).

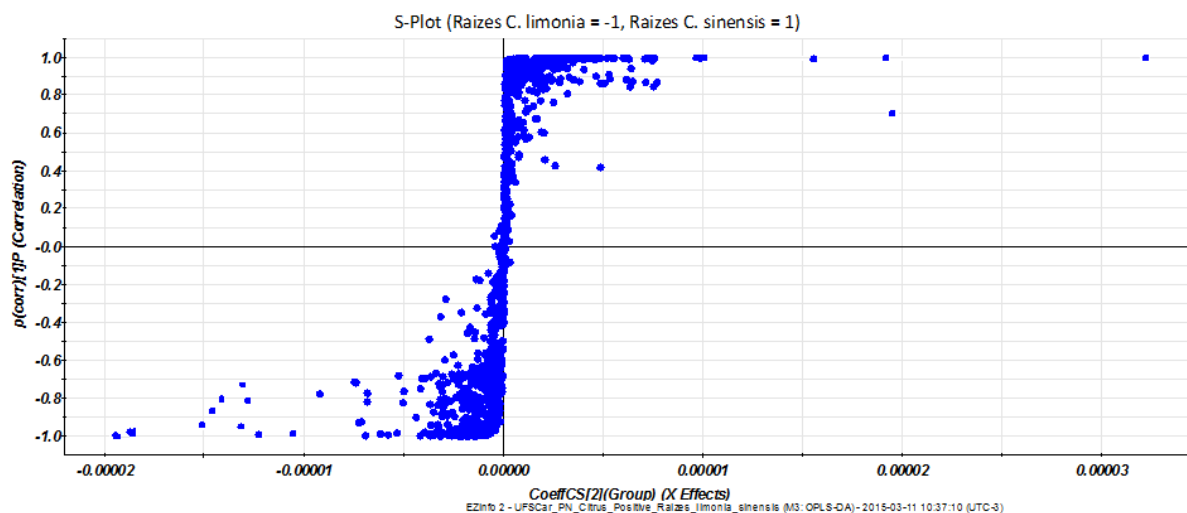


Figura 4-12: Gráfico *S*-Plot das raízes de *C. sinensis* e *C. limoniano* modo positivo de ionização.

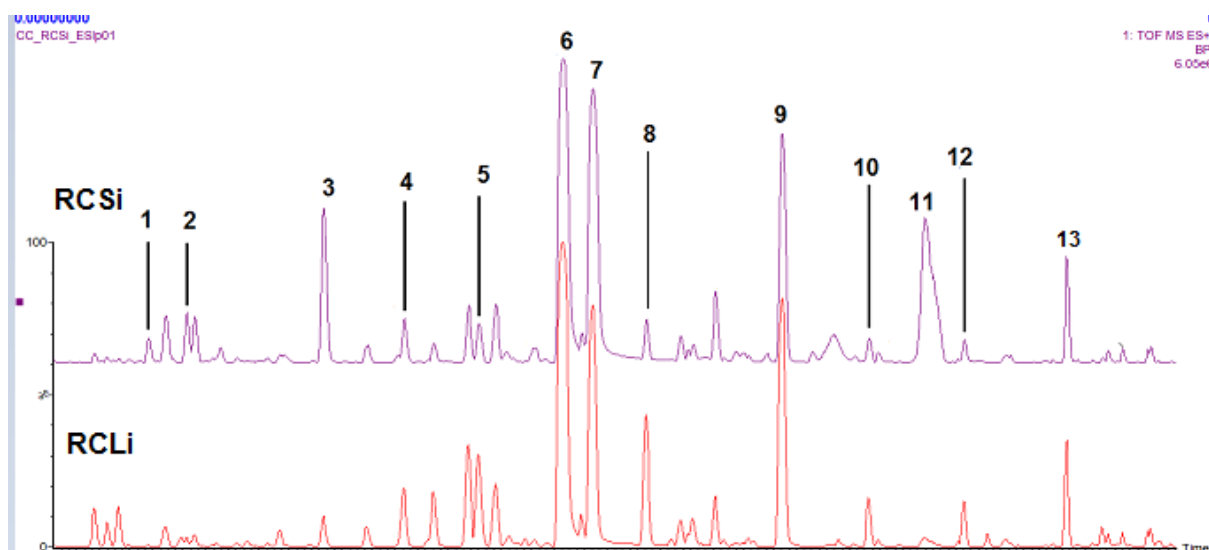


Figura 4-13: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S*-plot nas matrizes das raízes.

As bandas cromatográficas 6 e 7 com os t_r de 8,15 e 8,35 min. apresentaram m/z 229,0869 referente a $[M+H]^+$, cuja massa monoisotópica neutra é de 228,0792 Da, referente a fórmula molecular proposta $C_{14}H_{12}O_3$. No banco de dados feito para essa pesquisa essa massa monoisotópica foi correlacionada àquelas das cumarinas Seselina e Xantiletina (Figura 4-16). Esses dois isômeros

possuem massa monoisotópica de 228,0786 Da, apresentando uma diferença de apenas- 2,1 ppm da massa experimental, confirmando a identidade desses íons como xantiletina ou seselina. Analisando os íons moleculares e íons produtos dessas bandas cromatográficas, foi possível observar para a banda com t_r de 8,15min. o íon produto com pico base de m/z 213,0559 (**Figura 4-14**), no qual foi utilizado por Soares(SOARES, 2011) (2011), como íon de transição (229→213) para a quantificação da cumarina xantiletina em análises via CLAE-APCI-EM/EM usando energia de colisão de 25eV. Apesar da fonte de ionização ser diferente a energia de colisão utilizada foi a mesma podendo assim propor a identidade da banda com t_r de 8,16min. como a cumarina xantiletina, pois trabalhos feito com perfis de fragmentação de cumarinas por IE constatou que o íon m/z 213 em cumarinas lineares são bem mais estáveis que em angulares devido a linearidade da aromaticidade fornada nesse fragmento(VUL'FSON; GOLOVKINA, 1975).Segundo a análise via *S-plot* (**Tabela 4-3**) a concentração da xantiletinaé cerca de 1,50 vezes menor nas raízes de *C. limonia* em relação às de *C. sinensis*.

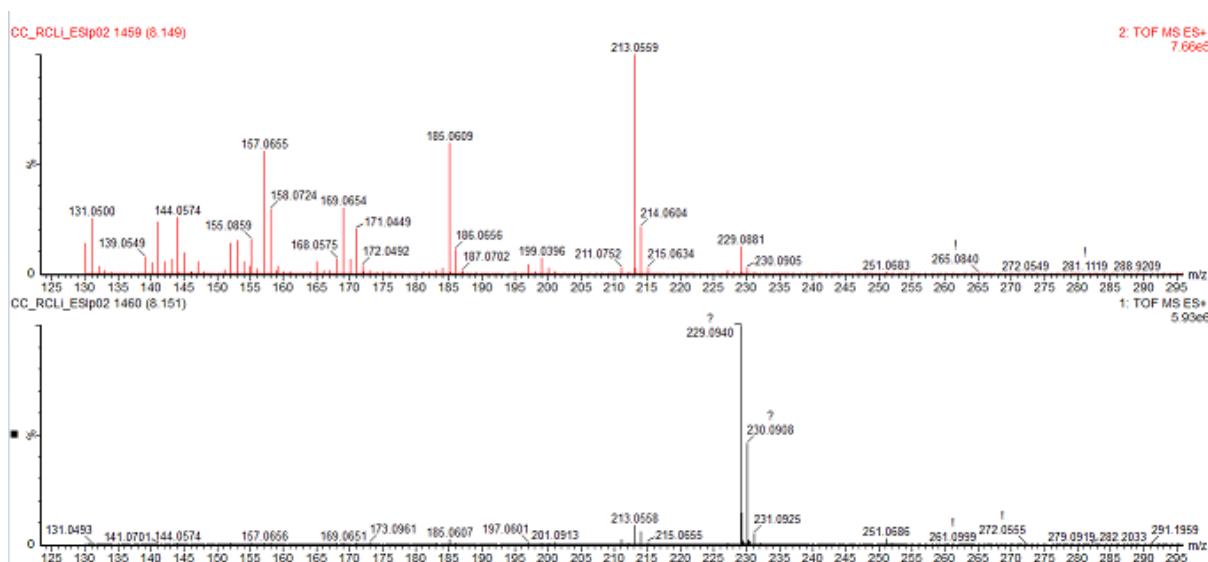
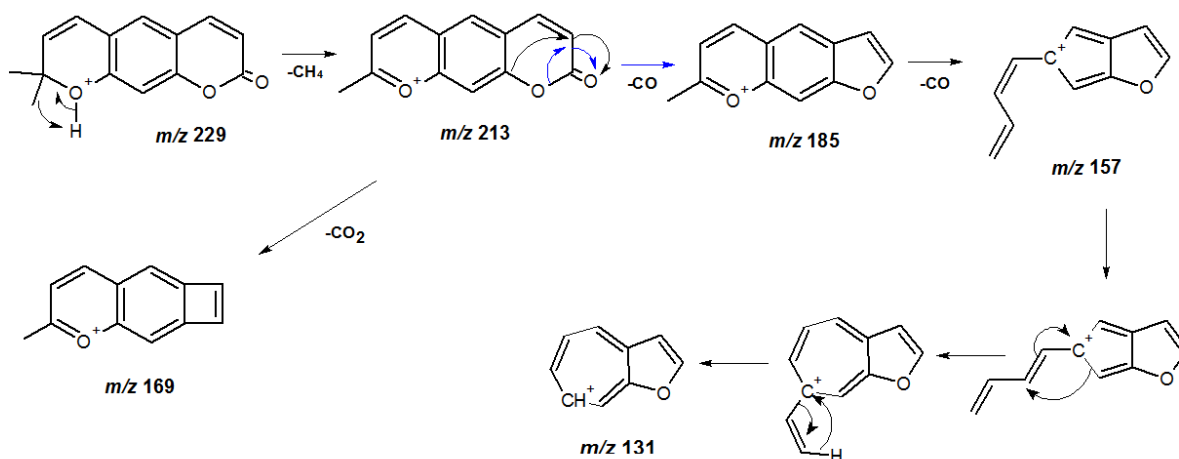
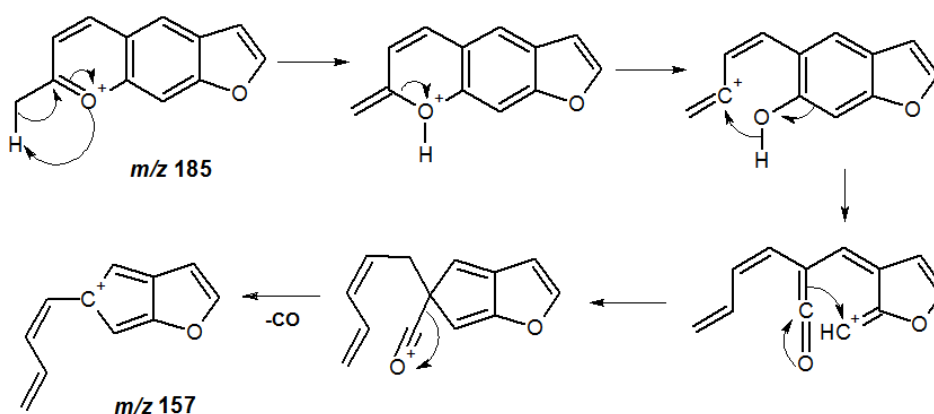


Figura 4-14:Espectro de massas para o íon m/z 229,0869no t_r 8,16 min.encontrado nas raízes de *C. limonia*(ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-1: Proposta de fragmentação para a xantiletina (ESI, modo positivo).



Esquema 4-2: Detalhe da proposta de fragmentação do íon m/z 185 para m/z 157.

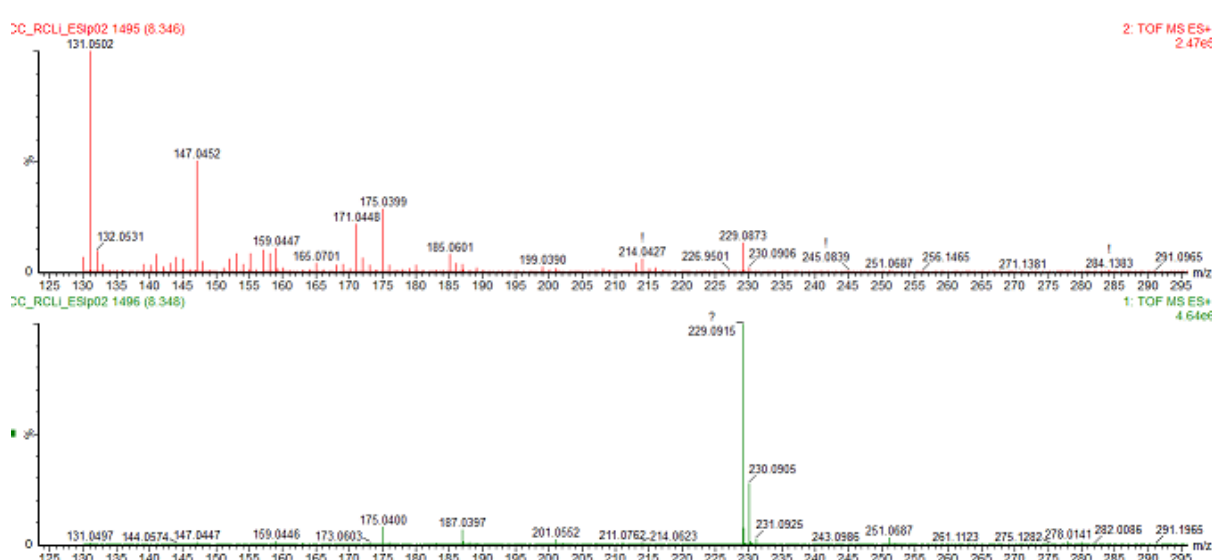


Figura 4-15:Espectro de massas para o íon m/z 229,0869_t, de 8,35 min.encontrado nas raízes de *C. limonia*(ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

Por sua vez, para banda com t_r de 8,35min. foi proposta a estrutura da cumarina seselina, o espectro do seu íon produto (**Figura 4-15**) apresentou o fragmento m/z 175 (**Esquema 4-3**) que nas análises de Soares foi o íon utilizado nos experimentos de MRM para quantificar a mesma cumarina. Apesar dele não ser o íon mais estável abundante no espectro de íon produto, este íon não aparece no mesmo t_r da banda cromatográfica que foi caracterizada como sendo a cumarina xantiletina (**Figura 4-17**), o que dá mais embasamento para propor a identidade da banda com t_r de 8,35min. como sendo a seselina, além do fato da ausência do pico m/z 213 em detrimento da formação do íon tropílio conjugado ao anel furânico de m/z 131 que parece ser mais estável em cumarinas 8-C alquil substituídas. Segundo a análise via *S-plot* (**Tabela 4-3**) a concentração da seselina foi cerca de 1,04 vezes menor nas raízes de *C. limonia* em relação as de *C. sinensis*.

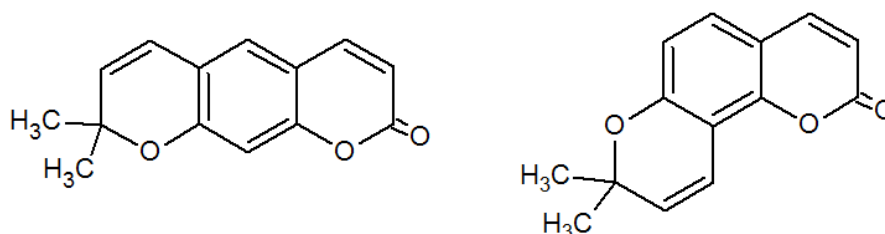
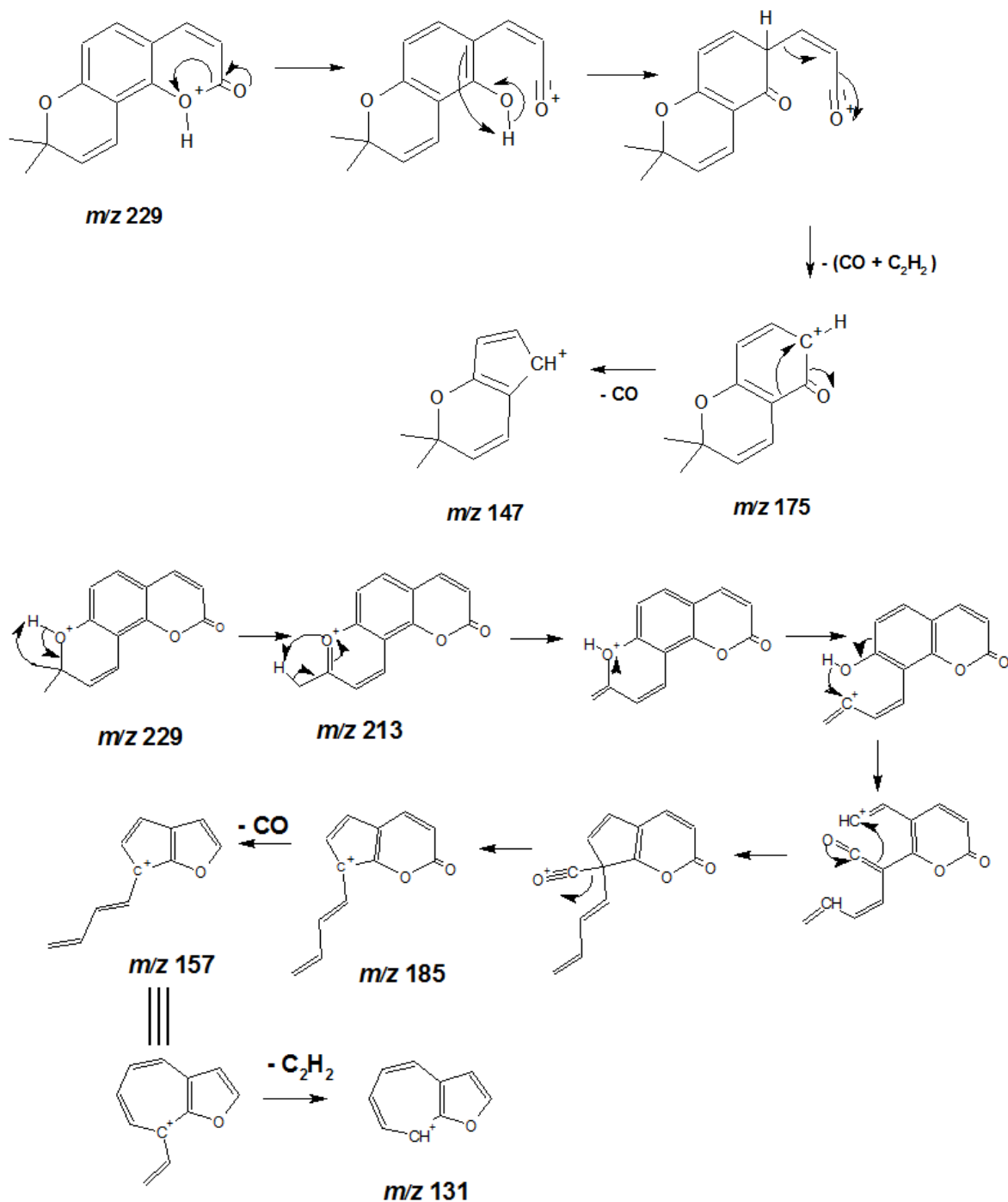


Figura 4-16: Estrutura química das cumarinas xantiletina e seselina.



Esquema 4-3:Proposta de fragmentação para a seselina (*ESI*, modo positivo).

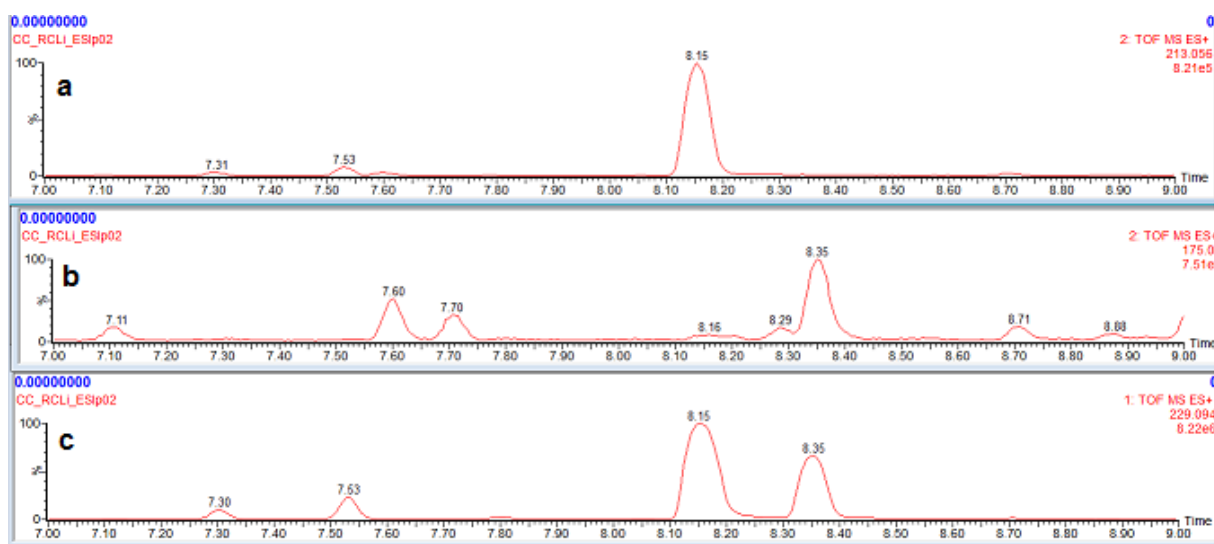


Figura 4-17: Cromatograma de massa das raízes de *C. limonia*: **a** - de m/z 213; **b** - m/z 175; **c** - m/z 229.

A banda cromatográfica 1 com o t_r 5,42 min. apresentou íons pseudomoleculares $[M+H]^+$ e $[M+Na]^+$ de m/z 263,0920 e m/z 285,0731, respectivamente, sendo referente a fórmula molecular $C_{14}H_{14}O_5$. A busca no banco de dados da tese revelou quatro estruturas diferentes - buntansina B, xantoarnol, kelactona e decursidinol (**Figura 4-18**), cuja diferença de massa monoisotópica calculada e experimental foi de apenas -2,28 ppm. Apesar da presença da presença do pico m/z 245 que é referente à perda de uma molécula de água, a qual é comum às quatro estruturas proposta, a análise do espectro dos íons produtos (**Figura 4-19**) não revelou nenhuma perda de 30 Da o que é típico de compostos metoxilados, logo a estrutura da buntansina B foi descartada. Devido ao intenso pico m/z 203 e o pico base m/z 175 nos espectros de íon molecular e íons produtos, respectivamente, a hipótese mais aceitável para esse tipo de fragmentação seria para a estrutura do xantoarnol que permite uma perda inicial de acetona seguida de CO, eliminando assim a possibilidade de serem as estruturas decursidinol e kelactona. O xantoarnol apresentou uma concentração de cerca 9,3 vezes maior nas raízes *C. sinensis* em relação às de *C. limonia*.

A proposta de fragmentação do xantoarnol segue no **Esquema 4-4**, o qual já foi isolado pelo grupo de Produtos Naturais nas raízes de *C. limonia* como porta-enxerto de *C. sinensis*.

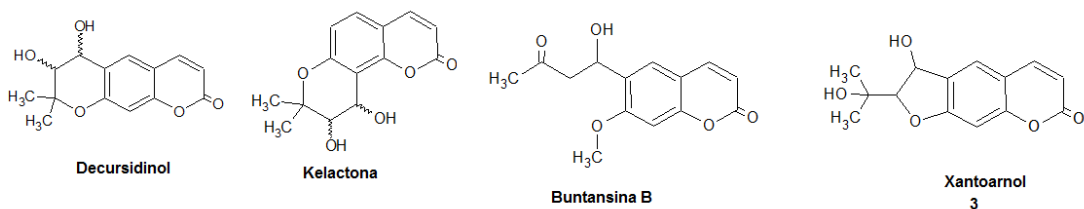


Figura 4-18: Estrutura das cumarinas de massa neutra 262,0842 Da referente aom/z 263,0920.

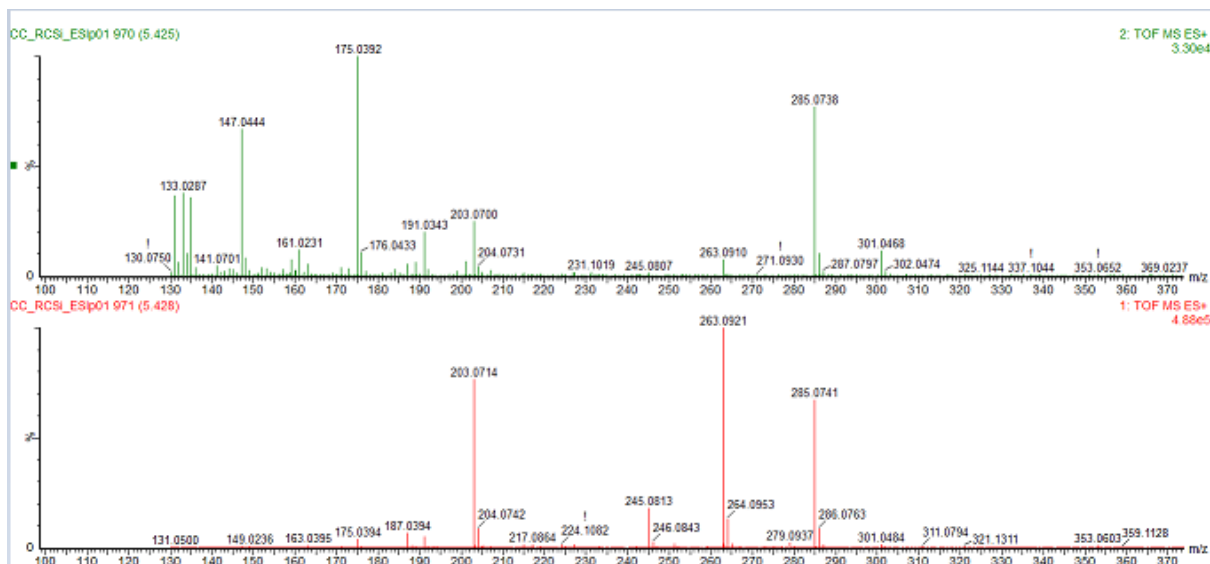
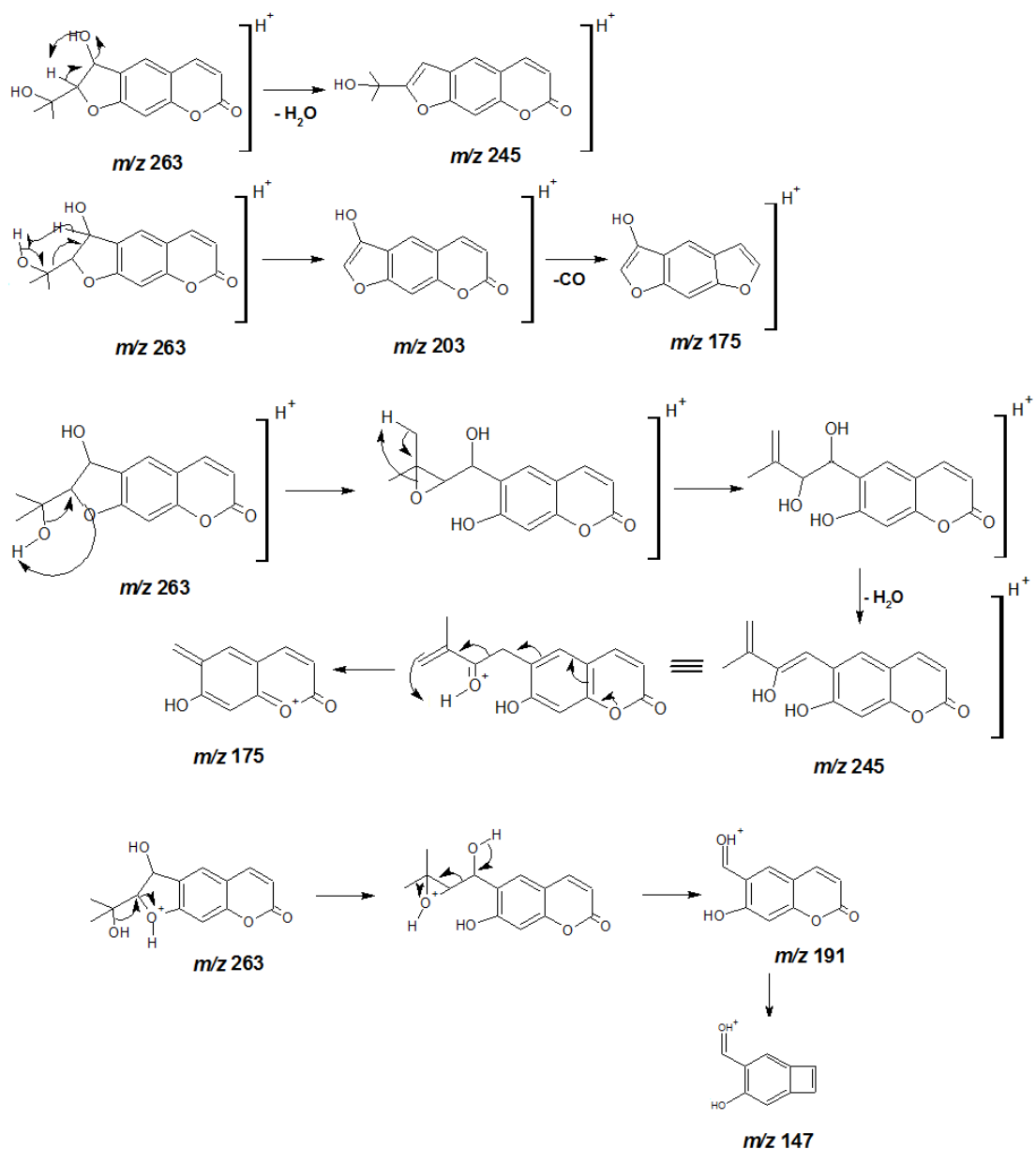


Figura 4-19: Espectro de massas para o íon m/z 263,0920 de t_r de 5,42 min.encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-4: Proposta de fragmentação para o xantoarnol (ESI, modo positivo).

As bandas cromatográficas **2** e **8** com os t_r de 5,68e 8,72min. apresentaram m/z 259,0966 (e m/z 277,1069 de $[M+H_3O]^+$) e m/z 259,0973 referente a $[M+H]^+$, cuja massa monoisotópica neutra são respectivamente de 258,0887 Da e 258,0894 Da, referente a fórmula molecular proposta $C_{15}H_{14}O_4$. A comparação pelo banco de dados levou a três furanocumarinas - Xantoxiletina, Luvangetina e 5-metoxiseselina (**Figura 4-20**) – no qual a diferença de massa foi de 2,70 ppm e 0 ppm, respectivamente. O espectro de massas (**Figura 4-21**) do t_r de 5,68min. mostrou um pico base de m/z 189 referente à perda de 70 Da, onde pela análise das estruturas dos isômeros das piranocumarinas a única provável de favorecer essa perda seria a piranocumarina angular 5-metoxiseselina como pode

ser visto no mecanismo proposto no **Esquema 4-5**. No espectro de íons produtos (**Figura 4-21**) foi observado apenas o pico m/z 131 que é proveniente do fragmento m/z 189, o que reforça a identidade da banda **2** como sendo a 5-metoxiseselina. Sua concentração nas matrizes das raízes de *C. sinensis* foi 4,03 vezes maior em comparação com as de *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

A banda t_r de 8,72 min. não apresentou os íons m/z 257 e m/z 227, característico da perda de H_2 e subsequentemente de metoxila quando se encontra na posição C-7 da cumarina como pode ser visto no **Esquema 4-6**, logo foi descartada a possibilidade de ser a luvangetina. Desta, forma a banda **8** foi atribuída como sendo a piranocumarina linear xantoxiletina, onde seus íons produtos e proposta de fragmentação encontra-se no **Esquema 4-7** e na **Figura 4-22**, respectivamente. A concentração dessa cumarina foi 4,28 vezes mais expressa nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

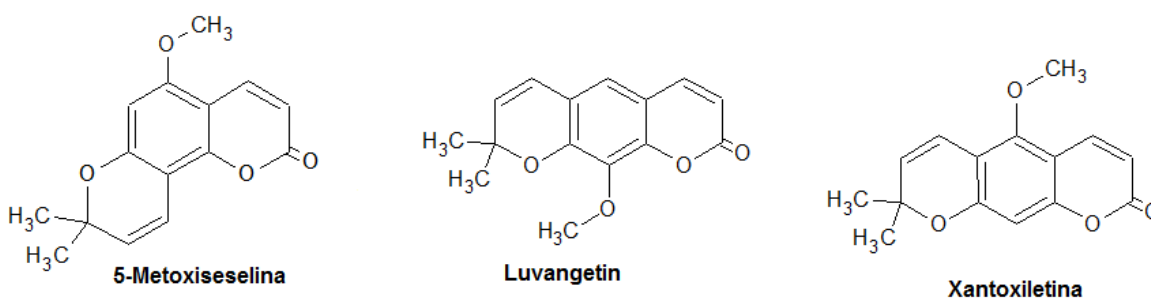


Figura 4-20: Estrutura das piranocumarinas de massa neutra 258,0894 Da referente a m/z 259,0973 e m/z 259,0966.

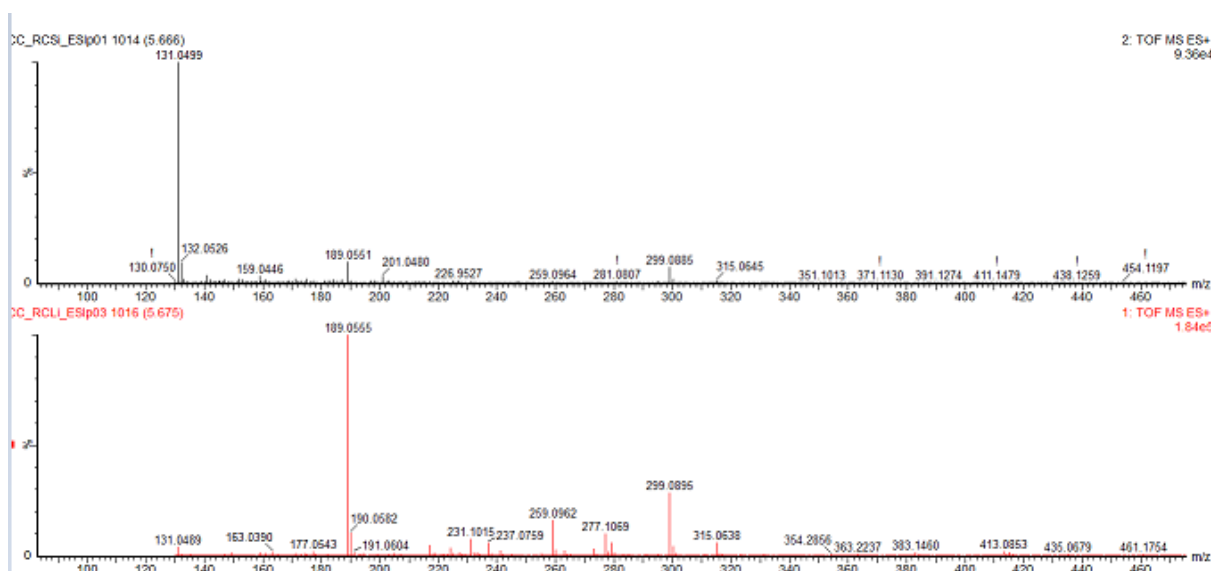
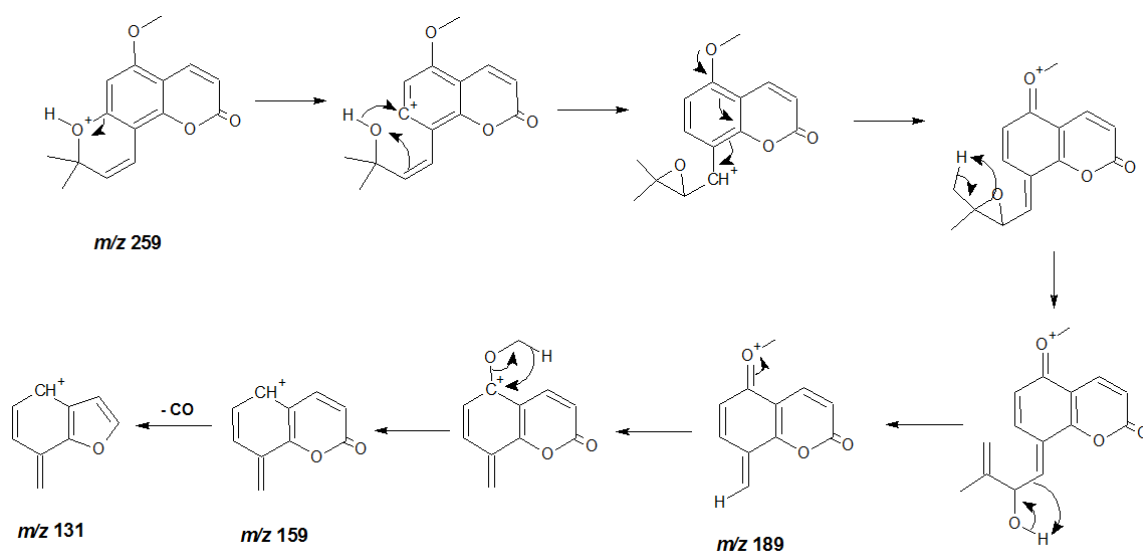
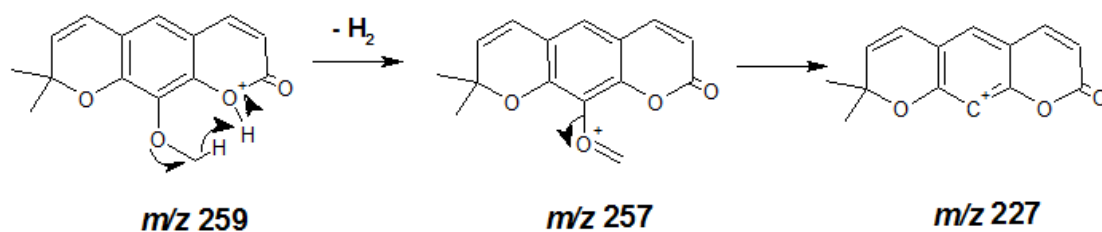


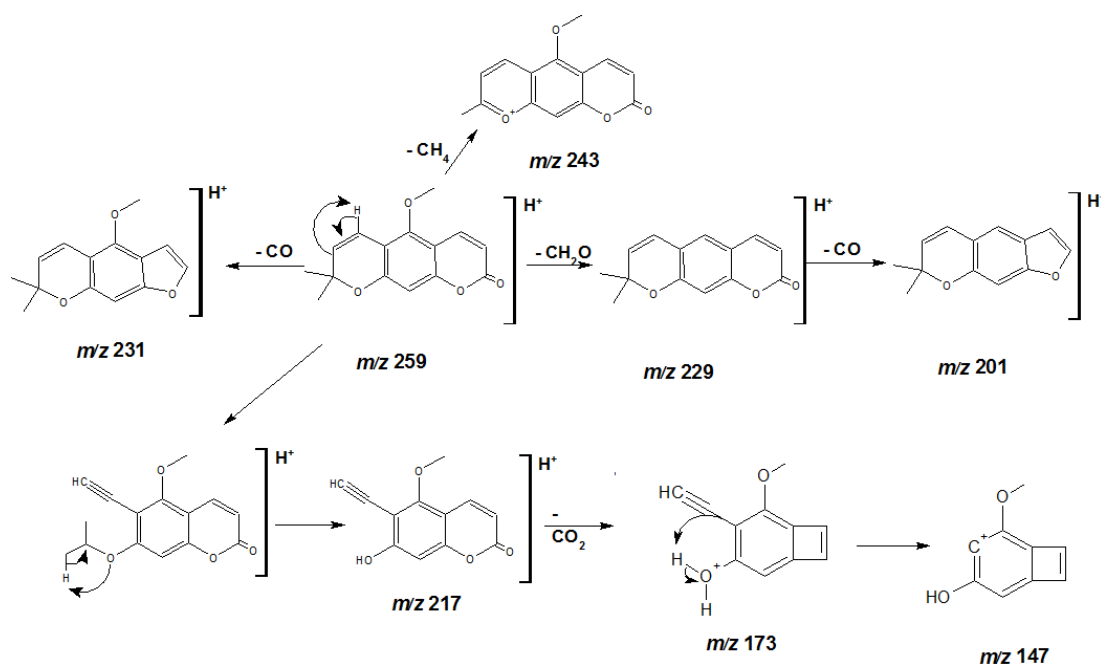
Figura 4-21: Espectro de massas para o íon m/z 259,0966 de t_r de 5,68 min. encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-5:Proposta de fragmentação para a 5-metoxiseselina (ESI, modo positivo).



Esquema 4-6:Proposta de fragmentação para os íons não observados referentes à luvangetina.



Esquema 4-7:Proposta de fragmentação para a xantoxiletina (ESI, modo positivo).

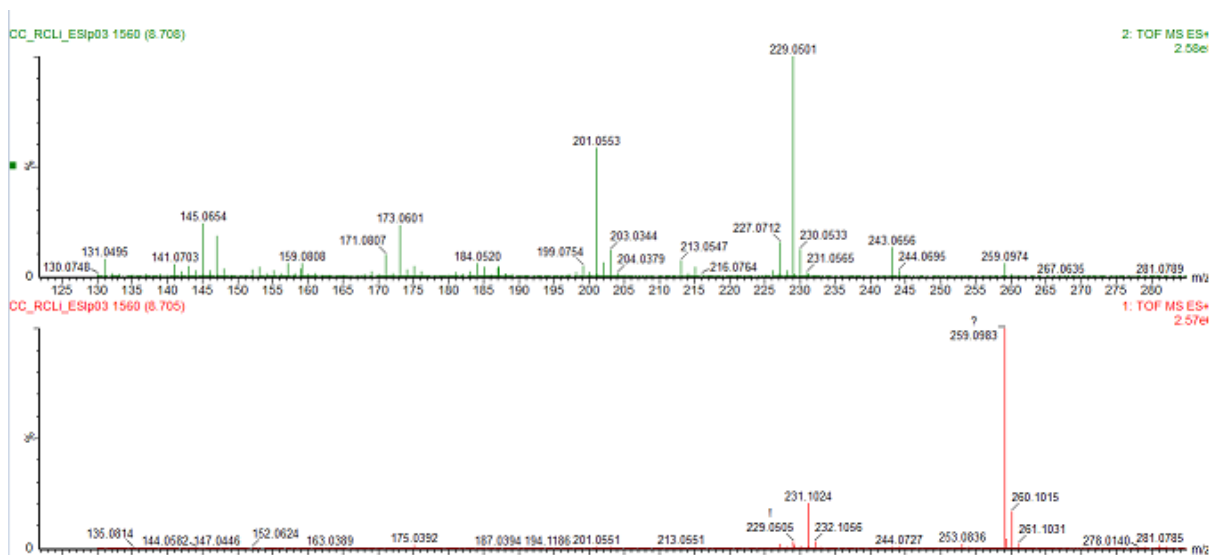


Figura 4-22:Espectro de massas para o íon m/z 259,0973 de t_r de 8,72min.encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

A banda cromatográfica **3** com o t_r 6,57 min. apresentou íons pseudomoleculares $[M+H]^+$ de m/z 245,0820, sendo referente a fórmula molecular $C_{14}H_{12}O_4$. A busca no banco de dados da tese revelou quatro estruturas diferentes – seselinol, 5-hidroxiseselina, ostenona e suberenona (**Figura 4-23**), cuja diferença de massa monoisotópica calculada e experimental foi de 2,44 ppm. A presença do pico m/z 213 (**Figura 4-24**) proveniente da perda de MeOH (**Esquema 4-8**), permitiu excluir a cumarina 5-hidroxiseselina dentre as cumarinas. Através do pico m/z 187 foi possível propor a identidade da banda **3** como sendo a ostenona ou a suberenona, já que estas duas são as únicas estruturas que possibilitam as fragmentações via radicalar que levam a formação desse pico e por conseguinte o pico base m/z 131 conforme pode ser visto na proposta de fragmentação no **Esquema 4-8**. Infelizmente não foi possível propor uma diferenciação entre essas duas cumarinas. A concentração da banda **3** foi cerca de 5,27 vezes maior nas raízes *C. sinensis* em relação às de *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

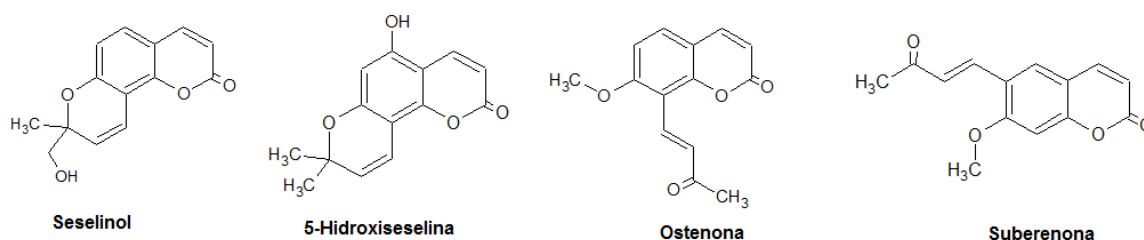


Figura 4-23:Estrutura das piranocumarinas de massa neutra 244,0735 Da referente aom/z245,0820 .

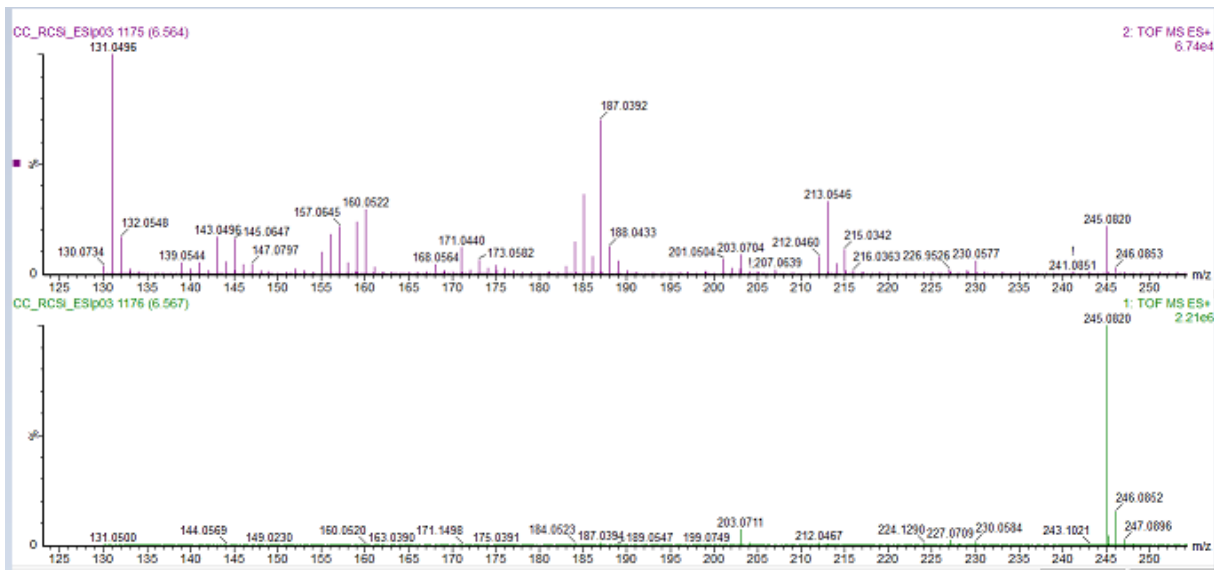
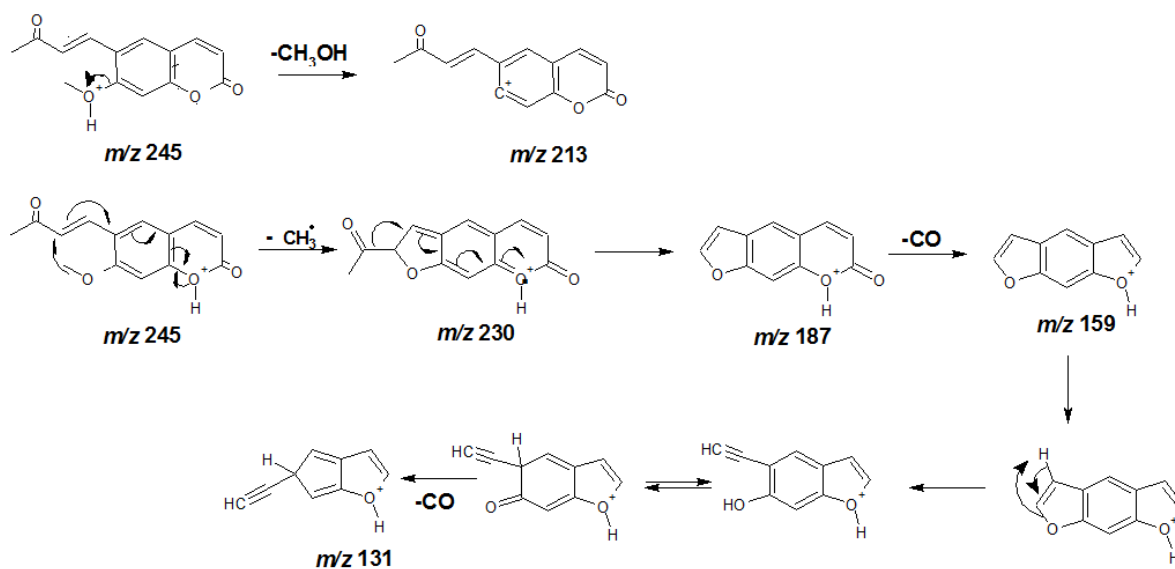


Figura 4-24:Espectro de massas para o íon m/z 244,0820 de t_r de 6,57min.encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-8: Proposta de fragmentação para a suberenona (ESI, modo positivo).

A banda **4** com t_r de 7,11min. Levou a um pico pseudomolecular de m/z 245,1194 com apenas 1,92 ppm de diferença experimental observada com a massa teórica das cumarinas suberenol, isomeranzina, meranzina, cedrellopsina e tamarina (**Figura 4-25**). O perfil de fragmentação (**Figura 4-26**) revelou um pico base m/z 203 característico da perda de uma unidade de acetona, e nas estruturas encontradas no banco de dados a única que permite essa perda é o suberenol (**Esquema 4-9**). Soares (2011), também observou esse pico base ao analisar a cumarina suberenol por CLAE-APCI-EM no modo positivo de ionização,

enquanto para a tamarina o pico base observado foi de m/z 191, reforçando a proposta acima. Sua produção foi de apenas 1,25 vezes a mais nas raízes de *C. limonia* (Tabela 4-3).

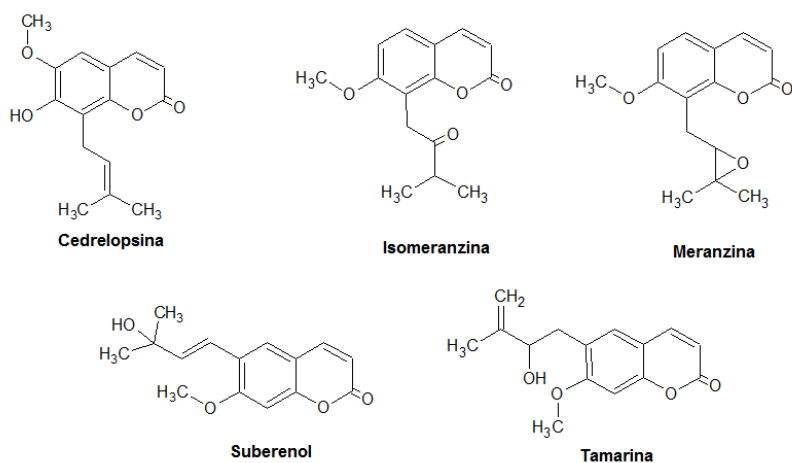


Figura 4-25: Estrutura das cumarinas de massa neutra 260,1048 Da referente ao m/z 261,1132.

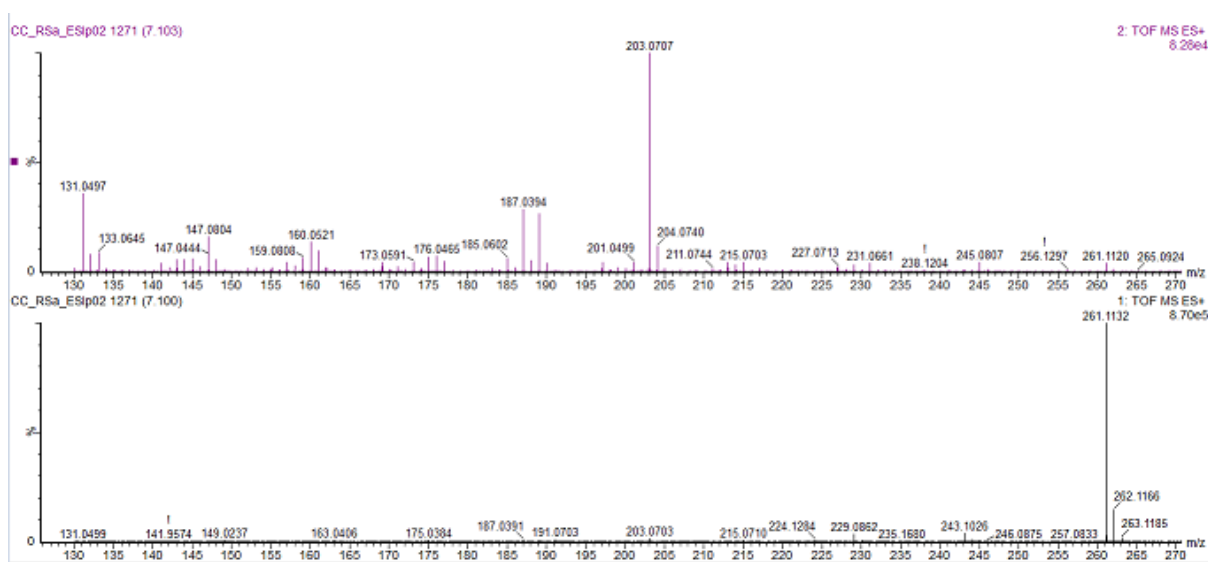
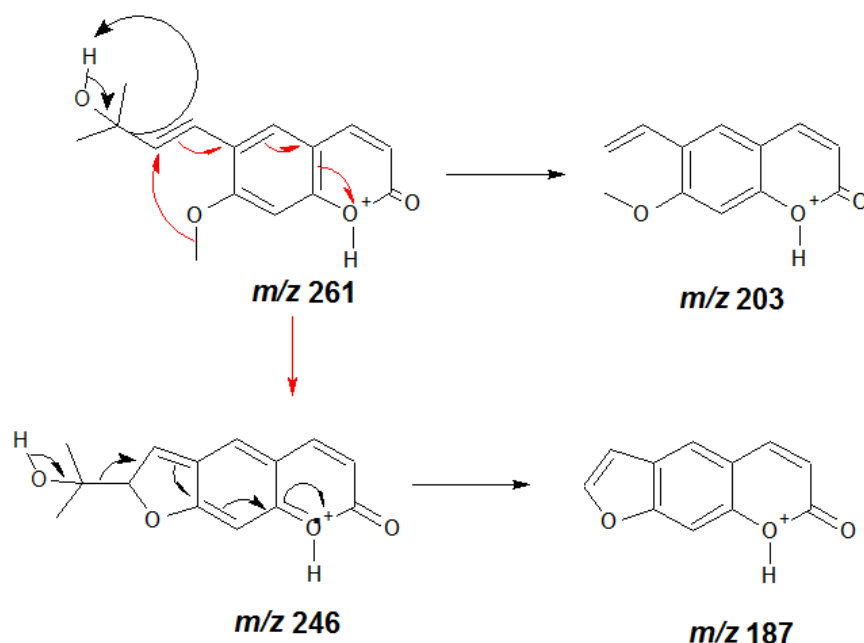


Figura 4-26: Espectro de massas para o íon m/z 261,1132 de t_r de 7,11min.encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-9: Proposta de fragmentação para o suberenol (ESI, modo positivo).

A banda **9** com t_r de 9,60 min. forneceu um pico molecular de m/z 245,1194 com -8,1 ppm de diferença experimental observada com a massa teórica das cumarinas ostol e suberosina (**Figura 4-27**). O perfil de fragmentação (**Figura 4-28**) nos íons produtos mostrou vários fragmentos que podem ser obtido para os dois isômeros, entretanto o pico base de m/z 131 tem se mostrado mais comuns nas cumarinas 8-C alquil substituídas o que levou a propor a banda cromatográfica a cumarina ostol. Propõe-se que a grande intensidade desse pico se deve a baixa estabilidade do fragmento devido a não linearidade da conjugação do sistema aromático formado, logo o fragmento tende a se fragmentar até formar o íon tropílio conjugado ao anel furânico (**Esquema 4-10**). Sua produção se deu 1,25 vezes a mais nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

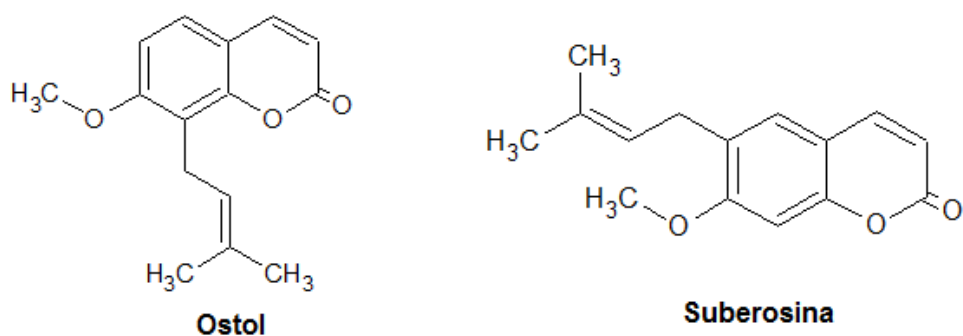


Figura 4-27: Estrutura das cumarinas de massa neutra 244,1099Da referente aom/z245,1194.

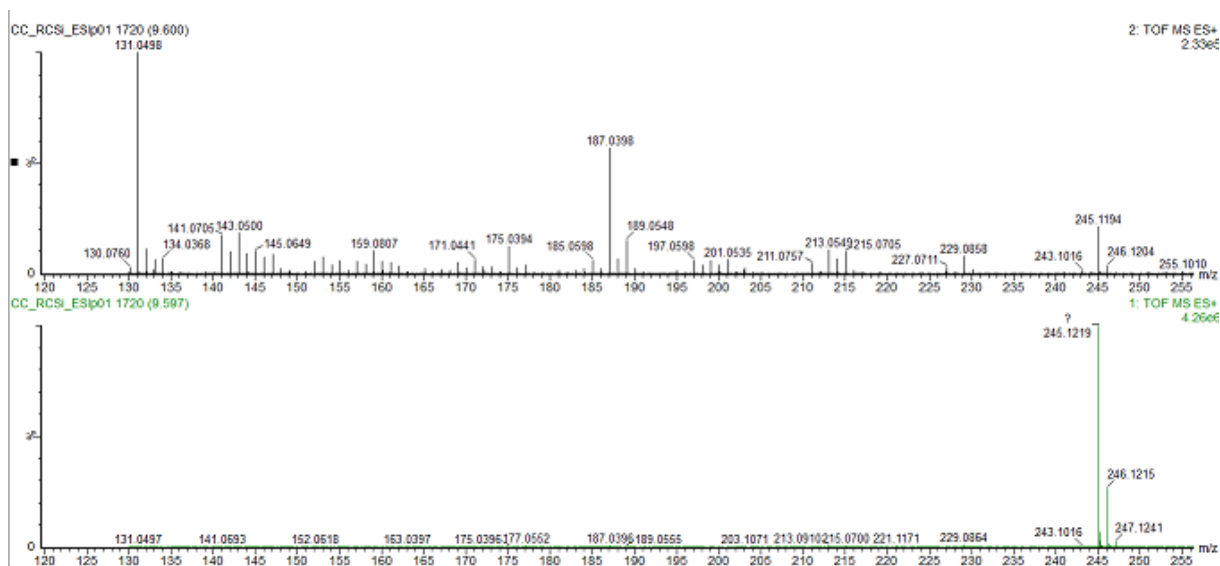
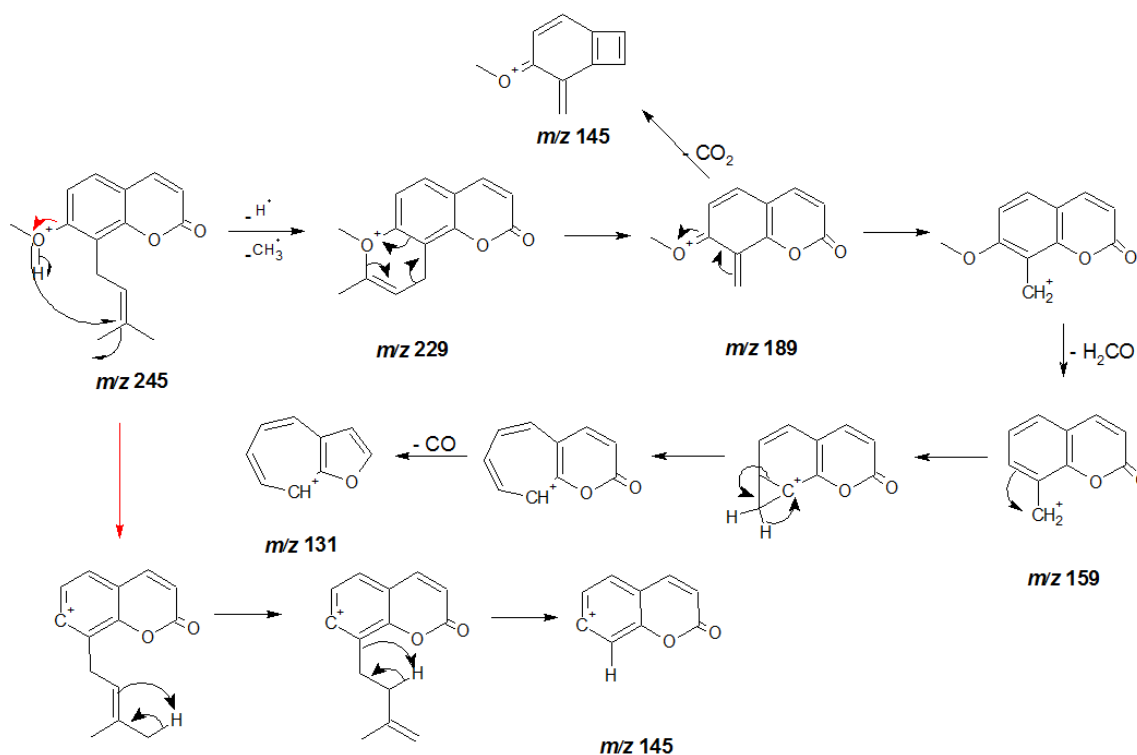


Figura 4-28:Espectro de massas para o íon m/z 245,1194 de t_r de 9,60min.encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-10: Proposta de fragmentação para a ostol (ESI, modo positivo).

A banda **10** com t_r de 10,15min. levou a um pico molecular de m/z 313,1445 (assim como um aduto $[M+Na]^+ m/z$ 335,1257) com apenas -3,8 ppm de diferença experimental observada com a massa teórica para as cumarinas citrutarina A, citrutarina B e nordentatina (**Figura 4-29**).Essas cumarinas possuem

massa neutra 312,1361Da correspondendo ao m/z 313,1445.O perfil de fragmentação (**Figura 4-31**) nos íons produtos mostrou vários fragmentos que podem ser obtidos para os três isômeros, já que o padrão de substituição deles são – 5 e 7-O substituídos e 6 e 8-C substituídos, possibilitando a abertura dos anéis tanto pirânicos quanto diidrofurânicos e sua posterior ciclização com a hidroxila próxima levando a novos anéis pirânicos ediidrofurânicos (**Figura 4-32**).Ou seja, no próprio processo de análise a nordentatina pode se converter na citrusarina A (**Figura 4-32**).Contudo, devido ao fato de que as cumarinas citrusarina A e B não terem sido isoladas nas raízes de *C. limonia* no laboratório de PN da UFSCar e na literatura ter sido citada seu isolamento em apenas *C. hassakue**C.medica*(CHAN et al., 2010), propõe-se que a banda **10** seja a cumarina Nordentatina.Esta foi isolada por Soares (20011) e Abdelnur (2006), das raízes de *C. limonia*. Analisando com detalhe o cromatograma de íons totais das raízes de *C. limonia* observa-se outra banda em t_r de 11,71 min (**Figura 4-30**) com a mesma massa acurada de m/z 313,1446 e seus íons produtos tem o mesmo perfil de fragmentos da banda 10, entretanto seu pico base é de m/z 215, enquanto o da banda **10** é m/z 131 (**Figura 4-31**), podendo ser esta uma das duas citrumarinas.A área dessa banda é menor, o que explicaria o fato do Laboratório de PN nunca ter isolado antes. A proposta de fragmentação da Nordentatina segue no **Esquema 4-11**.A concentração da nordentatina nas raízes de *C. limonia* foi 2,38 vezes que aquela *C. sinensis*(**Tabela 4-3**).

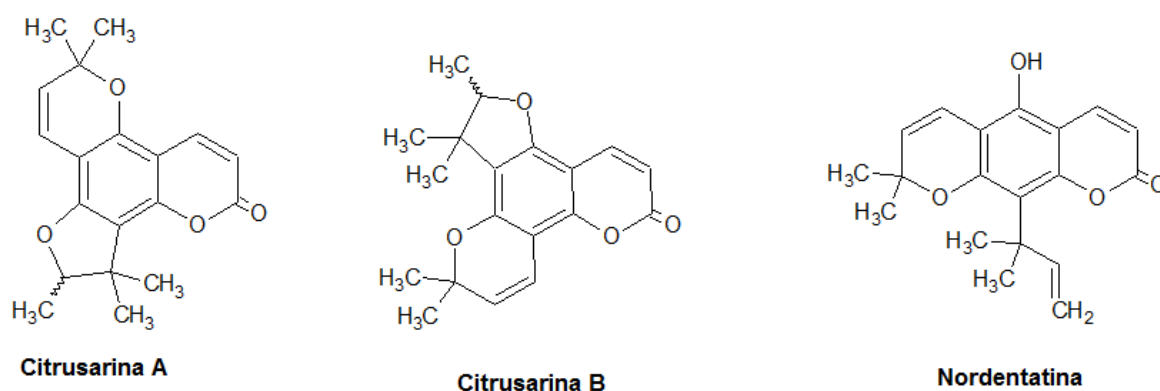


Figura 4-29: Estrutura das cumarinas de massa neutra 312,1361 Da referente a m/z 313,1445.

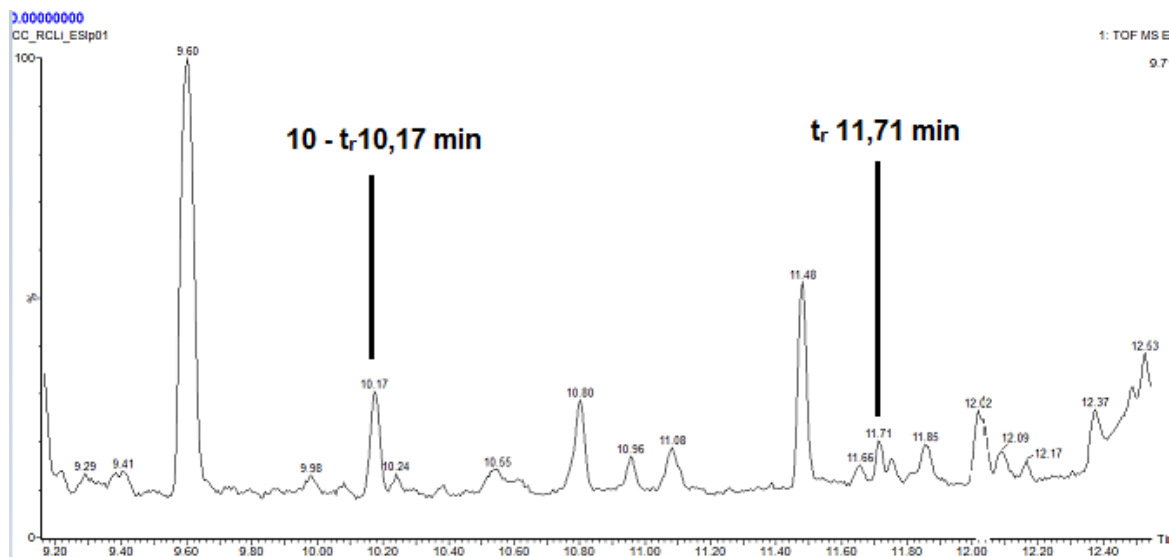


Figura 4-30: Cromatograma de íon totais das raízes de *C. limonia*(ESI, modo positivo) evidenciando outra banda cromatográfica com massa acurada de m/z 313,1445.

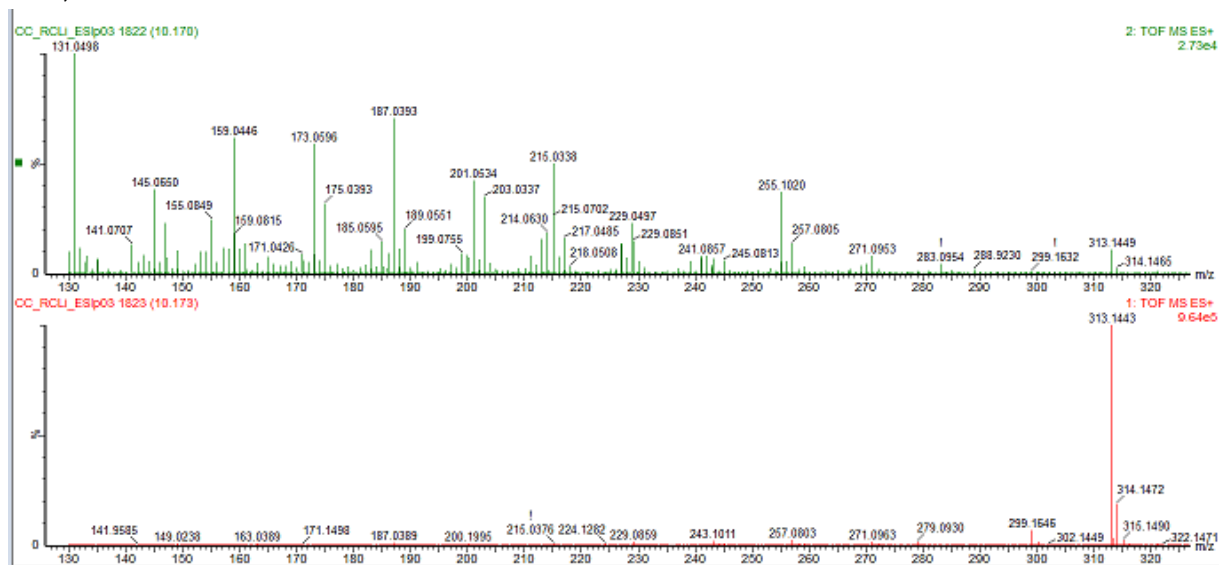


Figura 4-31: Espectro de massas para o íon m/z 313,1445 de t_r de 10,15 min. encontrado nas raízes de *C. limonia*(ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

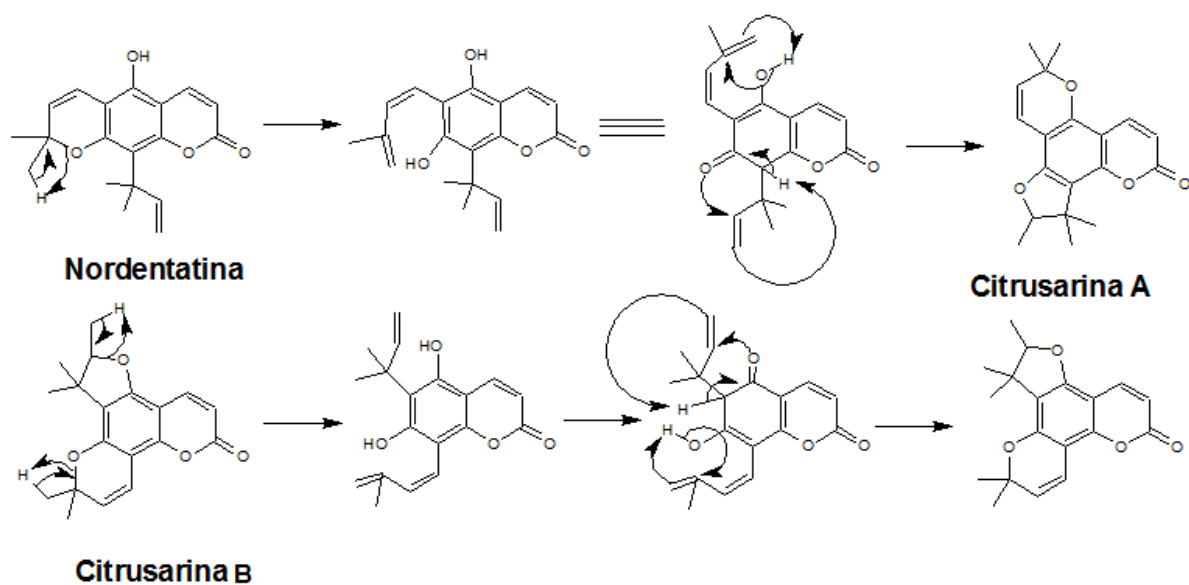


Figura 4-32: Proposta de quebra dos anéis e reciclagem destes nas cumarinas nordentatina e citrusarinas durante o processo de fragmentação.

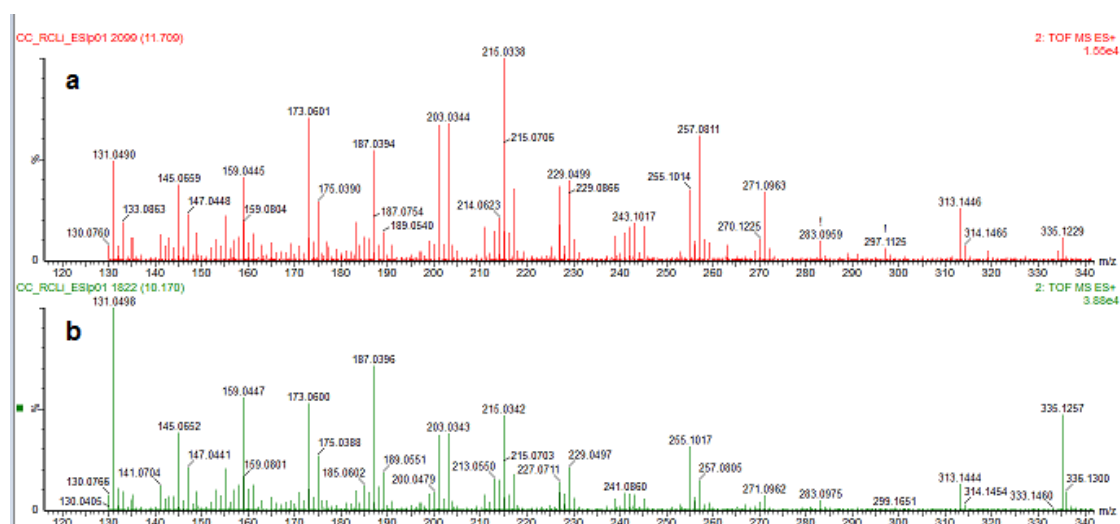
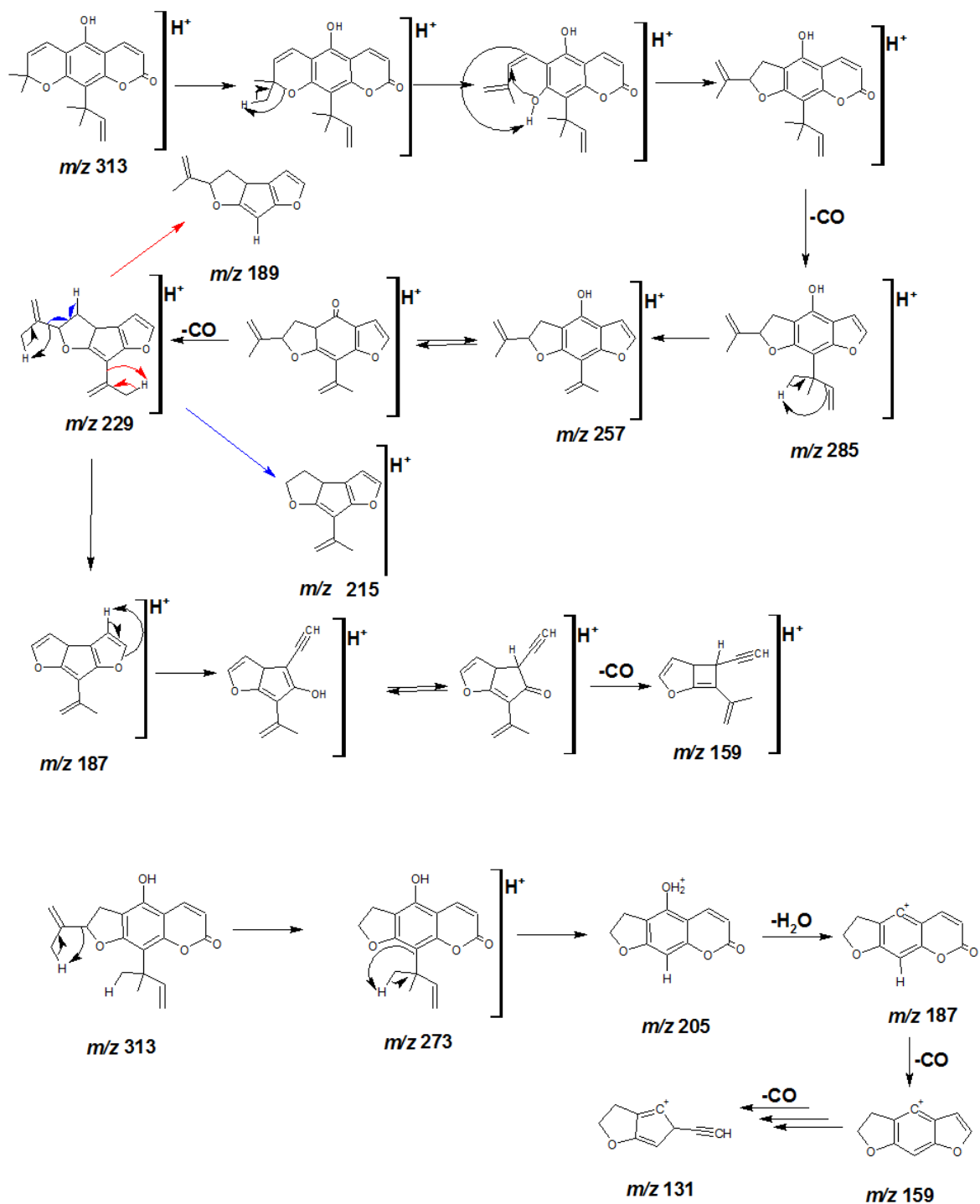


Figura 4-33: Espectro de massas de íons produtos do íon m/z 313,1445 encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo positivo): **a-** t_r 11,71 min; **b-** t_r 10,15 min. banda 10



Esquema 4-11: Proposta de fragmentação para a nordentatina (ESI, modo positivo).

A análise da banda cromatográfica **11** de t_r de 10,56 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 485,1960 que apresentou uma diferença de massa de -0,61 ppm para as biscumarinas thamnossina e bisparasina (**Figura 4-34**). No espectro de íons produtos (**Figura 4-35**) foi possível observar um pico base de m/z 189 que é proveniente da clivagem da ligação 6-C alquil do esqueleto

cumarínico com o resto da molécula, entretanto ele não forneceu informação alguma quanto a identidade da cumarina, pois esse fragmento pode ser facilmente formado nas duas estruturas. Esse íon provavelmente apresenta uma grande estabilidade devido ao deslocamento de elétrons oxigênio do anel pirânico do esqueleto cumarínico, o qual se encontra em posição *para* ao carbocátion (**Esquema 4-12**). Logo não foi possível determinar a identidade da banda **11**. Entretanto cabe ressaltar que sua concentração foi 33,27 vezes maior nas raízes de *C. sinensis* o que explicaria o fato do grupo de Produtos Naturais da UFSCar nunca ter isolado uma biscumarina, pois os trabalhos de isolamento realizados sempre foram efetuados com espécies enxertadas de *C. sinensis* sobre *C. limonia* e as raízes desta última praticamente não produzem essas biscumarinas como poder ser observado no cromatograma (**Figura 4-13**).

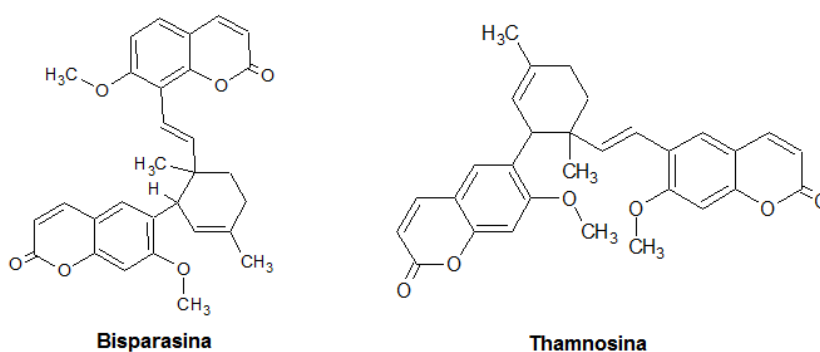


Figura 4-34: Estrutura das biscumarinas de massa neutra 484,1885Da referente a m/z 485,1960.

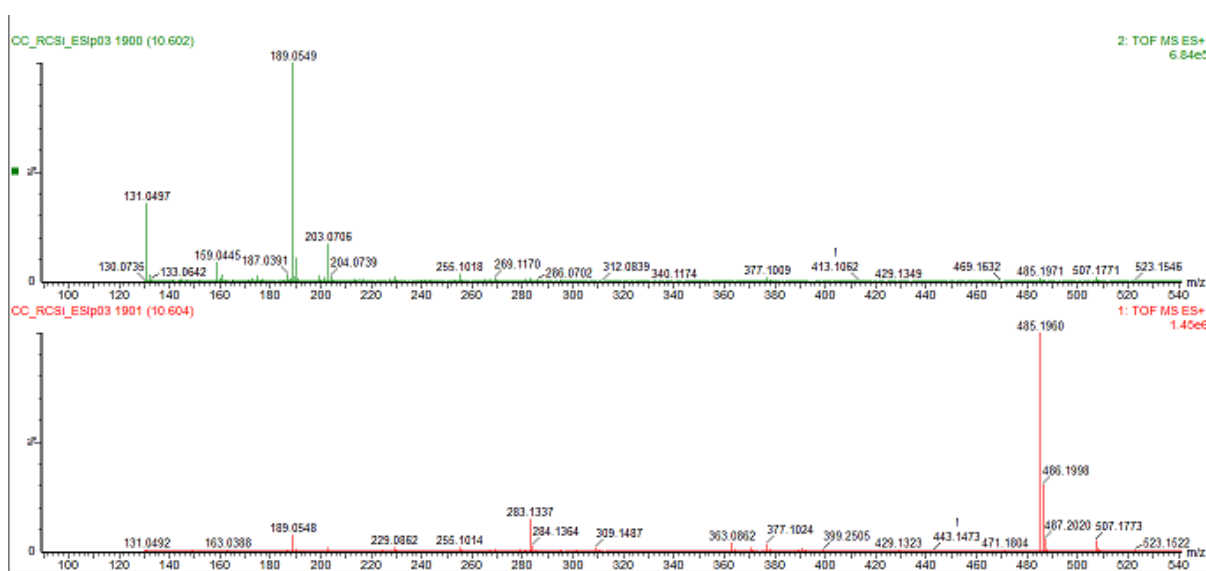
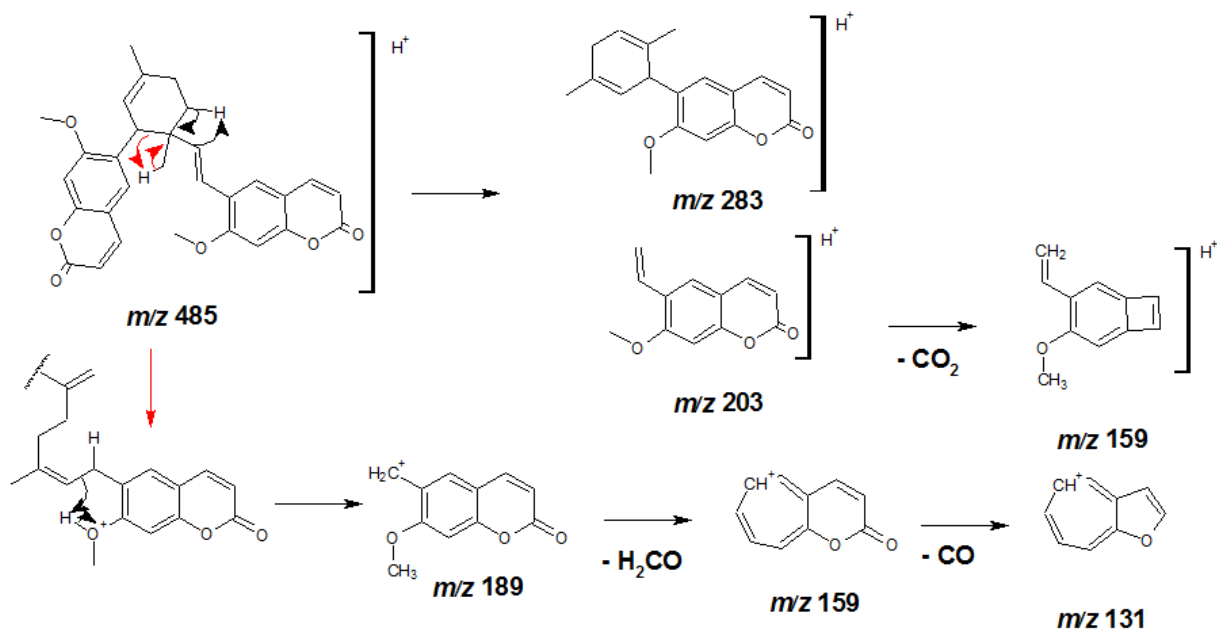


Figura 4-35: Espectro de massas para o íon m/z 485,1960 de t_r de 10,56 min. encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-12: Proposta de fragmentação para a thamnosina (ESI, modo positivo).

A análise da banda cromatográfica **13** de t_r de 11,47 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 381,2061, como também o aduto de sódio de m/z 203,1877, os quais possuem uma diferença de massa de -0,52 ppm para as cumarinas citrumedina B, ponfolina, clausarina e kinocumarin (**Figura 4-36**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-37**) teve como pico base m/z 241, cuja formação se daria após várias fragmentações em qualquer uma das quatro cumarinas propostas. A formação do m/z 241 é mostrada no **Figura 4-32** usando a clausarina. Contudo as estruturas mais prováveis para tais fragmentações foram a citrumedina B e clausarina, sendo esta última sugerida como cumarina da referente a banda **13**, devido ao fato desta ter sido isolada no laboratório, onde Soares (2011), a detectou por CLAE-APCI-EM nas raízes *C. limonia* e único relato na literatura para citrumedina B ter sido na espécie *C. medica* (CHAN et al., 2010). Essa banda supondo ser a clausarina foi apenas 1,23 maior nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

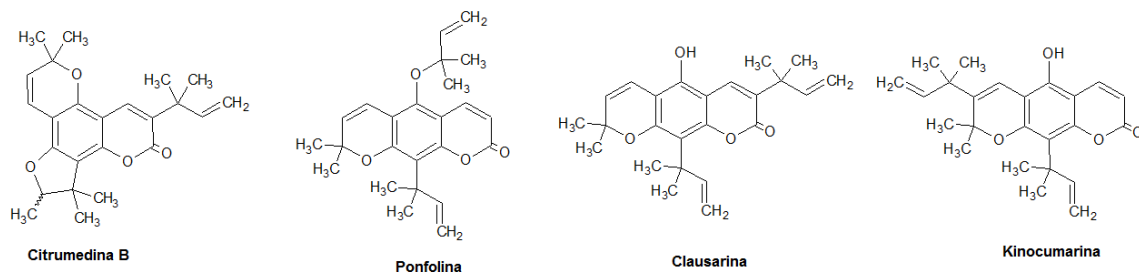


Figura 4-36: Estrutura das piranocumarinas de massa neutra 380,1987Da referente aom/z 381,2061.

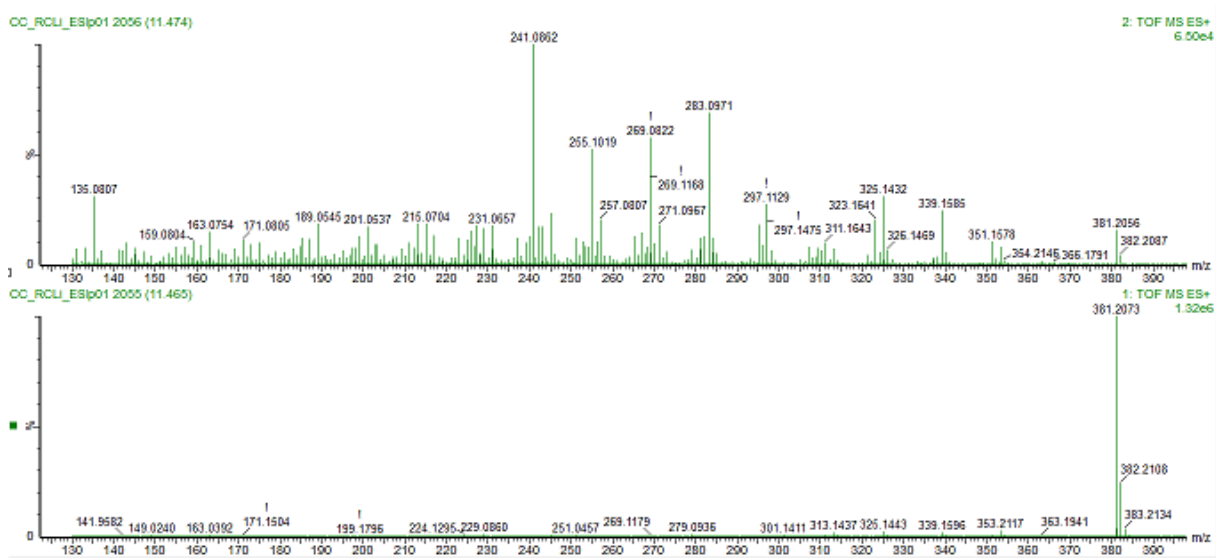
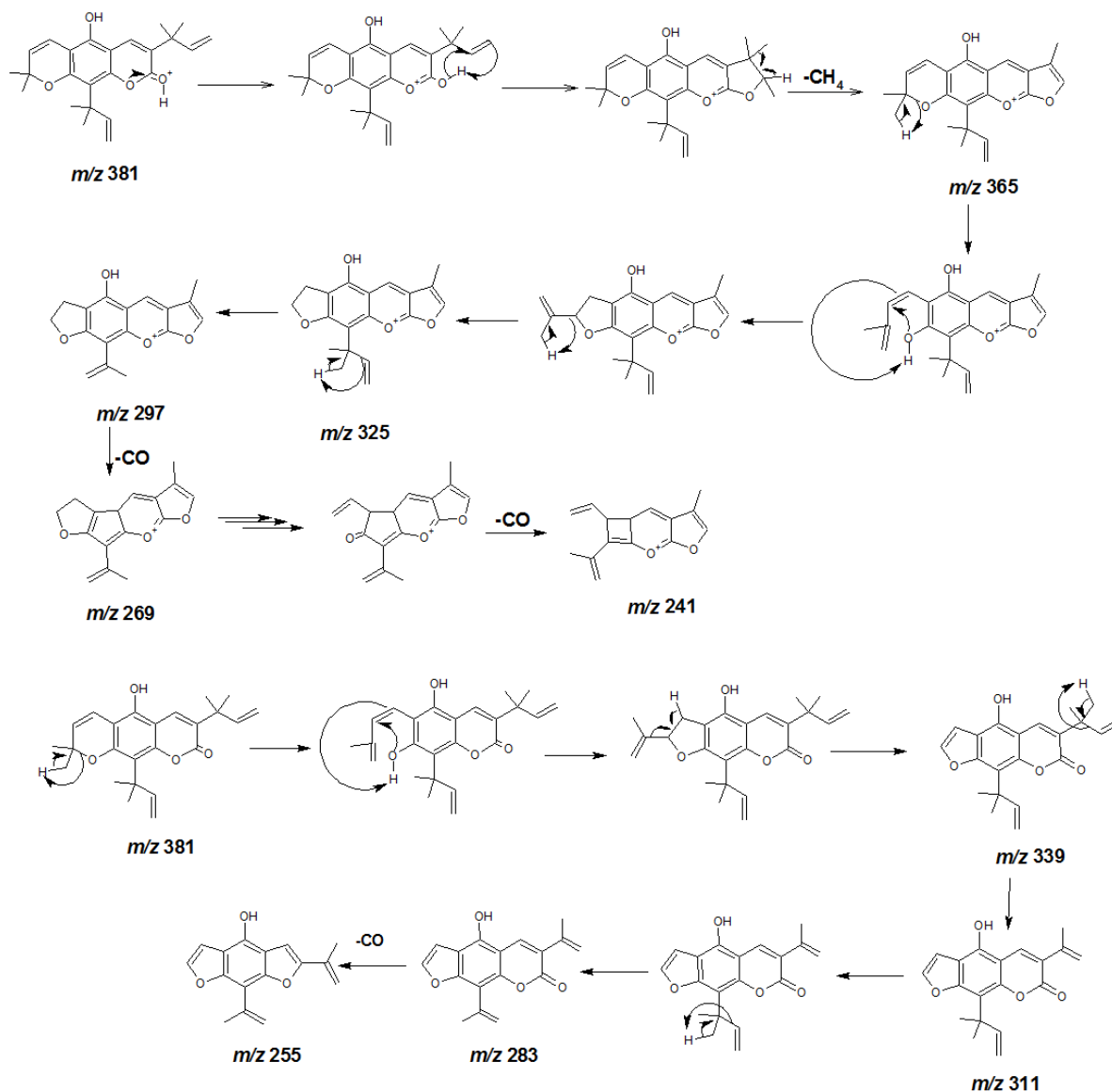


Figura 4-37: Espectro de massas para o íon m/z 381,2061 de t_r de 11,47 min. encontrado nas raízes de *C.limonia*(ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-13: Proposta de fragmentação para a clausarina (ESI, modo positivo).

A análise da banda cromatográfica **5** de t_r de 7,60 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 515,2290, assim como adutos de sódio (m/z 537,2103), H_3O^+ (m/z 532,2549) e $[2M+Na]^+$ (m/z 1051,4294), os quais correspondem a uma diferença de massa de $-3,11$ ppm para os limonoides nomilina e acetato de limonila (**Figura 4-38**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-39**) da banda cromatográfica não forneceu muitas informações devido a falta de fragmentos, sendo observado apenas o pico m/z 161. Logo a banda **5** pode ser anominila ou acetato de limonila, entretanto baseando-se no levantamento bibliográfico feito para o banco de dados em que a nomilina é relatado em 13 espécies diferentes de *Citrus* (sementes, raízes, caule e fruto), mas nenhuma delas sendo o *C. limonia* e o acetato de limonila tem seu relato em apenas três espécies do qual uma delas é

nas raízes do *C. limonia*, propõe-se a banda **5** como o acetato de limonila. A área dessa banda foi 2,39 vezes maior em *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

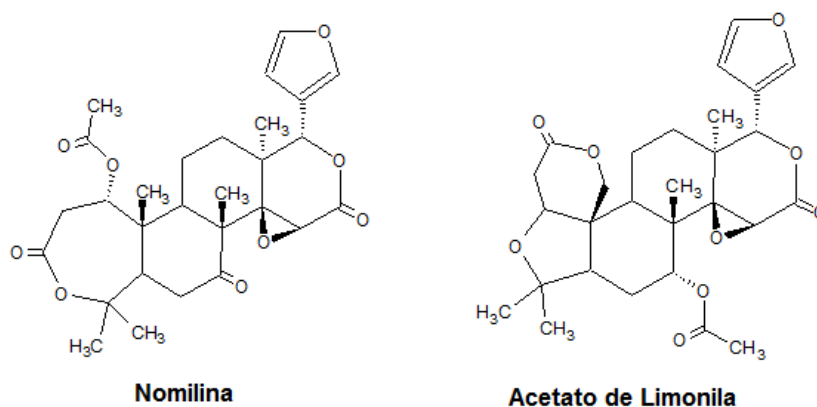


Figura 4-38 Estrutura dos limonoides de massa neutra 514,2202 Da referente aom/z515,2290.

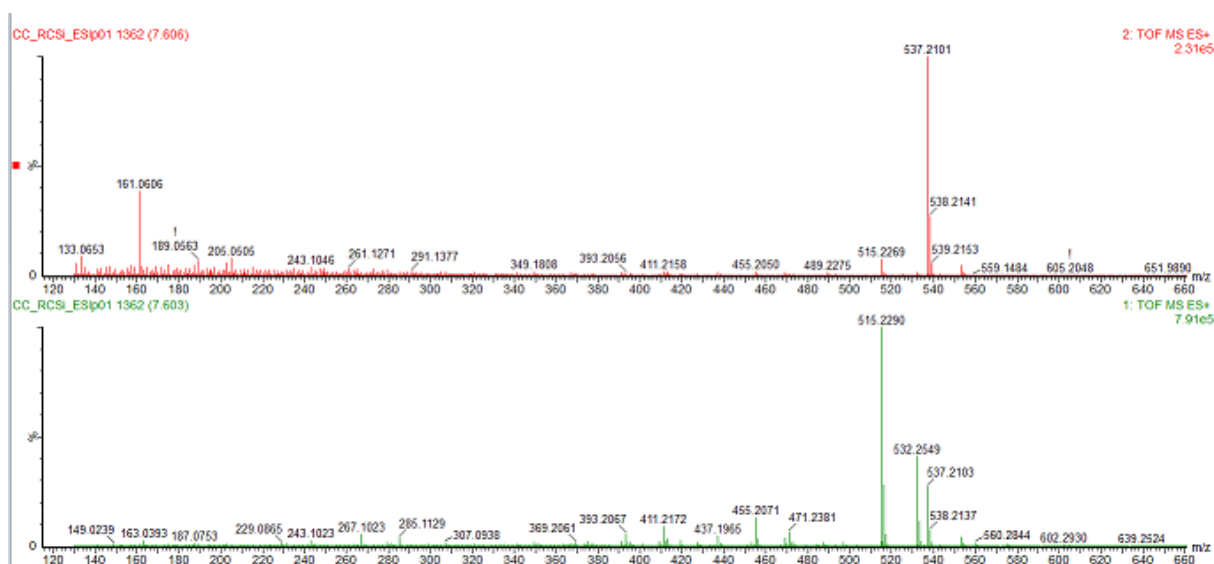


Figura 4-39: Espectro de massas para o íon m/z 515,2290 de t_r de 7,60 min. encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

Por fim a banda **12** de t_r de 10,80 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 327,1596. Infelizmente, ao consultar o levantamento bibliográfico para *Citrus*(Anexo CD) e os bancos dados disponíveis *online* não foi encontrado nenhuma proposta para esse íon molecular. Esse é um fato interessante a se retornar um estudo mais detalhado, pois pode ser algum metabólito inédito. Essa banda possui área 1,23 vezes maior nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-3**).

Tabela 4-3: Prováveis metabólitos secundários das raízes dos *Citrus* evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (ES/positivo).

Banda	t _r (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Variação
1	5,42	263,0920	Xantoarnol	<i>C. sinensis</i>	9,28
2	5,68	259,0966	5-Metoxiseselina	<i>C. sinensis</i>	4,03
3	6,57	245,0820	Ostenona ou Suberenona	<i>C. sinensis</i>	5,30
4	7,11	245,1194	Suberenol	<i>C. limonia</i>	1,45
5	7,60	515,2290	Acetato de limonila	<i>C. limonia</i>	2,40
6	8,15	229,0869	Seselina	<i>C. sinensis</i>	1,04
7	8,35	229,0869	Xantiletina	<i>C. sinensis</i>	1,49
8	8,72	259,0973	Xantoxiletina	<i>C. limonia</i>	4,28
9	9,60	245,1194	Ostol	<i>C. limonia</i>	1,26
10	10,15	313,1445	Nordentatina	<i>C. limonia</i>	2,31
11	10,56	485,1960	Thamnosina ou Bisparasina	<i>C. sinensis</i>	33,30
12	10,80	327,1596	Desconhecida	<i>C. limonia</i>	1,48
13	11,47	381,2061	Clausarina	<i>C. limonia</i>	1,23

4.3.5.2 Análises dos caules dos pés-francos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (**Figura 4-40**) no modo positivo de ionização dos caules foi possível evidenciar como mais significativos 7 bandas cromatográficas (**Figura 4-41**). As bandas cromatográficas 1, 3, 6 e 7 correspondem aos metabólitos identificados nas raízes do *C. limonia* e discutidos no item anterior. A denominação de cada uma e suas respectivas variações se encontram **Tabela 4-4**,

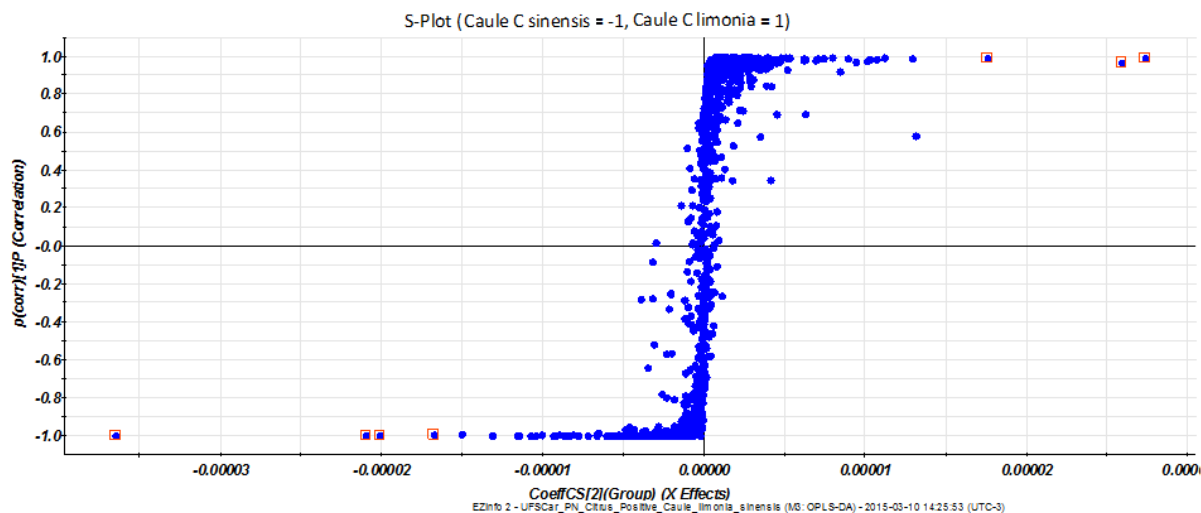


Figura 4-40: Gráfico *S-Plot* dos caules de *C. sinensis* e *C. limonia* no modo positivo de ionização.

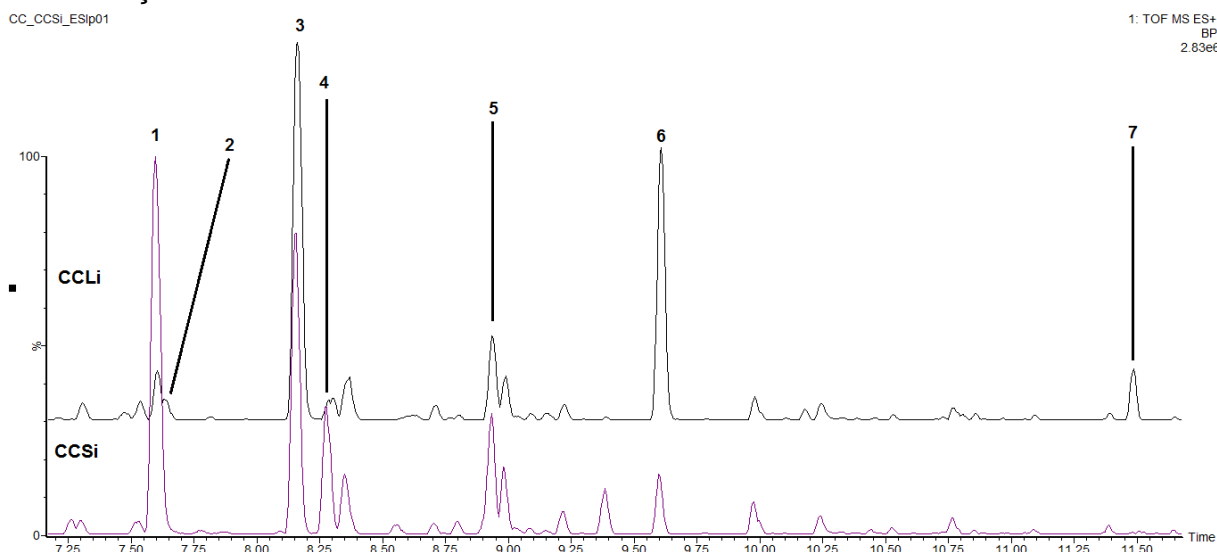


Figura 4-41: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes de caule.

A análise da banda cromatográfica **4** de t_r de 8,28min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 455,2076, assim como adutos de sódio (m/z 477,1893,2103) e $[2M+Na]^+$ (m/z 931,3867), o qual $[M+H]^+$ corresponde a uma diferença de massa de -2,85 ppm para os limonoides obacunona e deoxilimonina (**Figura 4-42**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-43**) dessa banda cromatográfica não forneceu muitas informações, sendo observado somente poucos de intensidades desprezíveis m/z 411, m/z 427 e m/z 437, os quais referem a perdas de CO_2 , CO e H_2O , respectivamente, os quais não auxiliam na diferenciação entre os dois limonoides, os quais possuem anéis lactônicos capazes de prover tais fragmentos. Logo a banda **4** pode ser

aObacunona ou Deoxilimonina. A área dessa banda foi maior em 2,02 vezes maior em *C. limonia* (Tabela 4-4).

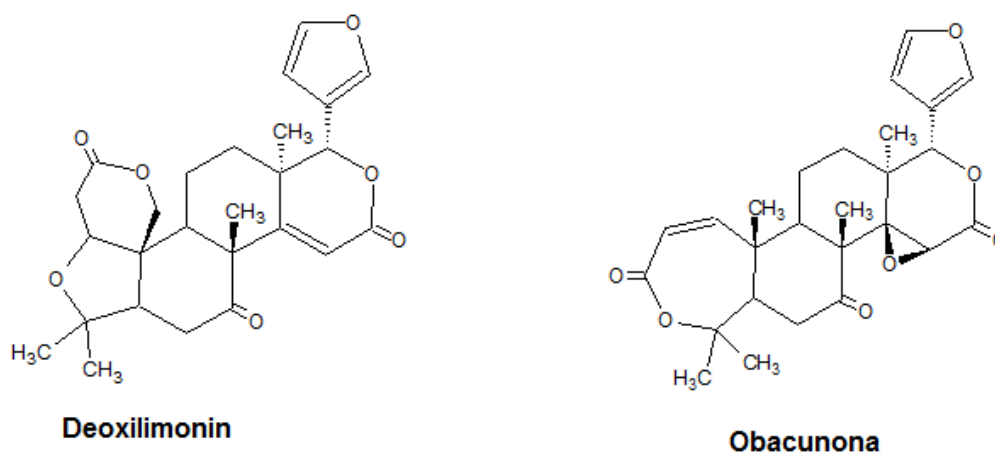
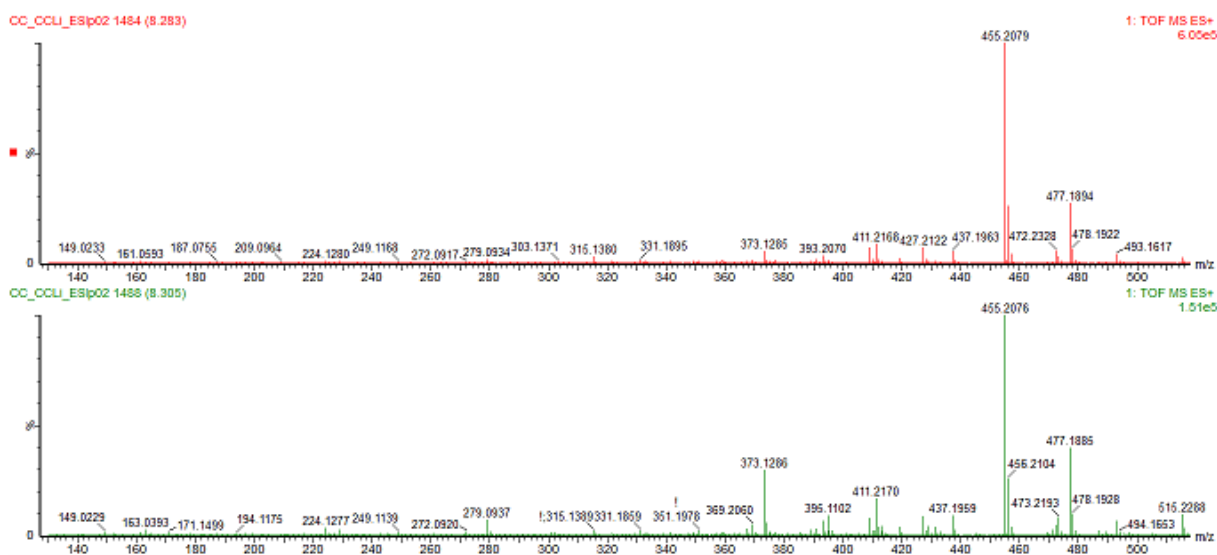


Figura 4-42: Estrutura dos limonoides de massa neutra 454,1991 Da referente aom/z455,2076.



A análise da banda cromatográfica⁵ de t_r de 8,91 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 403,1393 e aduto de sódio m/z 425,1216 cujas diferenças de massa foi de $-1,71$ pp entre a massa experimental observada e a massa teórica calculadas para as flavonas hexametoxiladas nobiletina, quercetogetina e 3,5,7,8,3',4'-hexametoxiflavona (**Figura 4-44**). A técnica de ESI é mais branda que a técnica de CG-EM, a qual utiliza 70 eV para fragmentar uma molécula, enquanto a utilizada neste trabalho usou um gradiente de 25-35 eV. Com isto, não foram observados íons produtos provenientes de RDA (Retro Diels-Alder) a partir do íon

m/z 403 (**Figura 4-45**). Estes auxiliariam a posicionar os grupos metoxílicos nos anéis A e B com facilidade. Contudo, foram observados fragmentos via RDA oriundos do m/z 373 que pode ter se formado pela perda de uma unidade $H_2C=O$. A RDA ocorrendo neste íon leva aos íons m/z 211 e m/z 163, este último confirma o anel B dimetoxilado e a ausência de metoxila em C-3. Os íons m/z 211 e m/z 183 (oriundo do m/z 211 pela perda de CO) mostram que a perda do metanal no íon $[M+H]^+$ para levar ao m/z 373 ocorreu no anel A, confirmando o anel A totalmente metoxilado (**Esquema 4-14**). Tais observações levam a propor a banda **5** como o flavonoide Nobiletina que já foi isolada antes pelo laboratório, como também detectada via CLAE-APCI-EM e CLAE-ESI-EM em folhas e caules dessas mesmas espécies de *Citrus* trabalhadas por Soares (2011) e Belletti (2013). A nobiletina teve sua produção 1,21 vezes mais expressa nos caules de *C. limonia*.

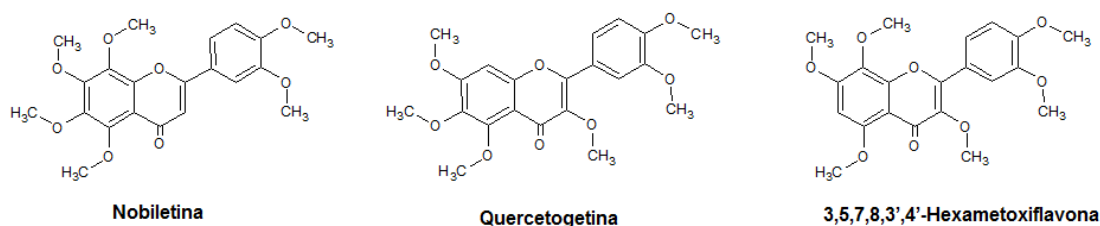


Figura 4-44: Estrutura das flavonas polimetoxiladas de massa neutra 402,1314 Da referente ao m/z 403,1393.

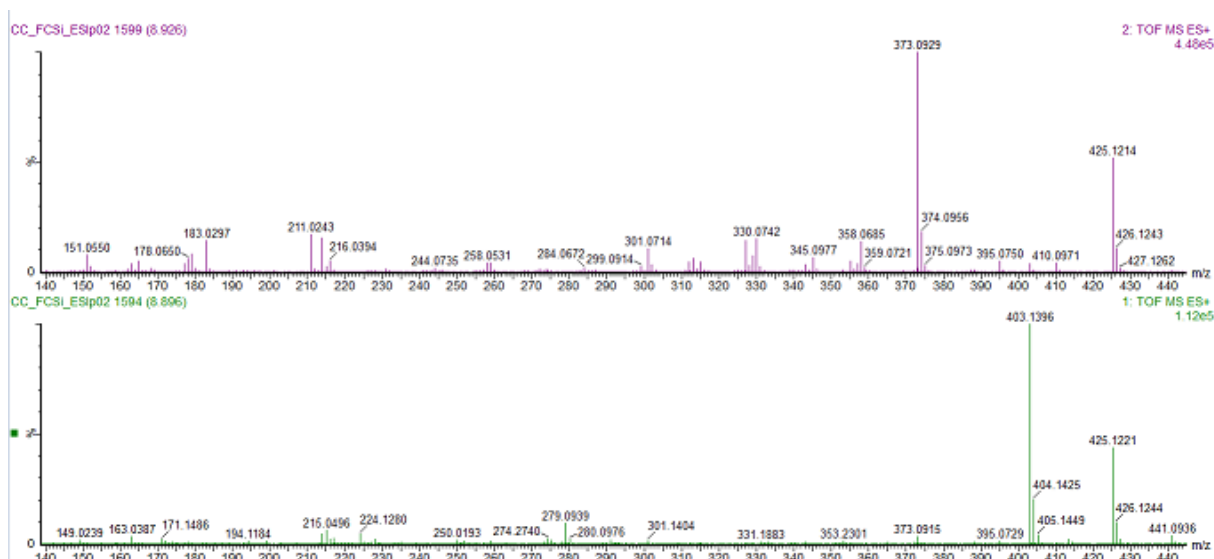
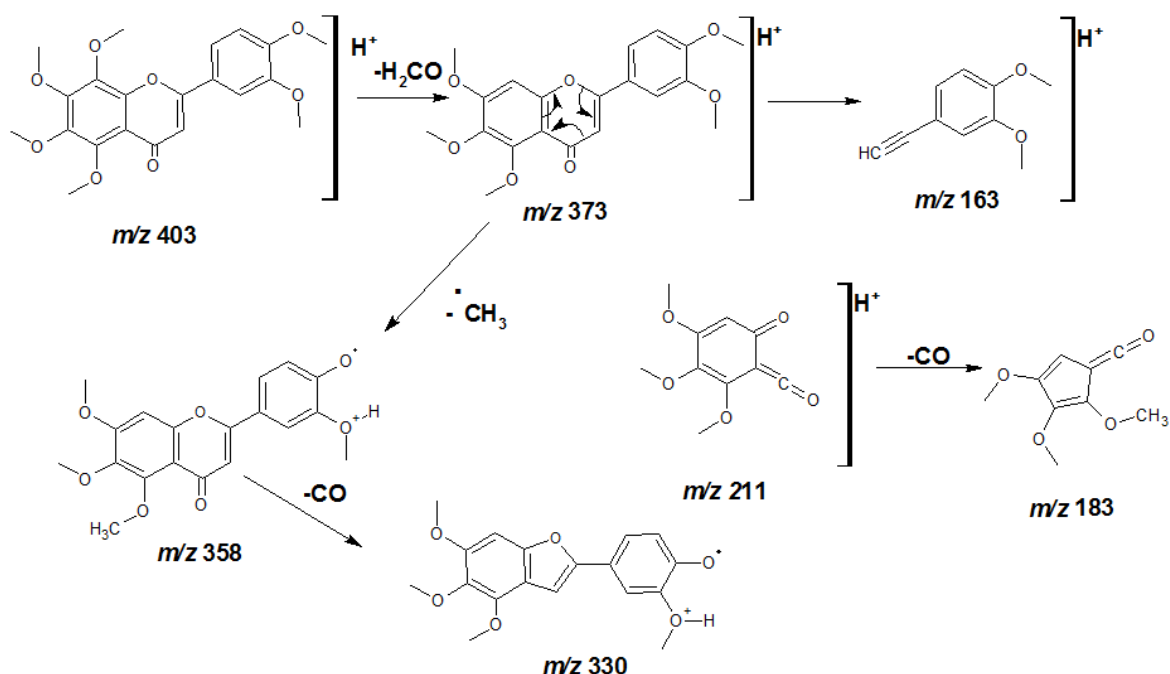


Figura 4-45: Espectro de massas para o íon m/z 403,1405 de t_r de 8,91 min. encontrado nos caules de *C. limonia* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-14: Proposta de fragmentação para a Nobiletina (ESI, modo positivo).

A banda 2 de t_r de 7,62 min. que se mostrou relevante devido ao fato de estar presente somente nos caules de *C. sinensis* mostrou o íon pseudomolecular m/z 766,4235 e $[M+\text{Na}]^+$ m/z 788,4066, e até o dado momento não pode ser identificado, não sendo encontrado metabólitos com diferença de massa experimental e teórica pequena que fizessem parte do perfil quimiotaxonômico típico do gênero *Citrus*. A única substância com a menor diferença de massa entre a teórica e a experimental (de 4,82 ppm) foi encontrada no banco de dados Metlin, e se tratava do cetolídeo Cetromicina, uma classe de metabólito incomum na família Rutaceae (**Figura 4-46**), sendo descartada essa possibilidade para a identidade da banda 2.

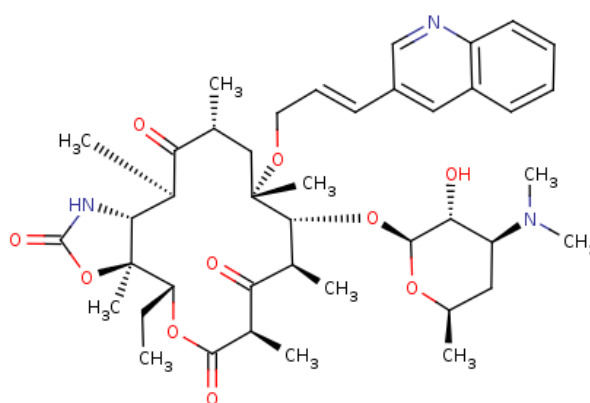


Figura 4-46: Estrutura do cetolídeo Cetromicina metabólito incomum na família Rutaceae (765.4200 Da).

Tabela 4-4: Prováveis metabólitos secundários dos caules do *Citrus* evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S-plot* (*ESI* positivo).

Banda	t _r (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Varição
1	7,60	515,2290	Acetato de limonila	<i>C. limonia</i>	4,04
2	7,62	766,4235	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	DUE*
3	8,15	228,0792	Seselina	<i>C. sinensis</i>	2,13
4	8,28	455,2076	Obacunona ou Deoxilimonina	<i>C. limonia</i>	2,02
5	8,91	403,1393	Nobiletina	<i>C. limonia</i>	1,21
6	9,60	245,1194	Ostol	<i>C. sinensis</i>	5,63
7	11,47	381,2061	Clausarina	<i>C. sinensis</i>	DUE*

*DUE – Detectado em uma Única Espécie

4.3.5.3 Análises das folhas dos pés-francos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s-plot* (Figura 4-47) no modo positivo de ionização das folhas foi possível evidenciar como mais significativas 9 bandas cromatográficas (Figura 4-48). As bandas cromatográficas 3, 4, 5, 6 e 8 foram sugeridos os metabólitos secundários que se encontram na Tabela 4-5, os quais foram identificados anteriormente nas raízes e caules de citros que foram discutidos nos tópicos anteriores:

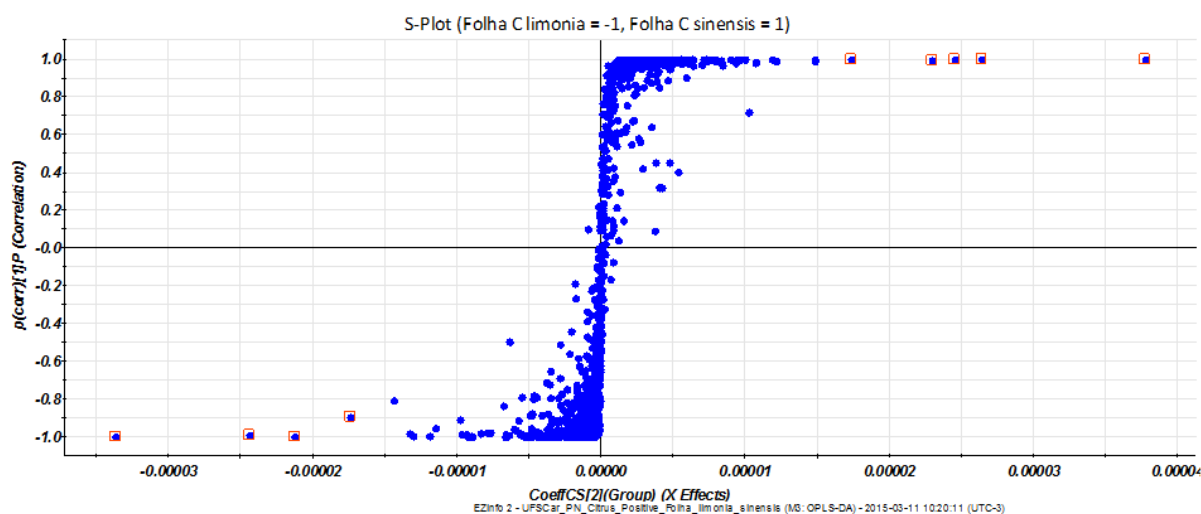


Figura 4-47: Gráfico *S-Plot* das folhas de *C. sinensis* e *C. limonia* no modo positivo de ionização.

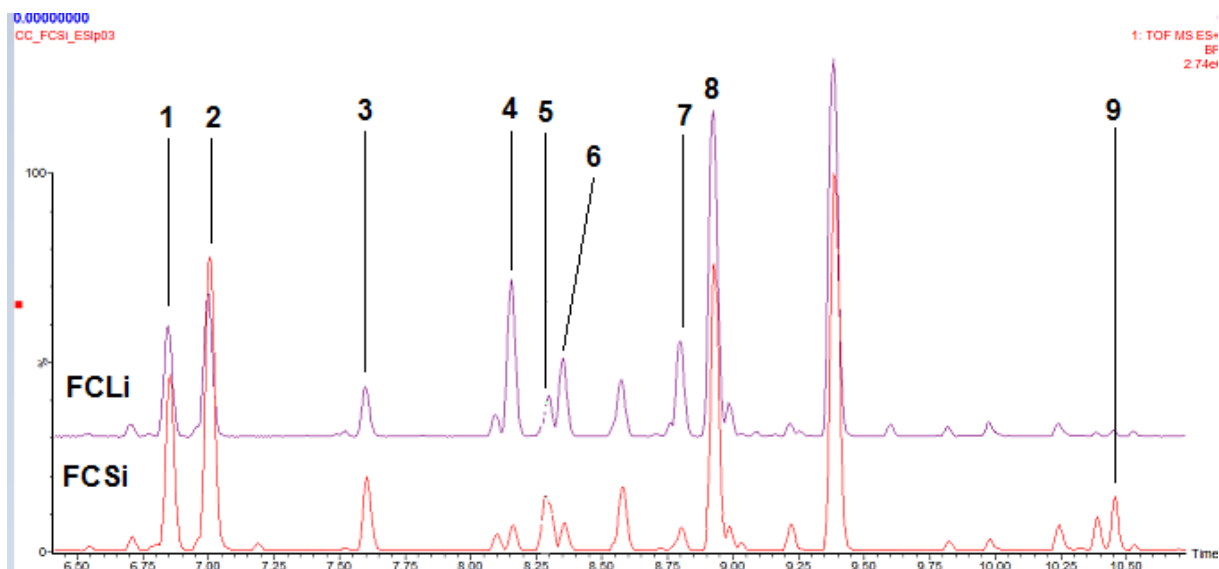


Figura 4-48: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes de folhas.

A análise da banda cromatográfica 1_r, de 6,85 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 207,0659, o qual mostra uma diferença de massa de apenas -1,44 ppm em relação às cumarinas simples escoparona, citropteno, 7,8-dimetoxicumarina e 6-hidroximetilherniarina (**Figura 4-49**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-50**) teve como pico base m/z 149, se forma inicialmente pela perda de H₂CO seguida CO (**Esquema 4-15**). Infelizmente todas as cumarinas prováveis podem apresentar esse perfil de fragmentação. Contudo a ausência de picos referentes a perda de H₂O e o relato na literatura de 6-hidroximetilherniarina somente em *C. gradis* permite descartá-la. Entretanto esse padrão de fragmentação pode ser assumido por qualquer uma das cumarinas restantes, impossibilitando atribuir uma delas à banda 1. Contudo, Soares (2011) em seu trabalho de doutorado por técnica de CLAE-APCI-EM no modo positivo de ionização e monitorando o íon m/z 207 nas suas análises de folhas de citros observou apenas uma banda nestas matrizes, onde com a ajuda de CLAE-RMN conseguia isolá-la e identificá-la como sendo a cumarina Citropteno. Como esse trabalho utilizou o mesmo material vegetal usado por Soares e também ao monitorar, concluiu-se que a banda 1 seja a cumarina citropteno. Ao monitorar o íon m/z 207 foi encontrada também uma banda cromatográfica referente a esse íon no mesmo tempo de retenção 6,85 min (**Figura 4-51**). Considerando a banda 1 o citropteno, este aparece 1,82 vezes maior nas folhas de *C. sinensis*.

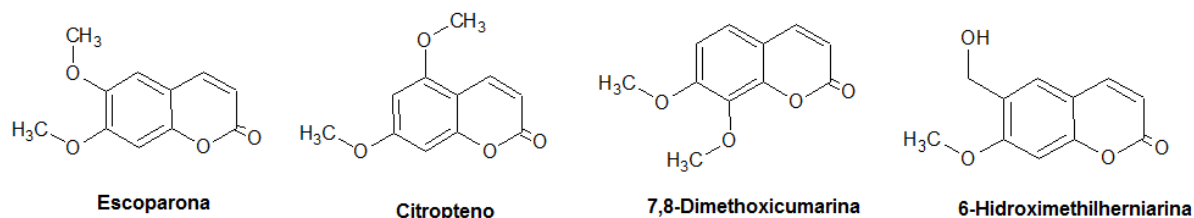


Figura 4-49: Estrutura cumarinas simples de massa neutra 206,0584 Da referente aom/z207,0659.

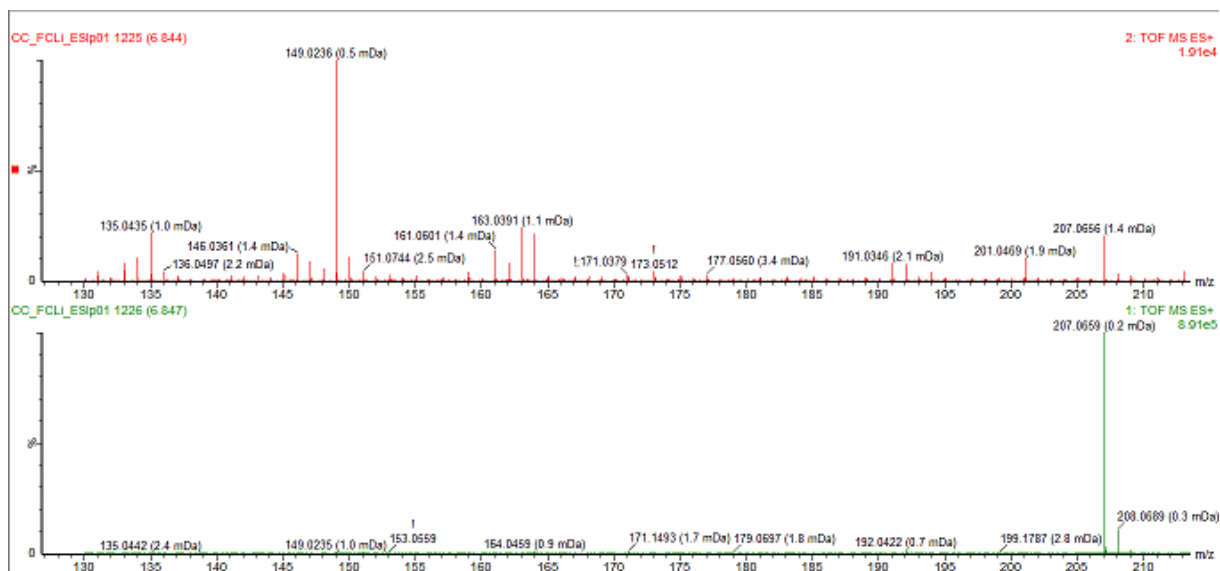
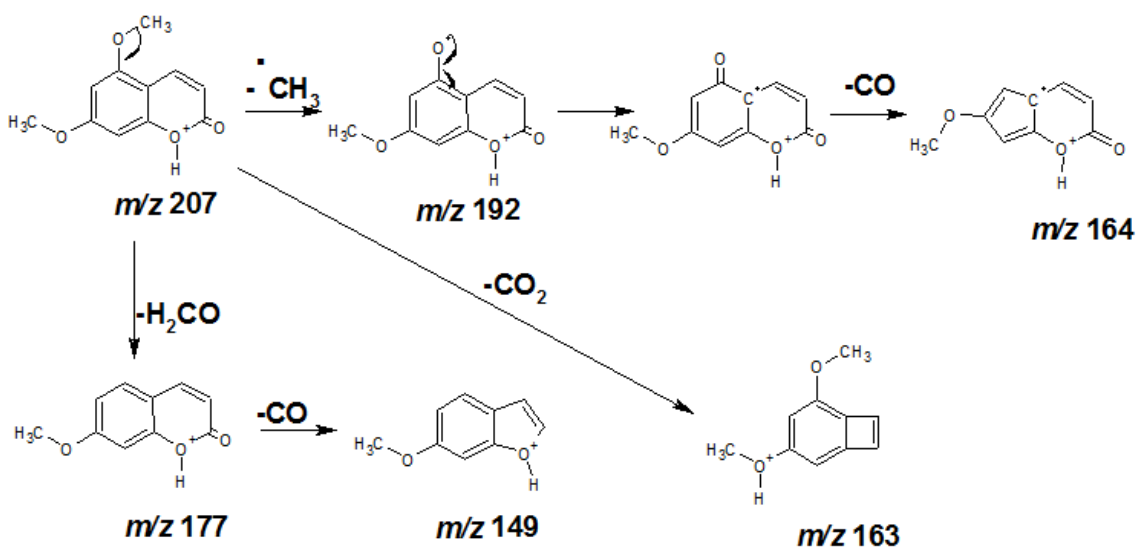


Figura 4-50:Espectro de massas para o íon m/z 207,0659de t_r de 6,85min. encontrado nas folhas de *C. limonia* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-15: Proposta de fragmentação para o Citropteno (ESI, modo positivo)

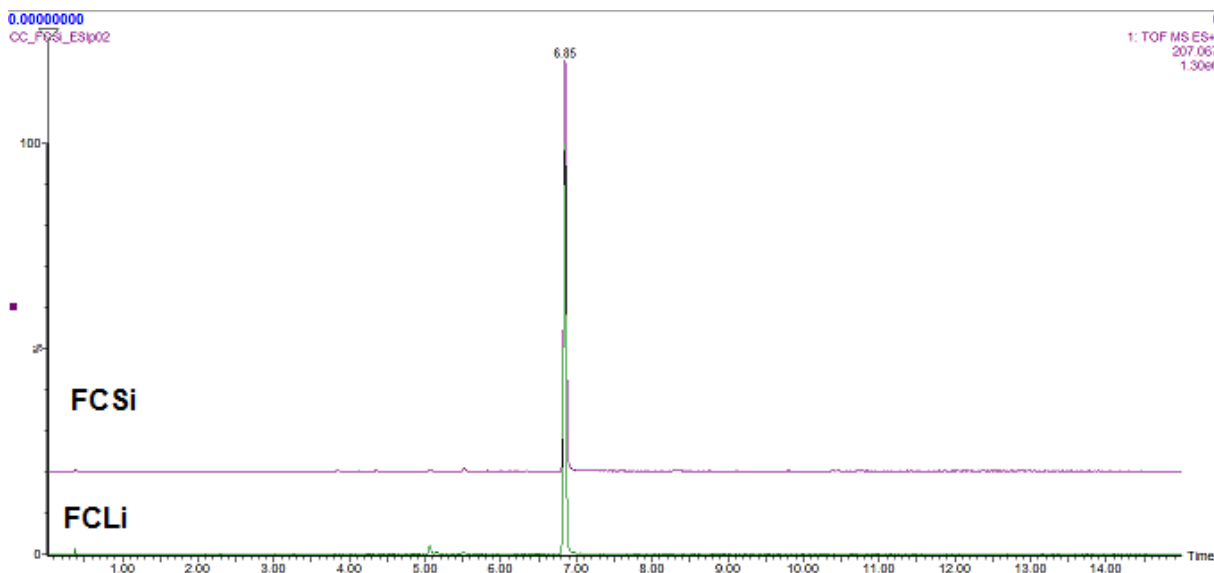


Figura 4-51: Cromatograma de massa m/z 207 das folhas de *C. limoniae* *C. sinensis*.

A análise da banda cromatográfica 2 t_r de 7,00 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 217,0504, o qual possui uma diferença de massa de apenas -4,60 ppm em relação às furanocumarinas xantoxiletina e bergapteno (**Figura 4-52**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-53**) teve como pico base m/z 174 formado pela perda de CH_3 radicalar seguido de CO (**Esquema 4-16**). Contudo, tais perdas são muito comuns nas duas furanocumarinas propostas, e sem padrões para comparação, foi feita uma busca na literatura sobre fragmentações para estas estruturas a mais compatível corresponde ao bergapteno mostrado na **Figura 4-54**. Vale ressaltar que os espectros de massas obtidos nesse trabalho foi feito um “corte” em relação aos íons a serem analisados no espectrômetro de massas, onde somente íons de m/z maiores que 129 foram detectados. Apesar disso foi possível identificar com segurança a banda e como a cumarina bergapteno já que a intensidade do pico m/z 202 referente à cumarina xantotoxina é menor que 10% em energias de colisão de 40 eV, enquanto que para o bergapteno essa intensidade é de cerca de 23% (SMITH et al., 2005) e o que foi observado para nossas análises foi uma intensidade de 32%, dando embasamento à nossa proposta. O bergapteno apresentou uma produção 2.16 vezes maior nas folhas de *C. sinensis*.

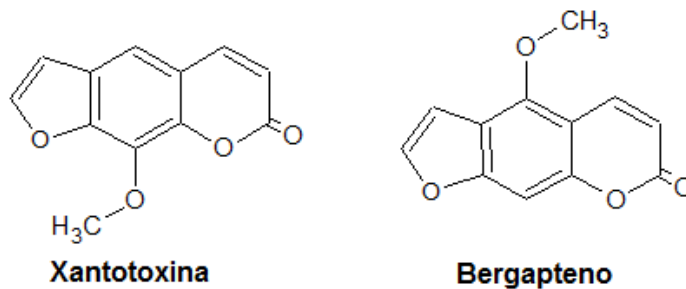


Figura 4-52: Estrutura das furanocumarinas de massa neutra 216,0422 Da referente aom/z217,0504.

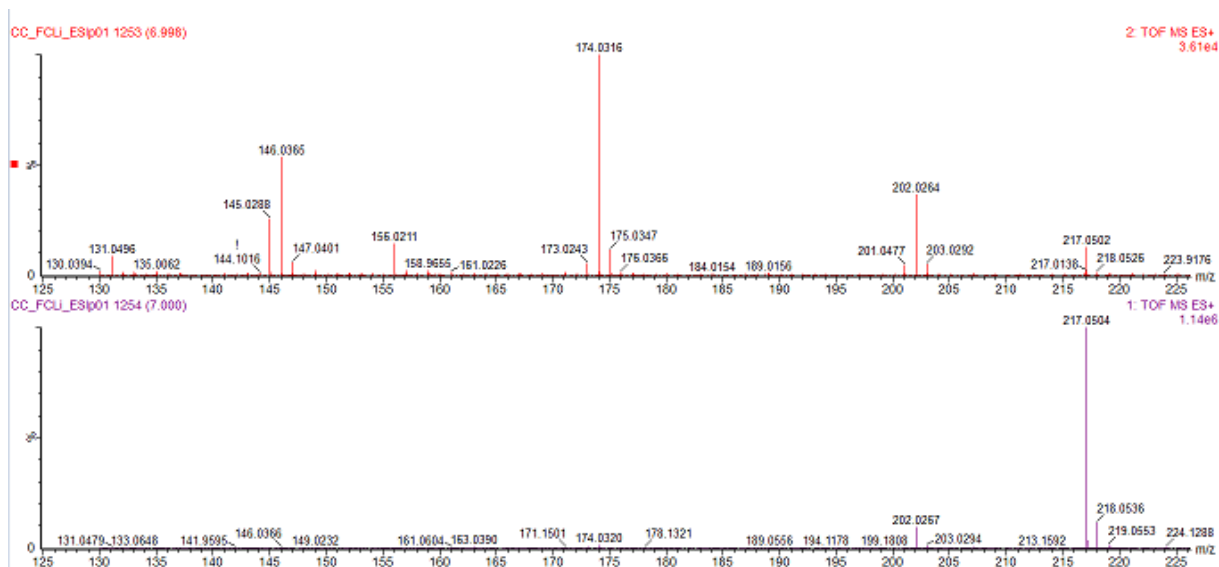
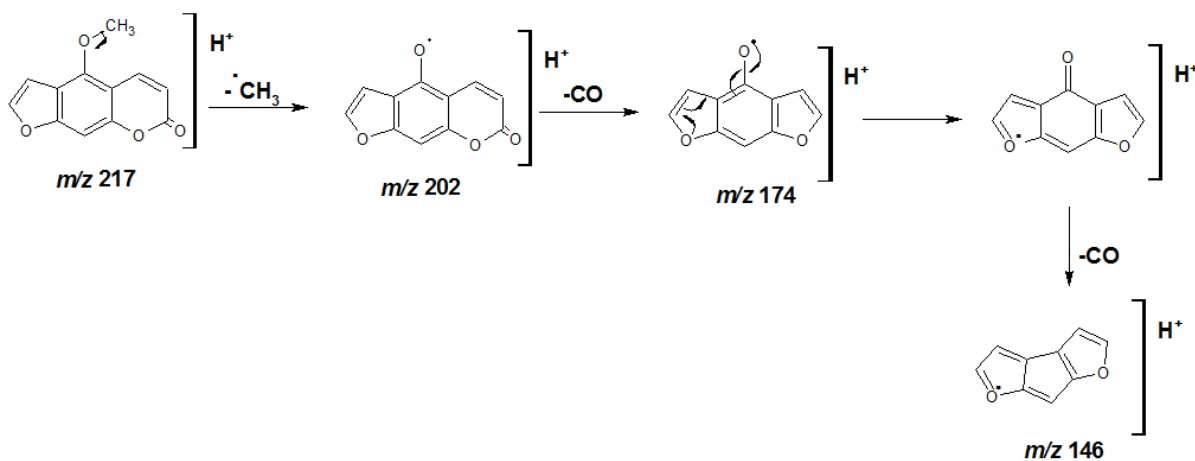


Figura 4-53: Espectro de massas para o íon m/z 217,0504 de t_r de 7,00 min. encontrado nas folhas de *C. limonia* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-16: Proposta de fragmentação para o Bergapteno(ESI, modo positivo)

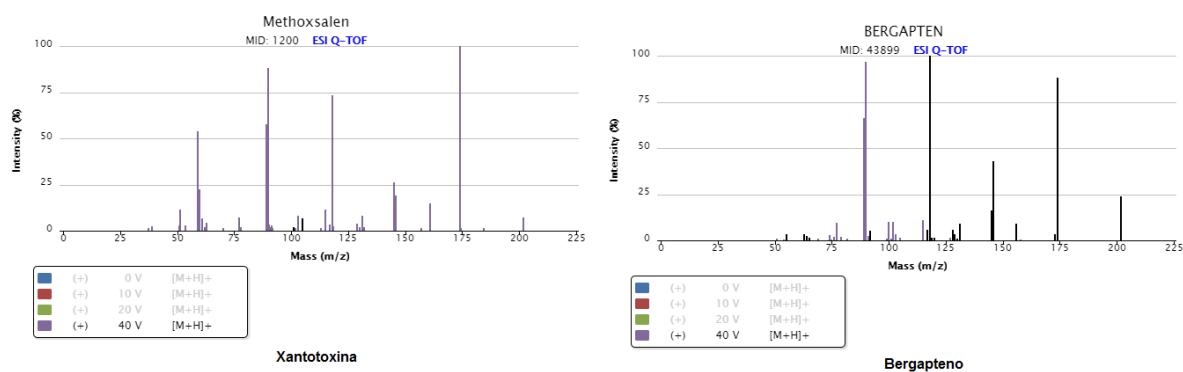
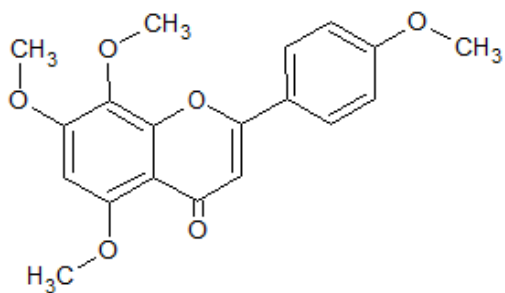
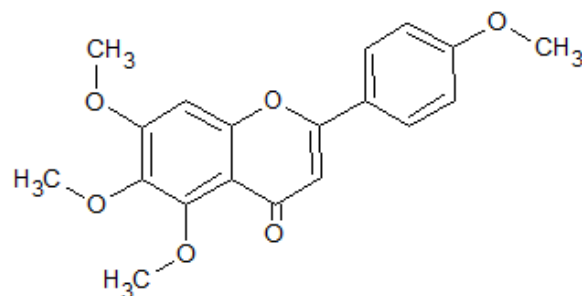


Figura 4-54: Perfis de fragmentação das cumarinas Xantoxiletina e Bergapteno em ESI-QTOF a 40eV no modo positivo obtidos na literatura (SMITH et al., 2005).

A análise da banda cromatográfica **7** de t_r de 8,79 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 343,1188 com diferença de massa de -3,78 pp entre aquelas teóricas calculadas para as flavonas tetrametoxiladas 6-Demetoxitangeretina e 5,6,7,4'-Tetrametoxiflavona (**Figura 4-55**). O espectro de massas de íons (**Figura 4-56**) produtos do íon pseudomolecular m/z 343,1188 não mostrou picos característicos de fragmentações do tipo RDA direto desse íon pseudomolecular. Entretanto foram observados fragmentos de RDA em m/z 131 e m/z 181, provenientes do pico base de m/z 313 formado pela perda de metanal. O pico de m/z 181 indica ainda que a perda de metoxila do flavonoide se deu no anel A, além do que esse pico leva ao m/z 153 por perda de CO caracterizando o anel A de ambas as flavonas propostas. Foi observado também picos referentes a perda inicial de CH_4 que leva a formação do grupo metilenodióxi e seus subsequentes fragmentos, entretanto como as ambas as flavonas possuem metoxilas com posicionamento próximos, não foi possível diferenciá-las por essa perda, como pode ser visto na proposta de fragmentação da 6-Demetoxitangeretina no **Esquema 4-17**. Com isso não foi possível propor qual das duas flavonas referem-se à banda **7**. Ambas as flavonas são encontradas nas folhas de *C. sinensis* segundo nosso levantamento (Anexo CD), não contribuindo para a identificação da banda **7**, a qual aparece 2,94 vezes maior nas folhas de *C. limonia*.



6-Demetoxitangeretina



5,6,7,4'-Tetrametoxiflavona

Figura 4-55: Estrutura das flavonas tetrametoxilados de massa neutra 342,1103 Da referente aom/z343,1188.

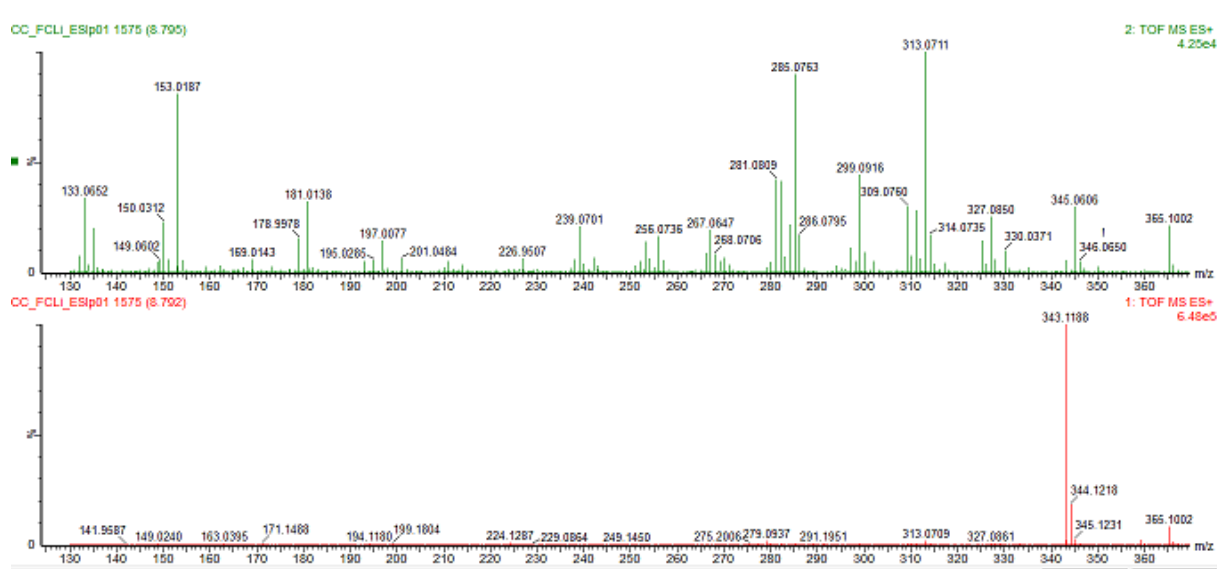
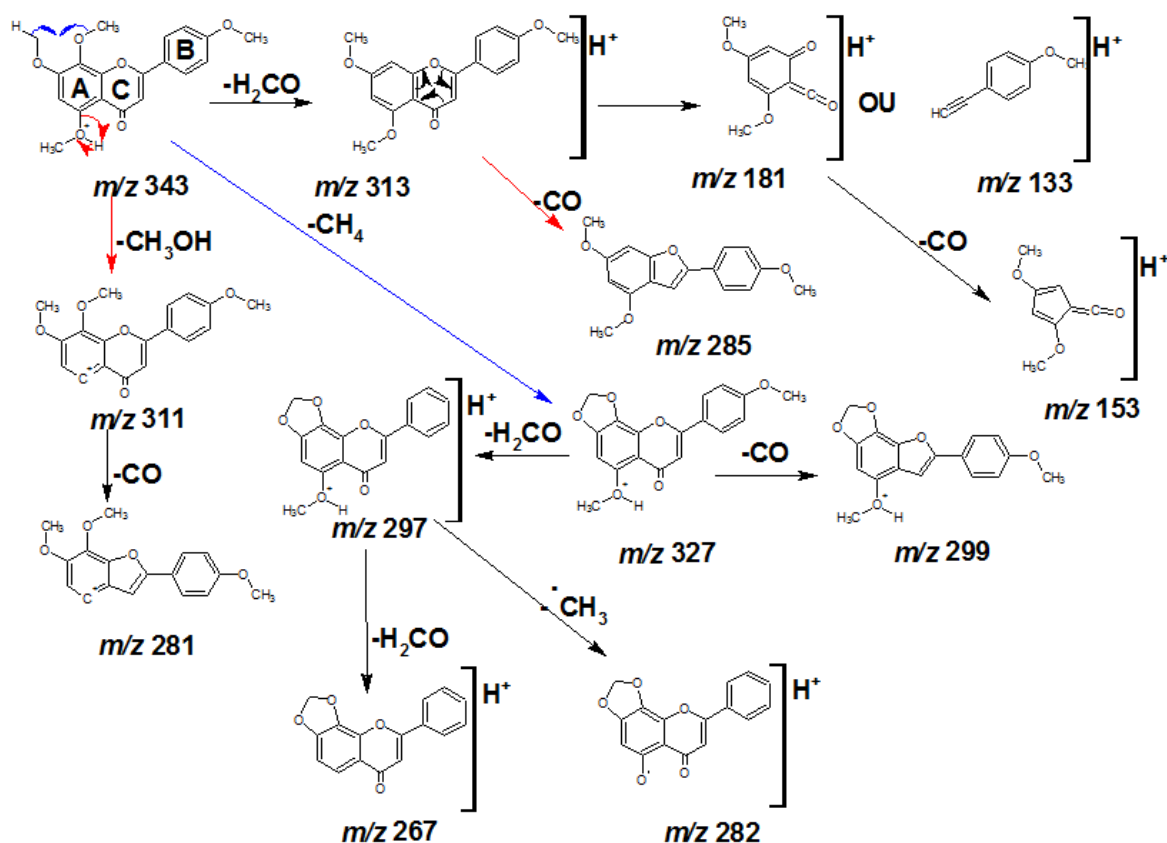


Figura 4-56: Espectro de massas para o íon m/z 343,1188.de t_r de 8,79 min. encontrado nas folhas de *C. limonia* (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-17: Proposta de fragmentação para o 6-Demetoxitangeretina(ESI, modo positivo)

A banda **9** de t_r de 10,45 min. mostrou uma diferença relevante de concentração nas folhas de *C. sinensis*, sendo 7,64 vezes mais biossintetizada nessa que em *C. limonia*. O íon pseudomolecular $m/z 277,2170$ correspondente a essa banda até o dado momento não pode ser identificado, não sendo encontrado metabólitos com diferença de massa experimental e teórica pequena que fizessem parte do perfil quimiotaxonômico típico do gênero *Citrus*. As substâncias com diferença de massa entre a teórica e a experimental pequenas eram ácidos graxos com duas ligações triplas em diferentes pontos de suas cadeias alquílicas, não sendo cabível de detecção nesse trabalho devido ao fato dos extratos trabalhados serem hidroalcóolicos, e a fonte de ionização de ESI não ser eficiente na ionização de compostos com baixo grau de polaridade, logo foi descartada essa possibilidade para a identidade da banda **9**.

Tabela 4-5: Prováveis metabólitos secundários das folhas do *Citrus* evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (*ESI* positivo).

Banda	t _r (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Variação
1	6,85	207,0659	Citropeteno	<i>C. sinensis</i>	1,82
2	7,00	217,0504	Bergapteno	<i>C. sinensis</i>	2,16
3	7,60	515,2290	Acetato de limonila	<i>C. sinensis</i>	1,60
4	8,15	229,0869	Seselina	<i>C. limonia</i>	4,61
5	8,28	455,2076	Obacunona ou Deoxilimonina	<i>C. sinensis</i>	4,34
6	8,35	229,0869	Xantiletina	<i>C. limonia</i>	1,69
7	8,79	343,1188	6-Demetoxitangeretina ou 5,6,7,4'-Tetrametoxiflavona	<i>C. limonia</i>	2,94
8	8,91	403,1393	Nobiletina	<i>C. limonia</i>	1,13
9	10,45	277,2170	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	7,64

4.3.6 Análises discriminantes dos biomarcadores via *S*-plot dos pés francos das análises no modo negativo de ionização

4.3.6.1 Análises das raízes dos pés-francos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-57) no modo negativo de ionização das raízes dos pés francos foi possível evidenciar como mais significativas 15 bandas cromatográficas (Figura 4-58). As bandas cromatográficas 10 e 15 são as mesmas encontradas nas análises feitas entre as raízes dos pés francos no modo positivo, onde foram discutidos na seção 4.3.5 (página 65) e os respectivos metabólitos secundários se encontram na Tabela 4-6.

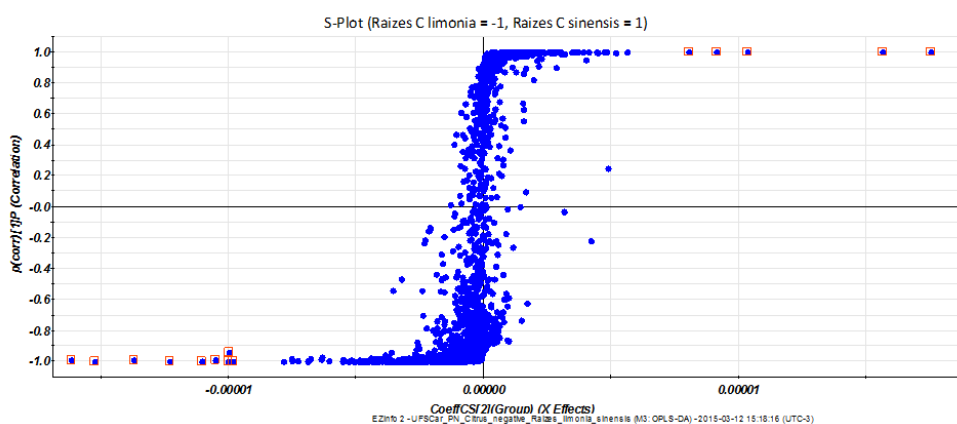


Figura 4-57: Gráfico *S*-Plot das raízes de *C. sinensis* e *C. limonia* no modo negativo de ionização.

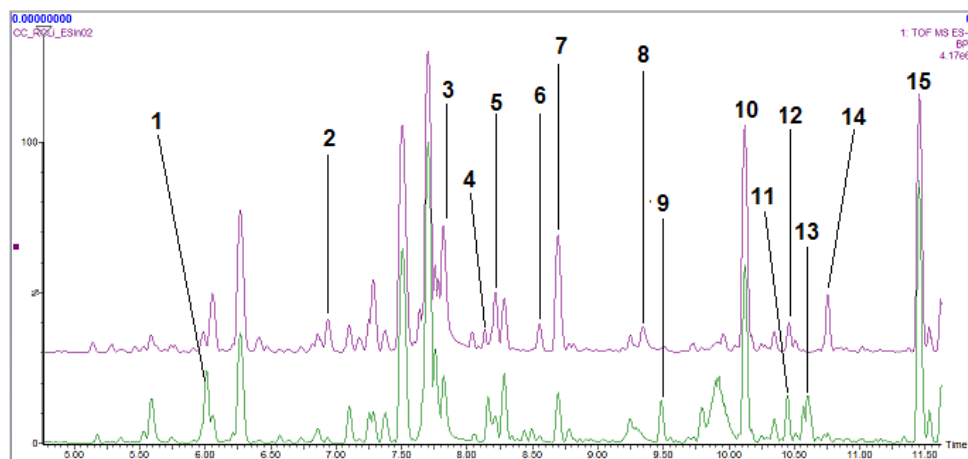


Figura 4-58: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes das raízes.

A análise da banda cromatográfica **1** de t_r de 6,01min. mostrou o íon pseudomolecular $m/z247,0977$, para o qual não foi encontrado metabólito com massa próxima no banco de dados feito para esse trabalho, contudo uma busca no banco METLIN foi encontrado para esse íon o fenilpropanoide cafeoato de prenila, o qual apresentou um erro de -0,40 ppm entre a massa experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-59**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-60**) foi observado o aduto $[M+Na-2H]^+$ de $m/z269,0793$ e picos intensos de $m/z203$, oriundo da perda de dióxido de carbono, e $m/z 187$ referente à perda de metano a partir $dom/z203$ (**Esquema 4-18**). O cafeoato de prenila foi detectado somente nas raízes de *C. sinensise* não foi isolado anteriormente no laboratório de PN da UFSCar, como também não há relatos dele em espécies de *Citrus*, contudo como sendo um composto proveniente do ácido cinâmico com uma unidade de prenila que são precursores básicos da maioria dos metabólitos de *Citrus* a sua detecção nas raízes dessa não seria um fato incomum, pois como foi discutido na introdução as espécies abrigadas na família Rutaceae tem uma característica marcante em produzir metabólitos com precursores de diferentes rotas biossintéticas.

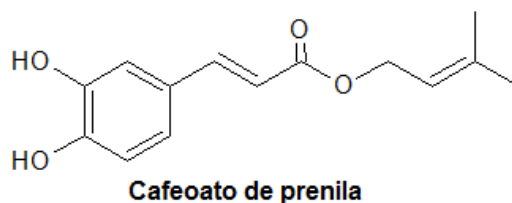


Figura 4-59: Estrutura Cafeoato de prenila de massa neutra 248,1048Da referente aom/z247,0977.

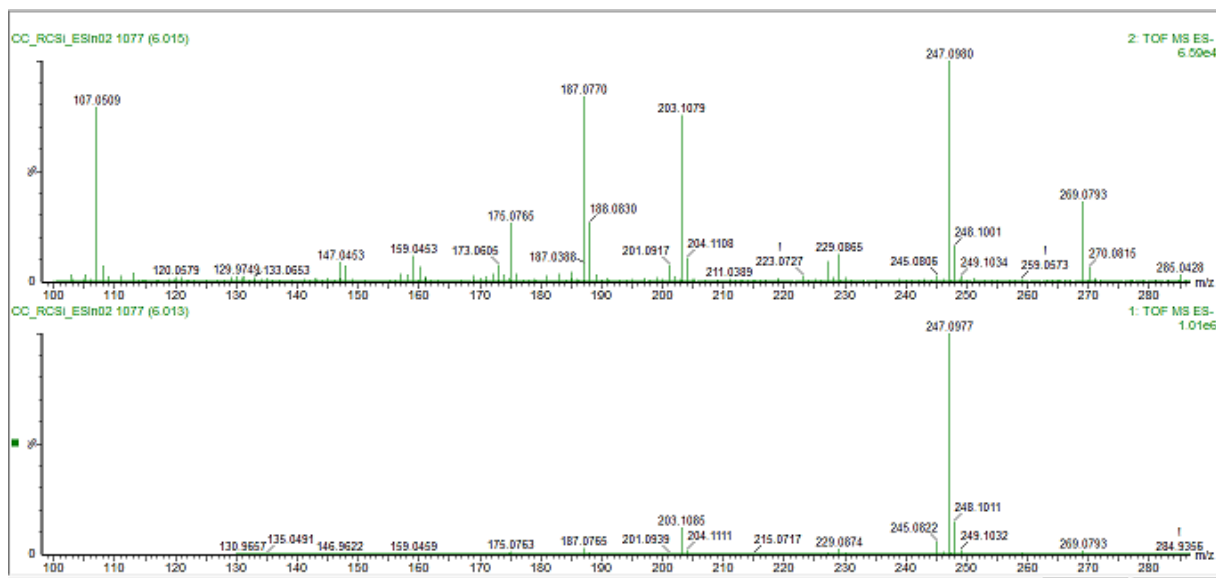
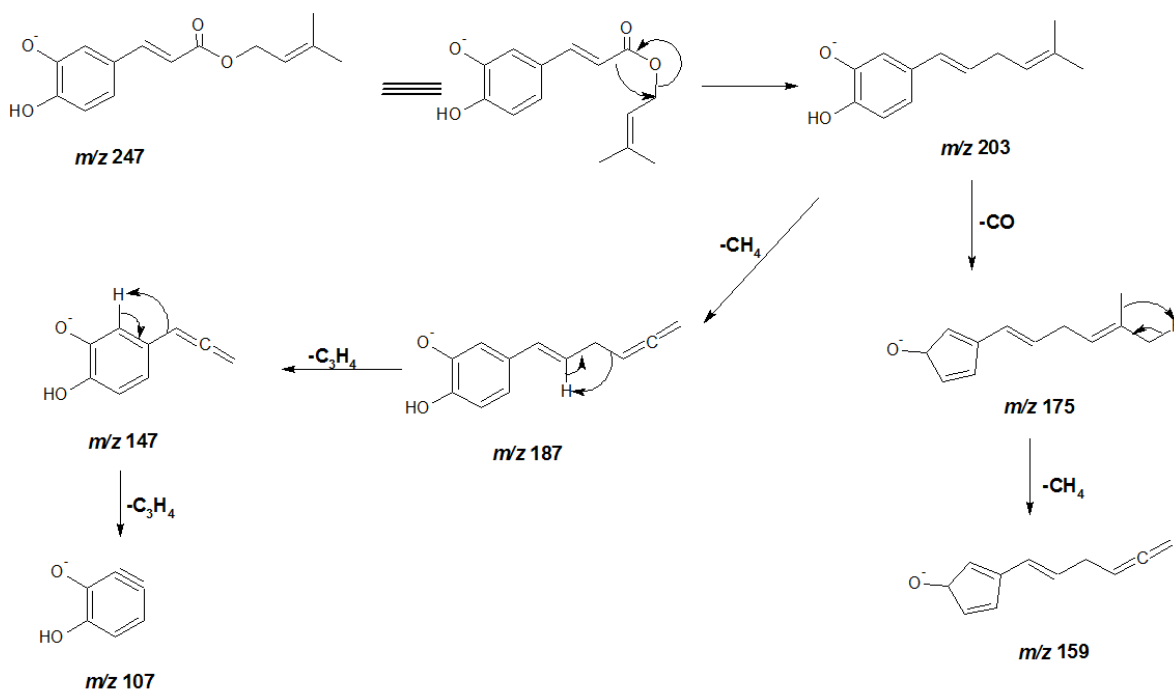


Figura 4-60: Espectro de massas para o íon m/z 247,0977 de t_r de 6,01 min. encontrado nas raízes de *C. sinensis* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



A análise da banda cromatográfica **2** de t_r de 6,94min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 316,0819, o qual mostra uma diferença de massa de apenas 2,53 ppm para os alcaloides acridônicos citruscridona e citramina (**Figura 4-61**). Tanto no espectro do íon molecular quanto no espectro de íons produtos (**Figura 4-62**) foi observado o pico m/z 301, oriundo da perda do radical CH_3 da amina, sendo esta comumente observado entre esses alcaloides. O radical formado pode ser estabilizado por conjugação ao longo dos dois anéis aromáticos da molécula. Outro pico presente nos dois espectros foi m/z 286 proveniente da perda de metanal referente a grupo metoxílico. A identidade das moléculas como alcaloides acridônicos N-metilados foi evidenciada pela perda de HNCH_2 (29 Da) que foram observadas através dos picos m/z 287 e m/z 257 (**Esquema 4-19**). Apesar de todas essas observações não foi possível identificar qual dos dois alcaloides seria a banda **2**, pois estes podem apresentar o mesmo padrão de fragmentação. Não foi encontrado na literatura dados espectrométricos de fragmentação via *ESI* negativo e nem dispomos de padrões, logo não foi possível atribuir um desses dois alcaloides à banda **2**. Esta banda apresentou uma produção 3,66 vezes maior nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-6**).

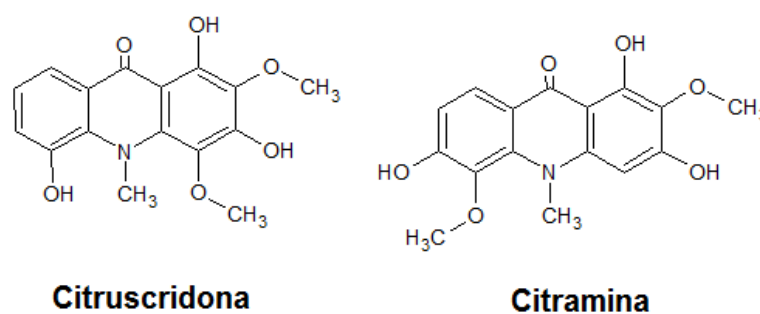


Figura 4-61: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 317,0899 Da referente a m/z 316,0819.

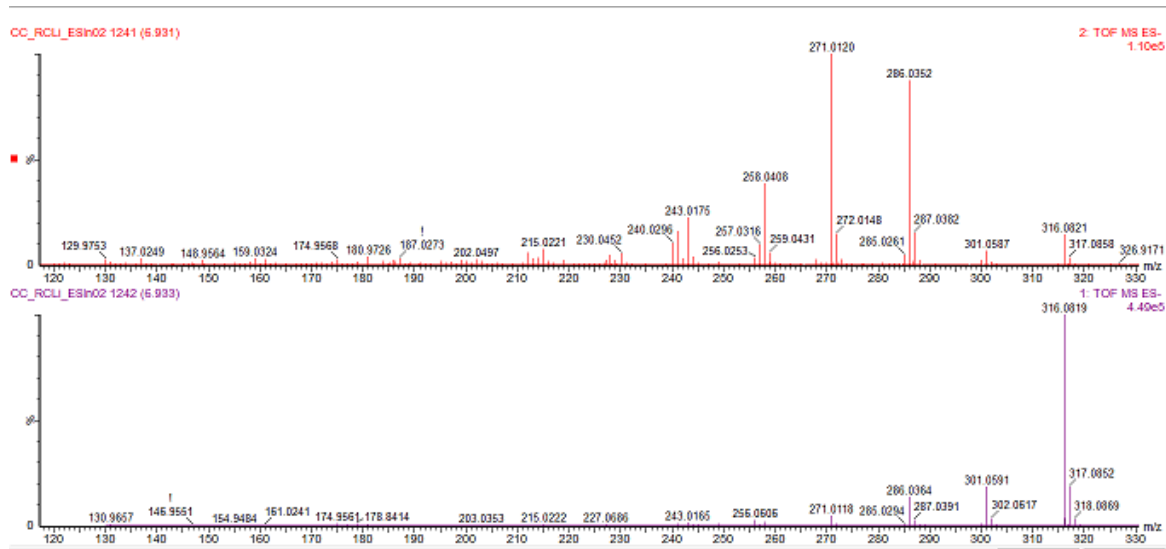
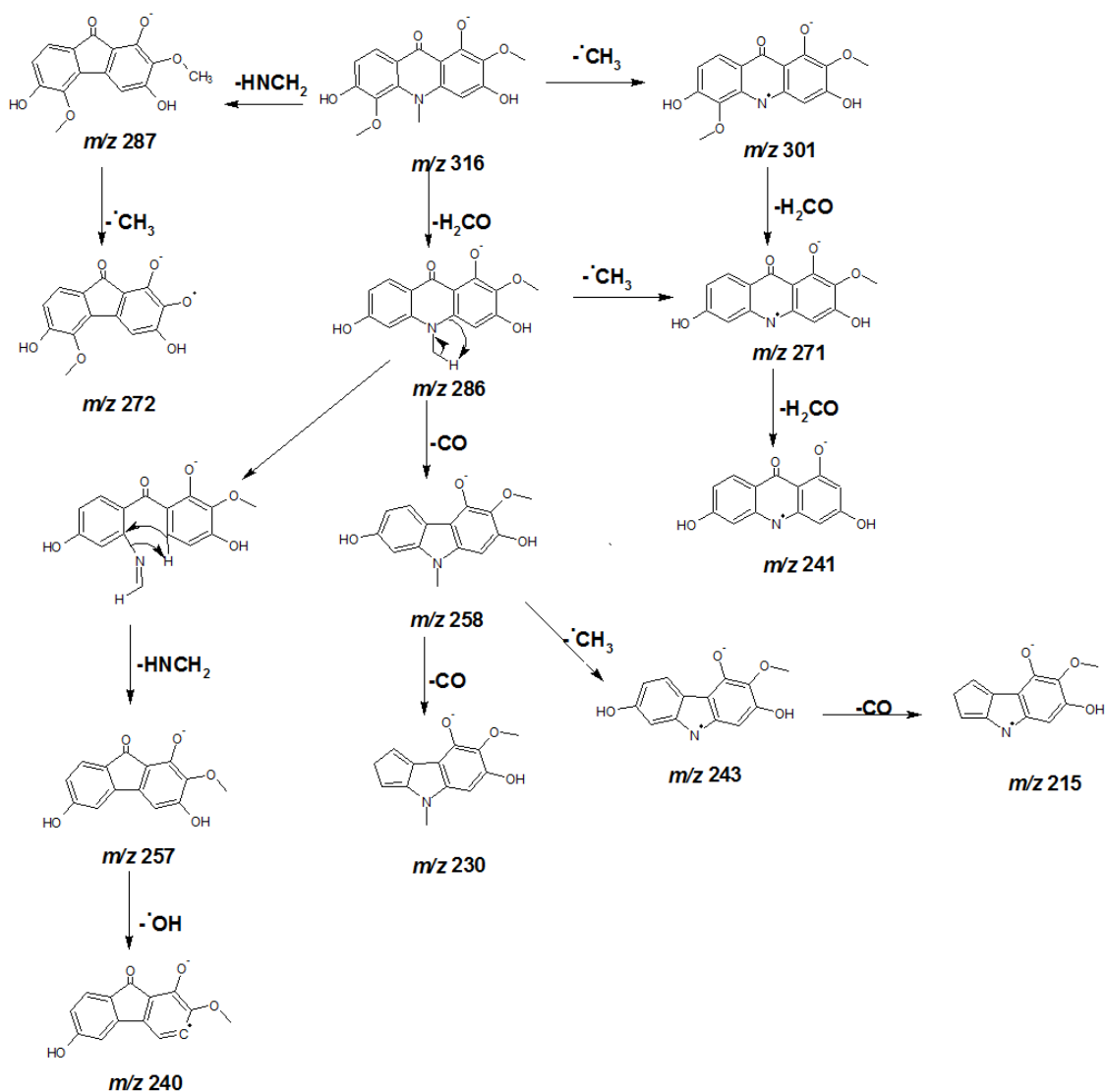
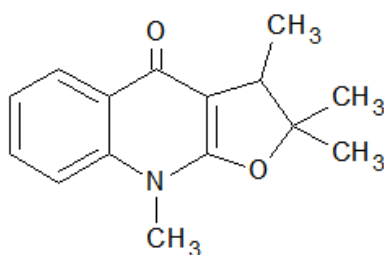


Figura 4-62: Espectro de massas para o íon m/z 316,0819 de t_r de 6,94 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-19: Proposta de fragmentação para a citramina(ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **4** de t_r de 8,14min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 242,1187, para o qual não foi encontrado metabólito com massa próxima no banco de dados feito para esse trabalho, contudo uma busca no banco METLIN foi encontrado alguns alcaloides para esse íon, contudo o que mais se adequava ao perfil quimiotaxonômico de *Citrus* foi o furanoquinolínico lemobilina, que apresentou um erro de 0 ppm entre a massa experimental observada e a massa teórica calculada (**Figura 4-63**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-64**) o pico base de m/z 227 formado pela da perda comum do radical CH_3 . Foi observado também o pico m/z 187 proveniente da perda de 27 Da do fragmento HCN , o qual corrobora com a proposta do alcaloide N-metilado (**Esquema 4-20**)



Lemobilina

Figura 4-63: Estrutura do alcaloide furanoquinolínico de massa neutra 243,1259 Da referente a m/z 242,1187.

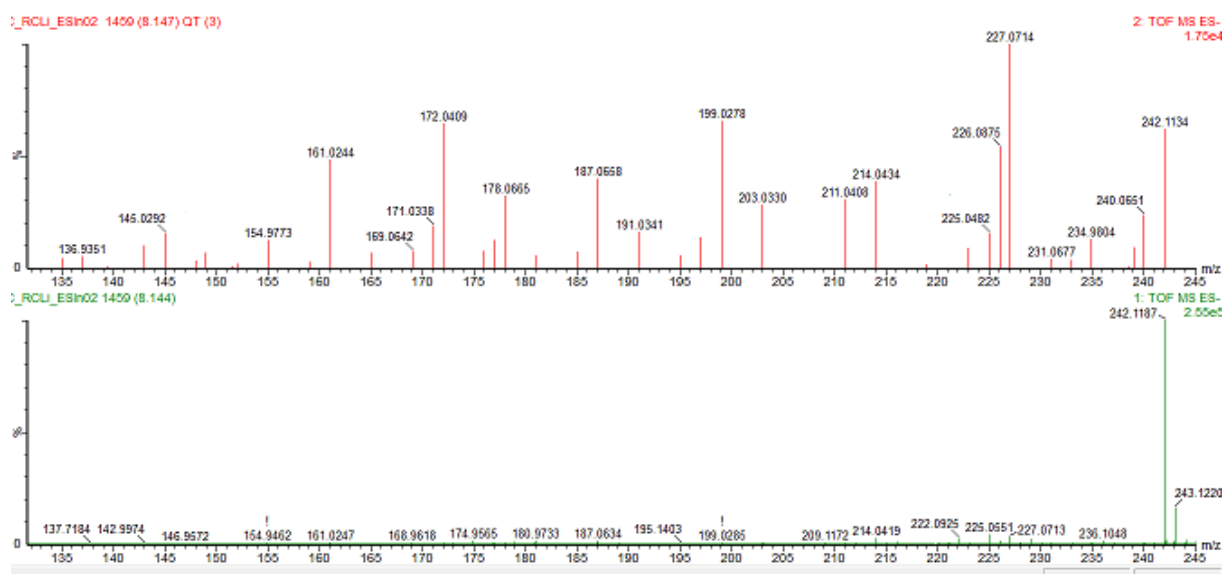
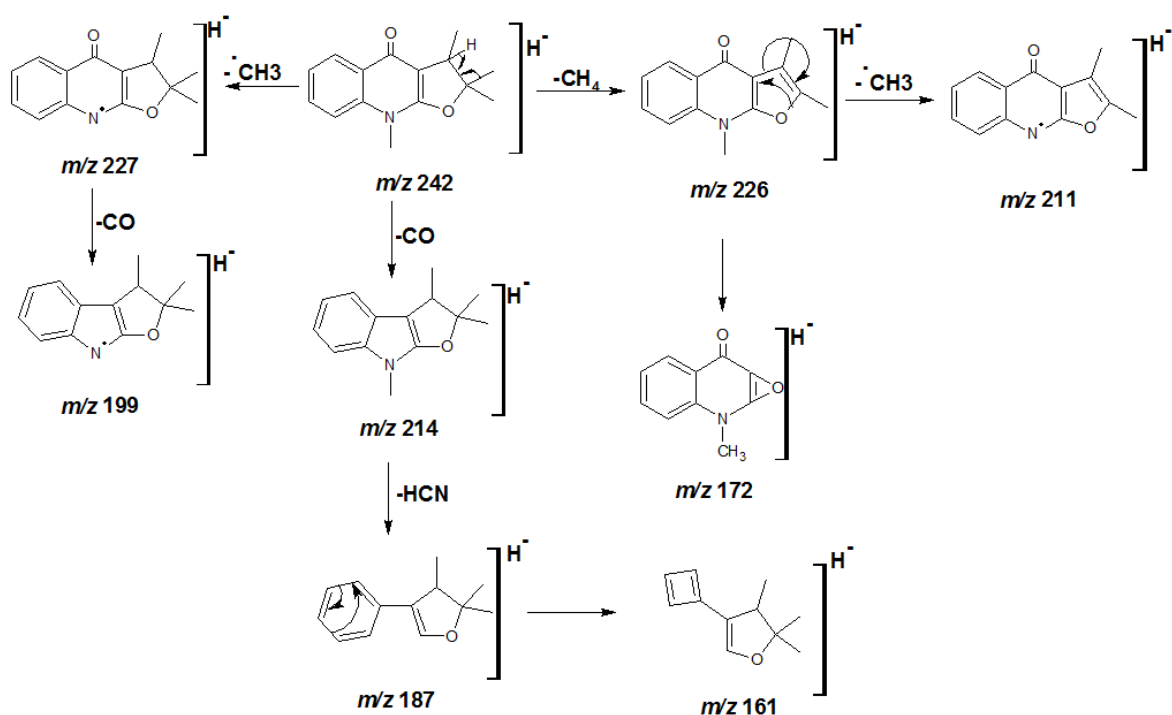


Figura 4-64: Espectro de massas para o íon m/z 242,1187 de t_r de 8,14 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-20: Proposta de fragmentação para o lemobilina (ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **5** de t_r de 8,21 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 300,0878, o qual mostra uma diferença de massa de apenas 0 ppm para os alcaloides acridônicos citpressina I, grandisina I, grandisina II, 5-hidroxiaborinina, citrusina I e natsucitrina II (**Figura 4-65**). Tanto no espectro do íon molecular quanto no de íons produtos (**Figura 4-66**) foi observado o pico m/z 286, oriundo da perda do radical CH_3 da amina. Outro pico presente nos dois espectros foi m/z 270 proveniente da perda de metanal referente ao grupo metoxílico da molécula. A identidade das moléculas como alcaloides acridônicos N-metilados foi evidenciada pela perda comum de 29 Da observadas através dos picos m/z 271 e m/z 198 (**Esquema 4-21**). A perda de 29 Da eliminou a possibilidade de ser o alcaloide natsucitrina II como a substância referente à banda **6**. A ausência de picos referentes a perda de 16 Da (CH_4), o que é muito comum em estruturas químicas que possuem dois grupos metoxílicos próximos, levando à formação do grupo metilenodióxi (no caso da citpressina I levaria a formação do metileno ligado aos heteroátomos O e N) permite propor a identidade da banda **5** como sendo o alcaloide Grandisina I. Este alcaloide apresentou uma produção 3,17 vezes maior nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-6**).

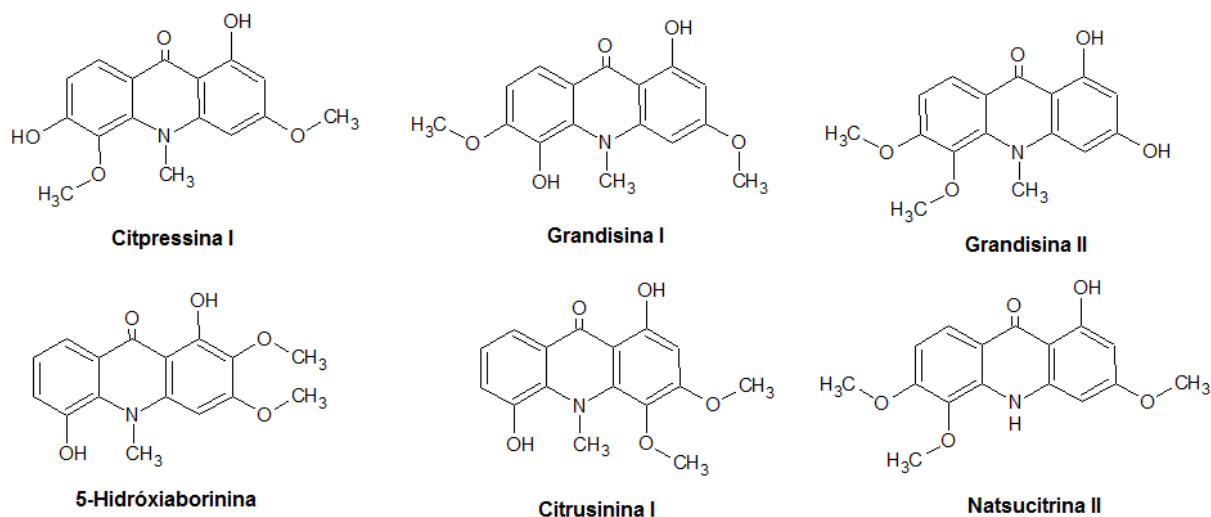


Figura 4-65: Estrutura dos alcaloides acridônicos de massa neutra 301,0950 Da referente a m/z 300,0878.

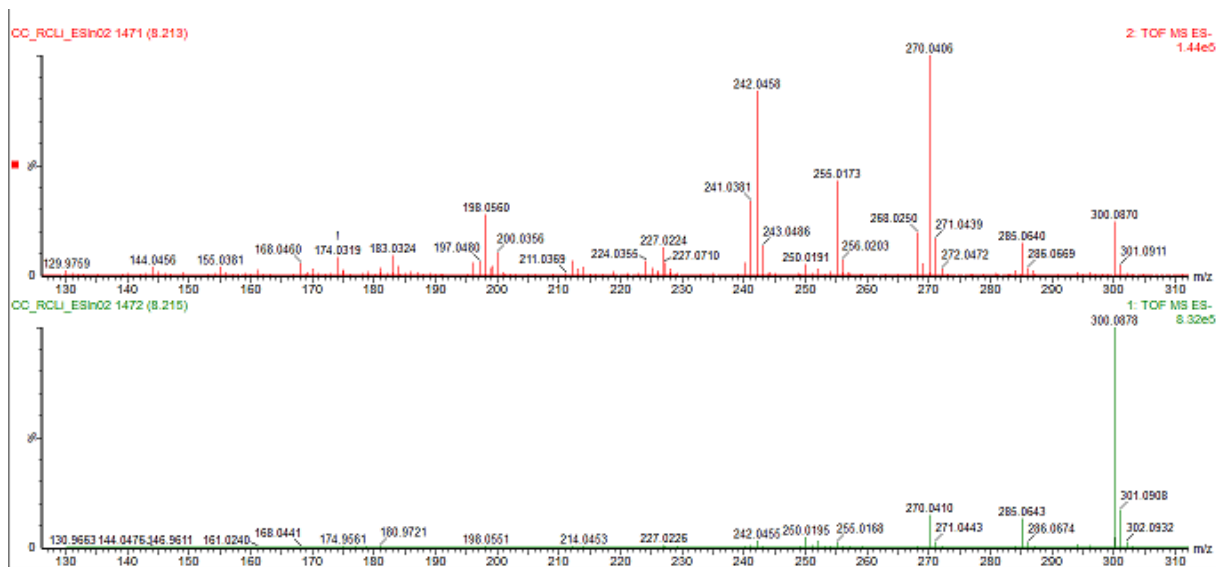
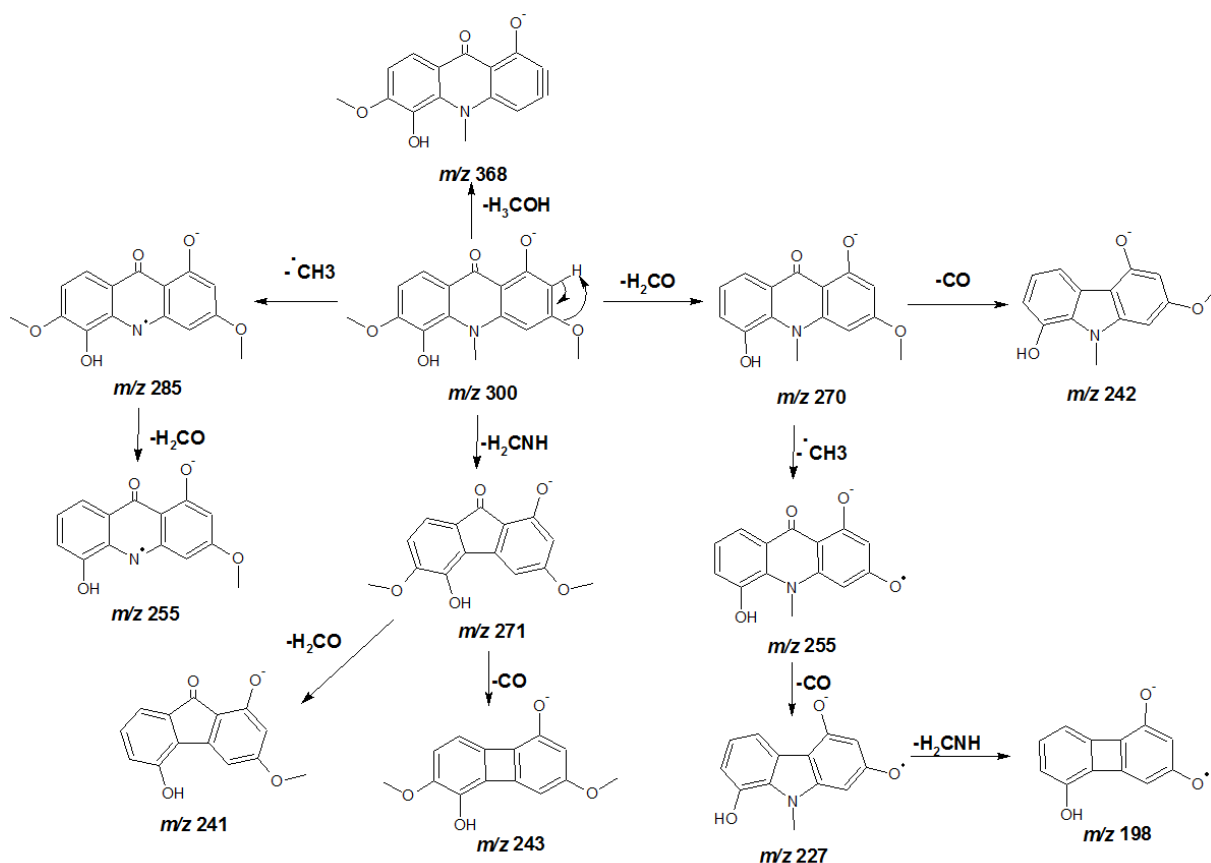


Figura 4-66: Espectro de massas para o íon m/z 300,0878 de t_r de 8,21 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-21: Proposta de fragmentação para a grandisina I (ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **7** de t_r de 8,70min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 229,0867, o qual possui uma diferença de massa de 1,30 ppm para as cumarinas preniladas 7-demetoxisuberosina e ostanol (**Figura 4-67**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-68**) foi observado a perda de CH_4 da unidade C-5 levando ao m/z 213, e este último perdendo aleno neutro ou radicalar levou aos íons m/z 173 e 174, respectivamente, após isso a perda de CO e CO_2 também foi observado (**Esquema 4-22**). Essas perdas são comuns para as duas cumarinas não permitindo diferenciá-las. Não foi encontrado na literatura dados de fragmentação para essas cumarinas por ESI no modo negativo, assim a banda **7** não pode ser devidamente identificada. Uma dessas duas cumarinas foi detectada com concentrações 2,94 vezes maior nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-6**).

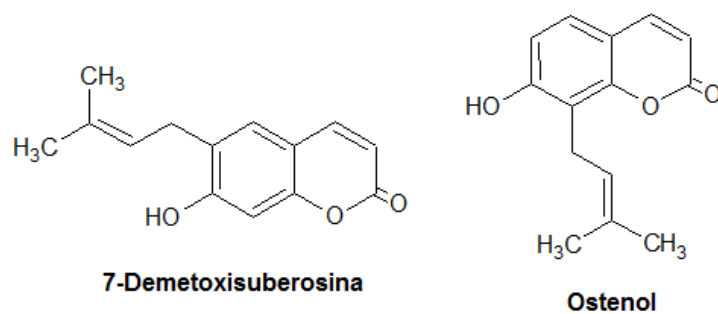


Figura 4-67: Estrutura as cumarinas preniladas de massa neutra 230,0942 Da referente aom/z229,0867.

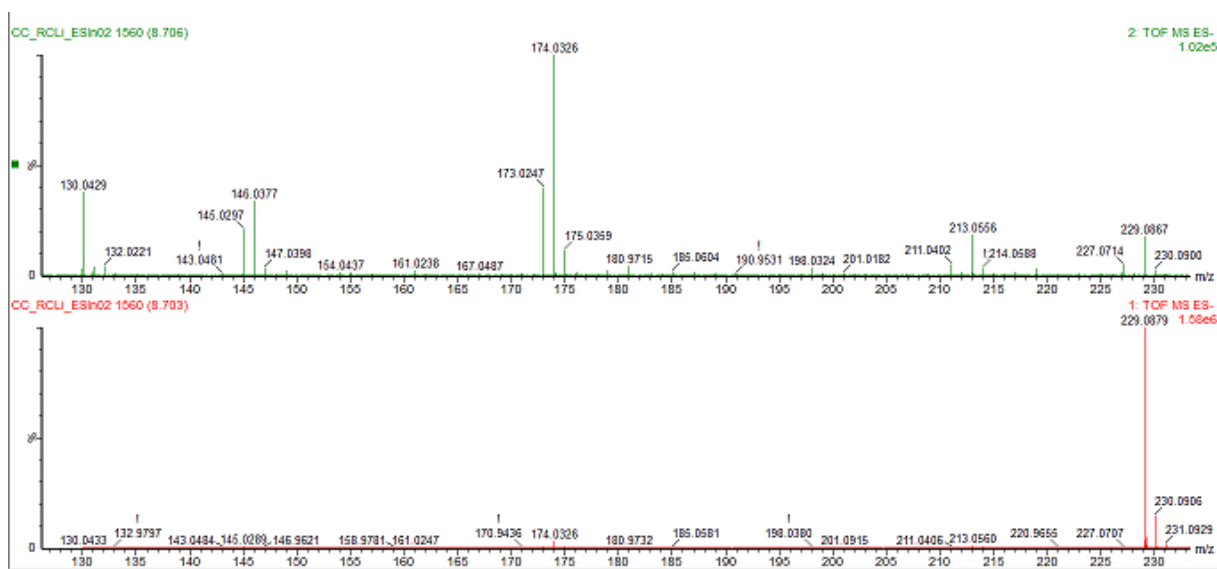
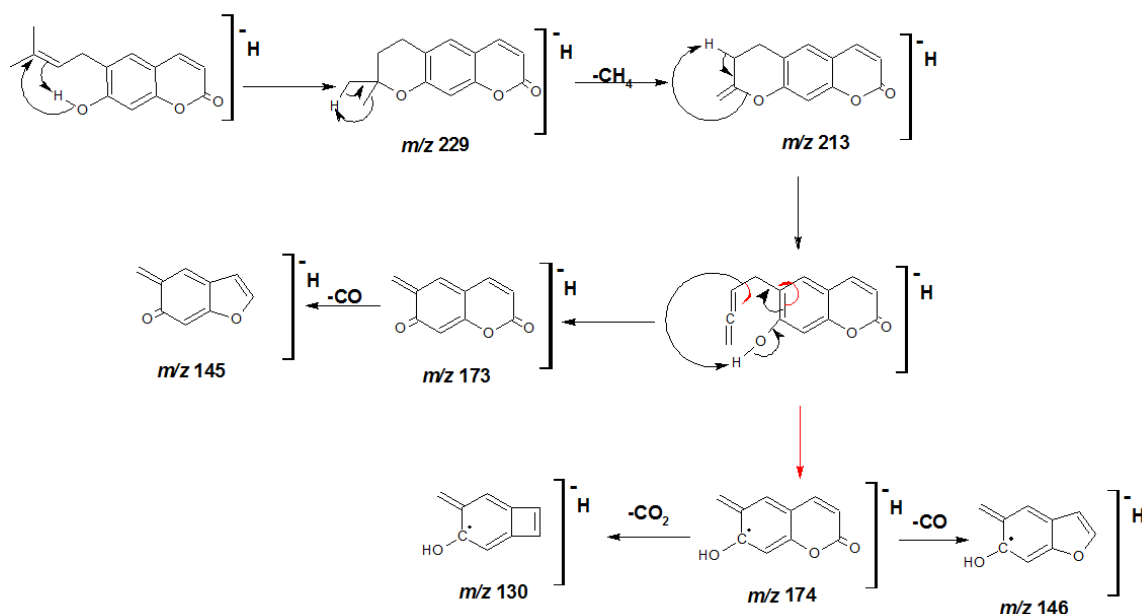


Figura 4-68: Espectro de massas para o íon m/z 229,0867 de t_r de 8,70 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-22: Proposta de fragmentação para a 7-Demetóxisuberosina(ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **8** de t_r de 9,34 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 338,1035, o qual mostrou uma diferença de massa de -0,29 ppm para os alcaloides acridônicos citracridona III e álcool 5-hidroxinoracrinocina (**Figura 4-69**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-70**) foi observado o pico base m/z 308, oriundo da perda de O que só pode ocorrer no alcaloide álcool 5-hidroxinoracrinocina (**Esquema 4-23**). Os picos m/z 309 e m/z 227 que são provenientes da perda de HCNH_2 e HCN , respectivamente, confirmando a proposta do alcaloide acridônico N-metilado. Esta banda, ou seja, álcool 5-hidroxinoracrinocina foi detectada 4,89 vezes mais nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-6**).

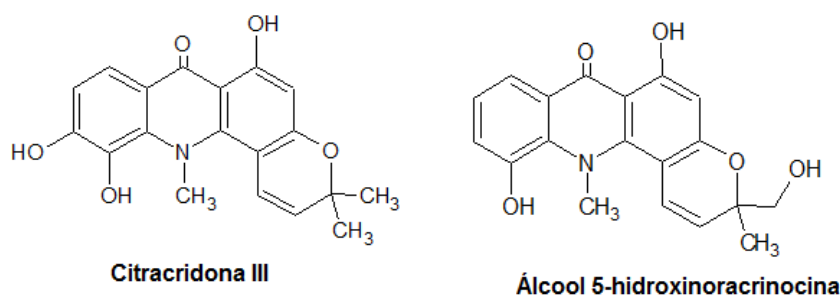


Figura 4-69: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 339,1106 Da referente a m/z 338,1035.

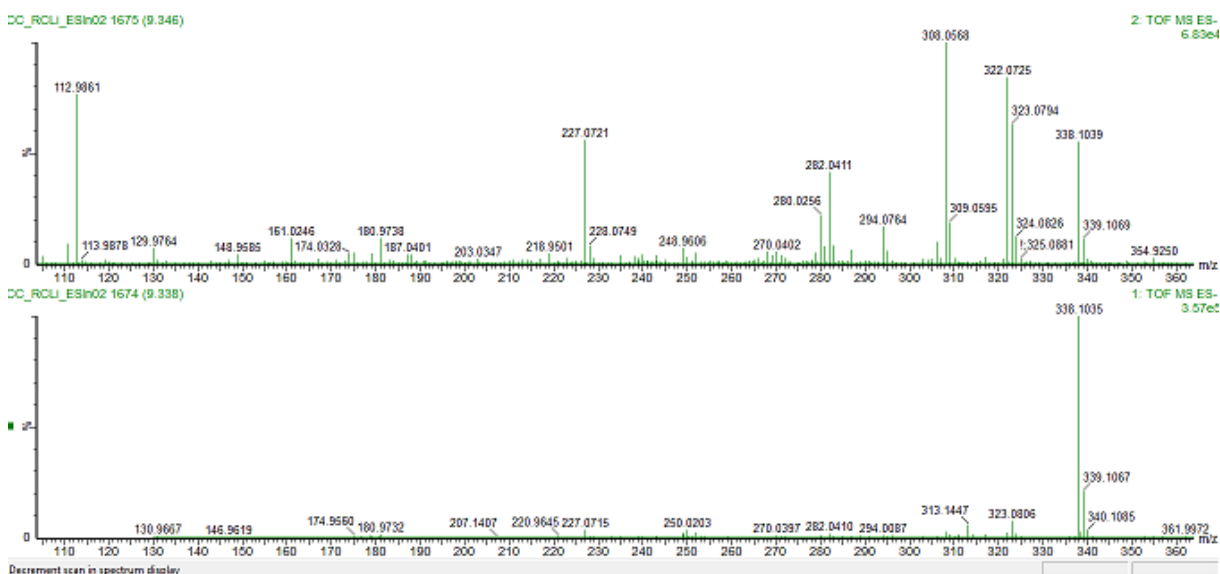
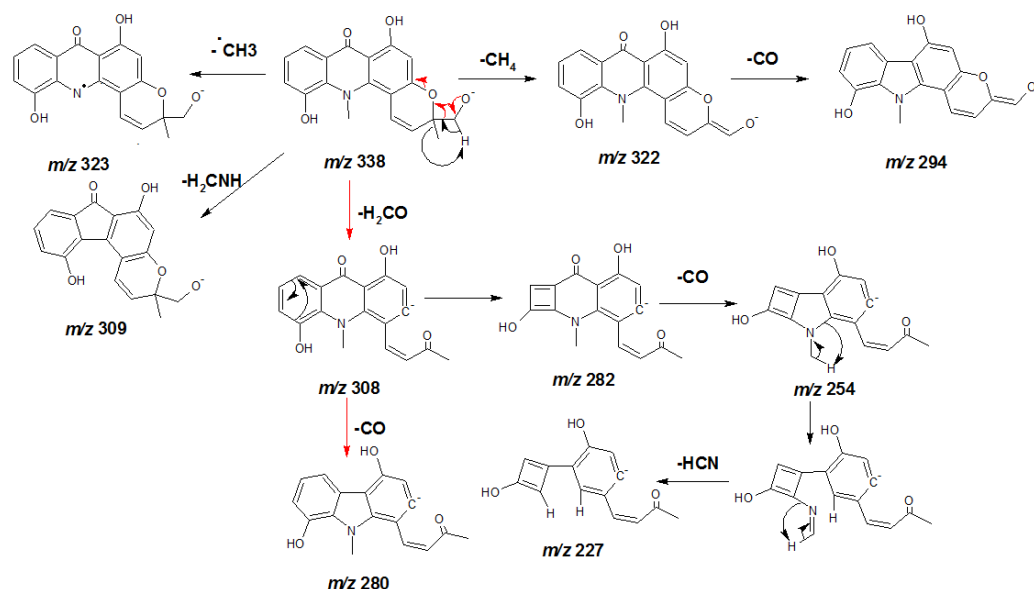
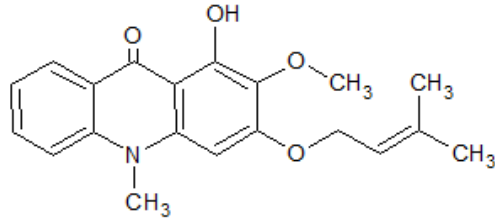


Figura 4-70: Espectro de massas para o íon m/z 338,1035 de t_r de 9,34 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-23: Proposta de fragmentação para o álcool 5-hidroxinoracrinocina(ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **11** de t_r de 10,44min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 339,1470, para o qual não foi encontrado metabólito de massa próxima no banco de dados feito para esse trabalho, contudo uma busca no banco METLIN foi encontrado para esse íon o alcaloide acridônico evoprenina, no qual apresentou um erro de 0,59 ppm entre a massa experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-71**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-72**) foi observado o pico base m/z 303, oriundo da perda de metanal. Os picos m/z 309 e m/z 311 provenientes da perda de HCNH_2 e HCN (**Esquema 4-24**), respectivamente reforçam a proposta de alcaloide. A evopronina foi detectada nas raízes de *C. sinensise* não foi ainda relatada na literatura em espécies de *Citrus*, há relato deste em cascas da espécie *Euodia alata*(\equiv *Evodia alata*)(DIMENT; RITCHIE; TAYLOR, 1967), uma espécie pertencente à família Rutaceae. Apesar de nunca ter sido relatado no gênero *Citrus*, esse alcaloide é quimiotaxonomicamente possível de ser biossintetizados pelo gênero, o qual é proveniente do ácido antranílico, precursor dos alcaloides acridônicos, comum em *Citrus*.



Evoprenina

Figura 4-71: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 339,1470 Da referente aom/z 338,1396.

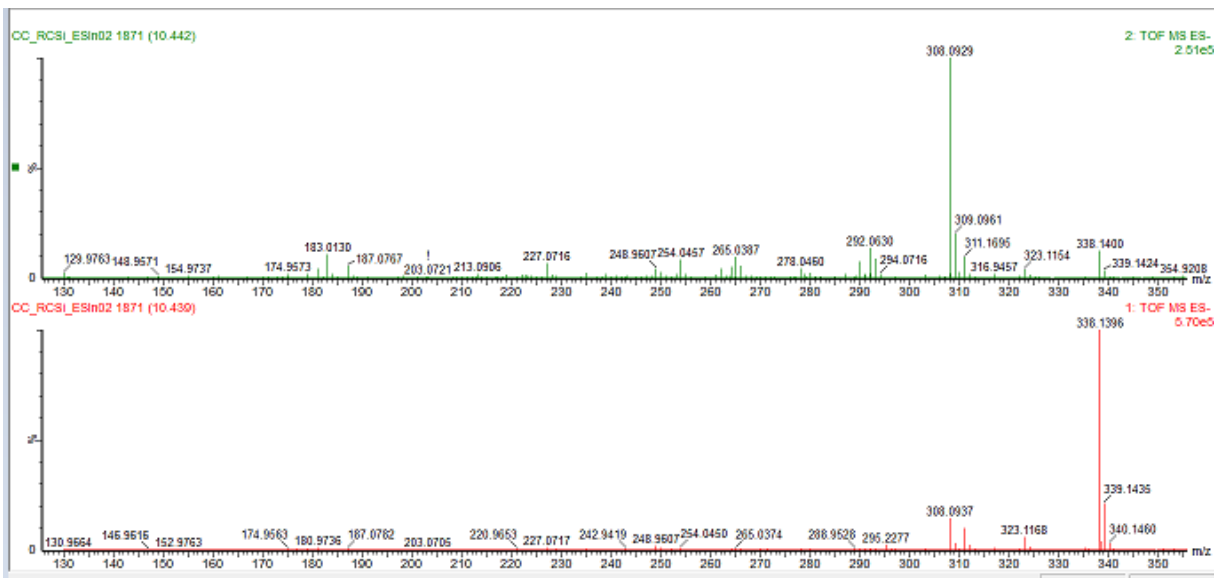
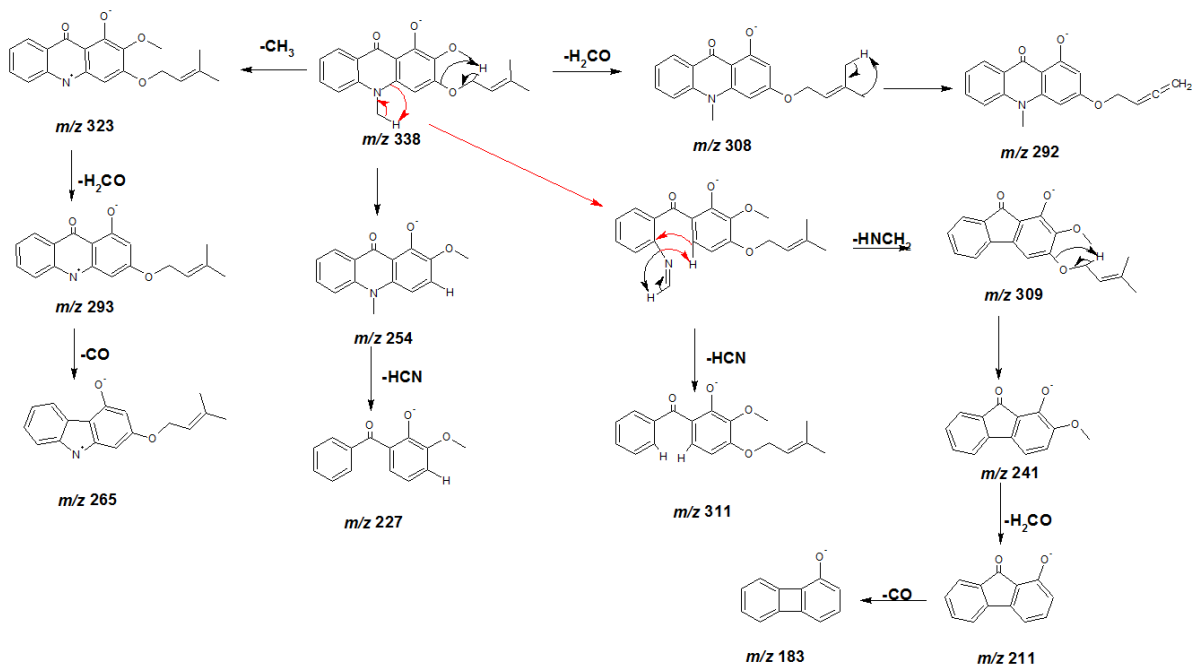
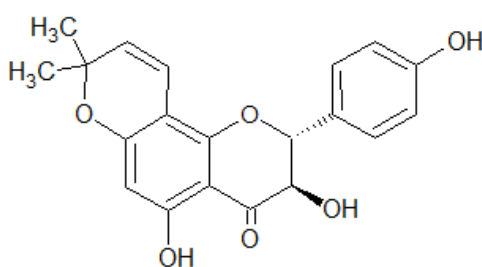


Figura 4-72: Espectro de massas para o íon m/z 338,1396 de t_r de 10,44min. encontrado nas raízes de *C.sinensis* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-24: Proposta de fragmentação para a evoprenina(ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **12** de t_r de 10,46min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 335,0919, o qual mostrou ser referente a uma perda prévia de H_2O da molécula, o que foi confirmado pela presença do pico m/z 353 de baixa intensidade. Na busca no banco de dados feito para esse trabalho esse pico foi relacionado com o flavananol yukovanol que apresentou uma diferença de massa de -1,55 pp entre a massa experimental $[M-H_2O-H]^-$ observada e a teórica calculada (**Figura 4-73**). A proposição de que o pico m/z 335,0919 era oriundo de uma prévia perda de água foi embasada pela presença do pico m/z 311, tanto no espectro de íon molecular quanto dos íons produtos (**Figura 4-74**), o que se forma pela perda da unidade isopropil (42 Da) após a abertura do anel pirano e restando a hidroxila em C-3. Os picos característicos da RDA foram observados somente após a perda de água, sendo eles m/z 217 e m/z 117. O pico de m/z 217 confirmou a posição do anel pirânico no anel flavônico A, sendo também corroborada essa proposta pela perda de CO_2 levando ao fragmento m/z 173 (**Esquema 4-25** e **Esquema 4-26**). Esse foi detectado apenas nas raízes *C. limoniae* vale ressaltar que o laboratório de PN já isolou esse flavonoide em sua forma de flavona, o que levanta ao questionamento se o que foi isolado antes pelo grupo não seria um artefato formado durante o processo de extração.



Yukovanol

Figura 4-73: Estrutura do flavananol de massa neutra 354,1103 Da referente ao $[M-H_2O-H]^-$ m/z 335,0919.

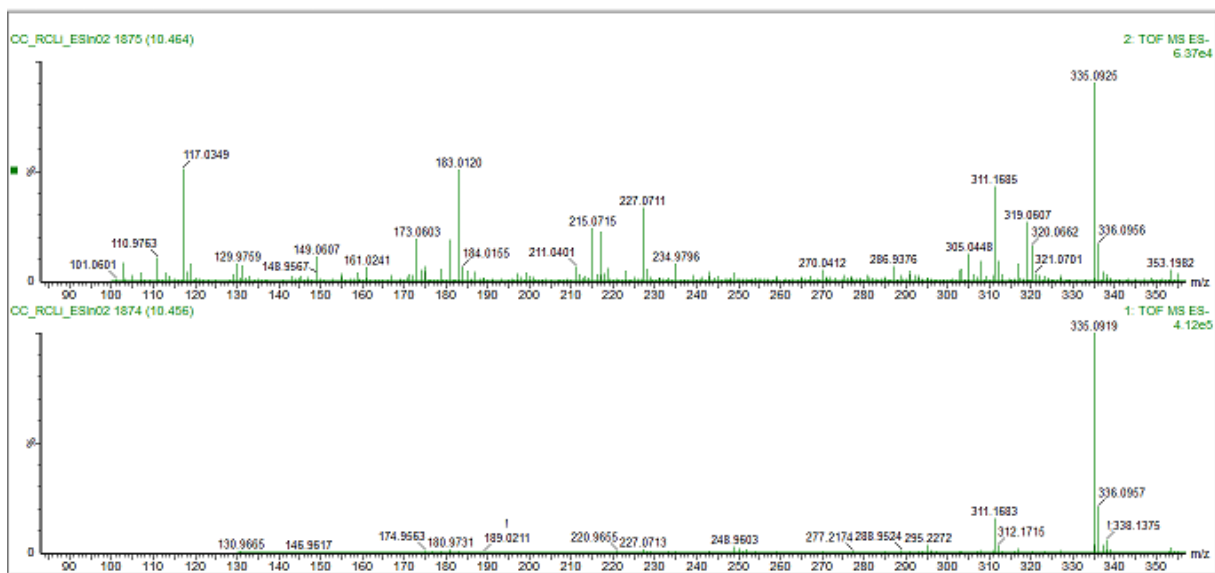
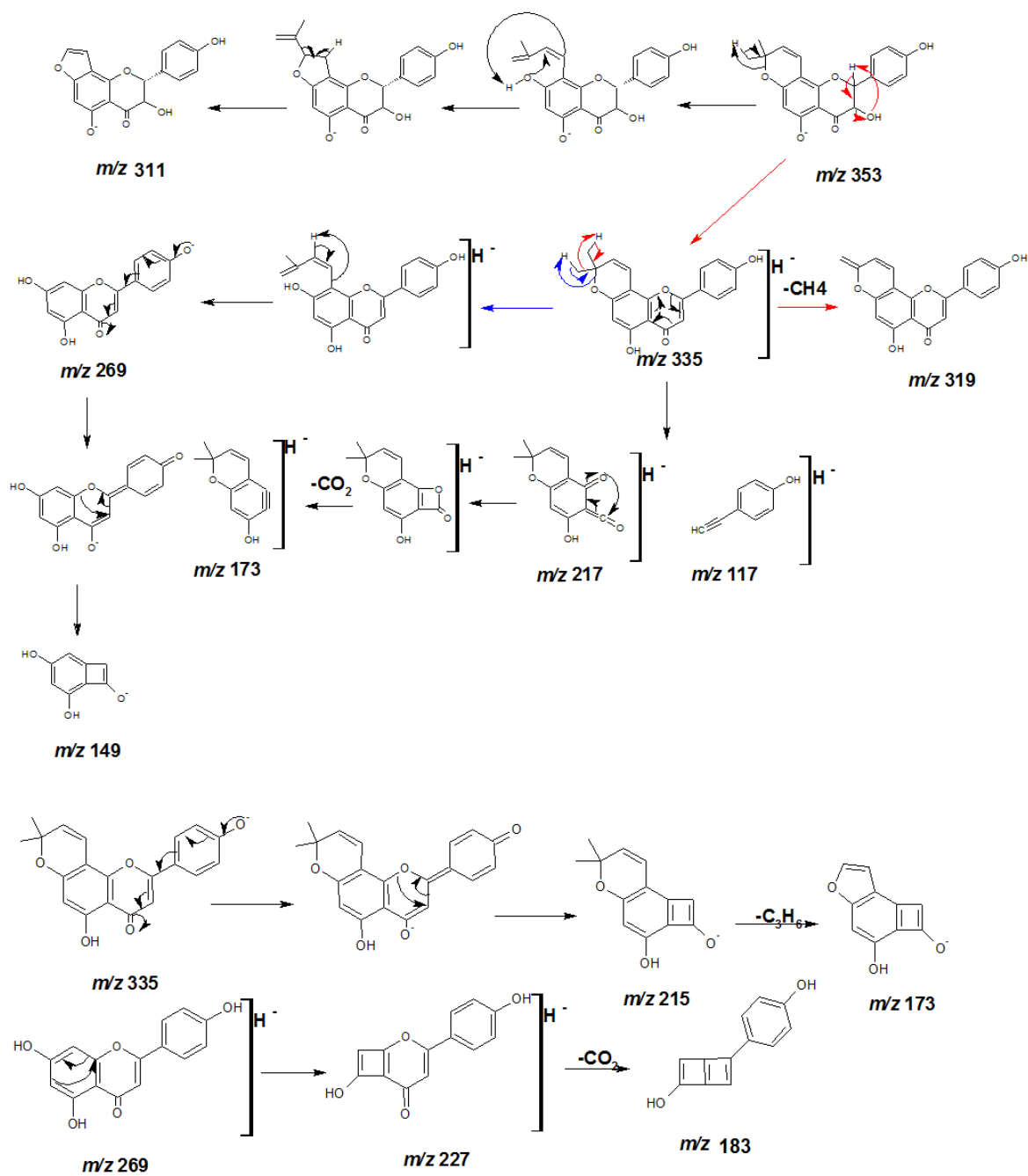
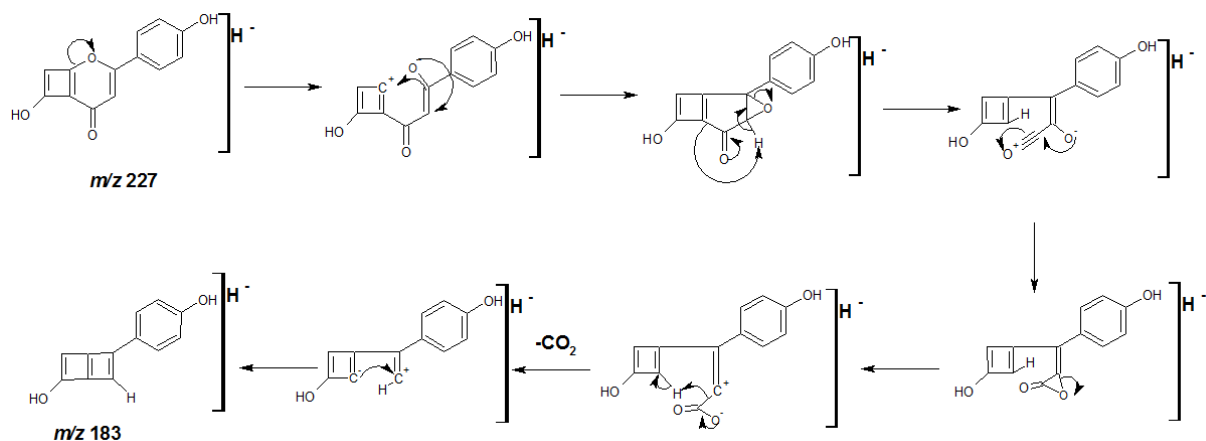


Figura 4-74: Espectro de massas para o íon m/z 335,0919 de t_r de 10,46 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

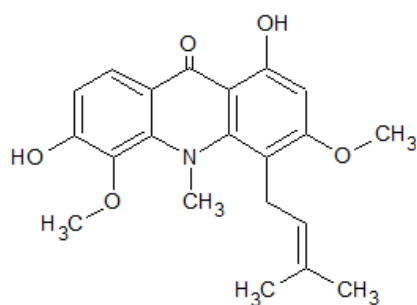


Esquema 4-25: Proposta de fragmentação para o yukovanol(ESI, modo negativo)



Esquema 4-26: Detalhes do mecanismo da perda de CO₂ a partir do pico *m/z*227

A análise da banda cromatográfica **13** de *t_r* de 10,57min. mostrou o íon pseudomolecular *m/z*368,1508, o qual mostrou uma diferença de massa de – 1,08 ppm para um único alcaloide acridônico: grandisinina (**Figura 4-75**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-76**) foi observado o pico base *m/z*338 oriundo da perda de metanal. O pico *m/z*399 que é proveniente da perda de HCNH₂ (comumente observado em N-Me) e seus subsequentes fragmentos (**Esquema 4-27**) reforçam a proposta do alcaloide grandisinina, o qual foi detectado somente nas raízes de *C. sinensis* (**Tabela 4-6**).



Grandisinina

Figura 4-75: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 369,1576 Da referente a *m/z*368,1508.

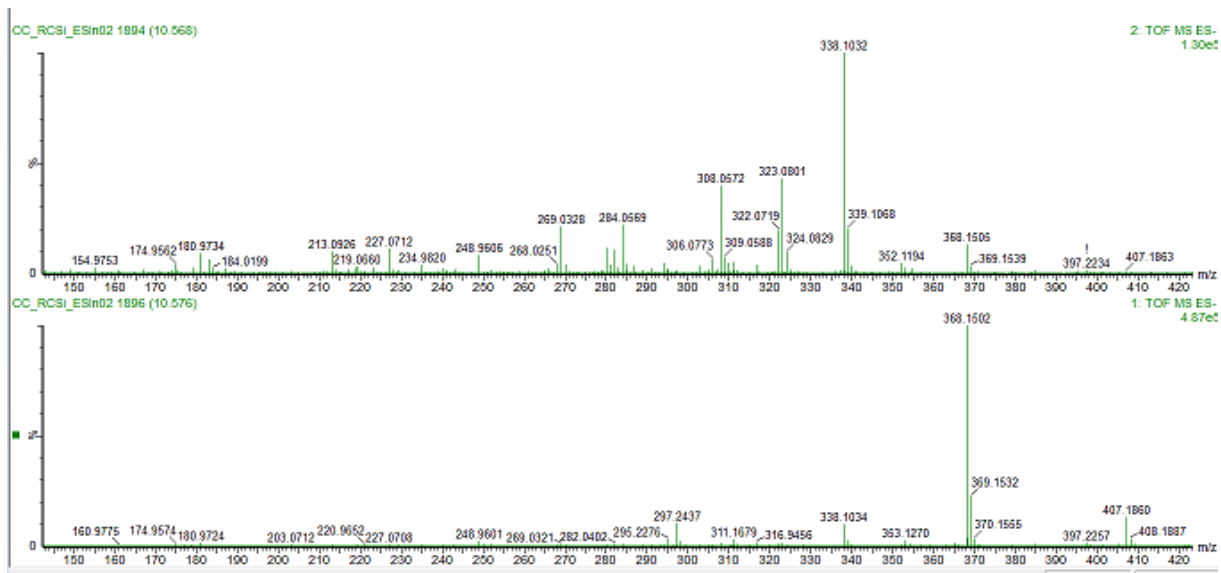
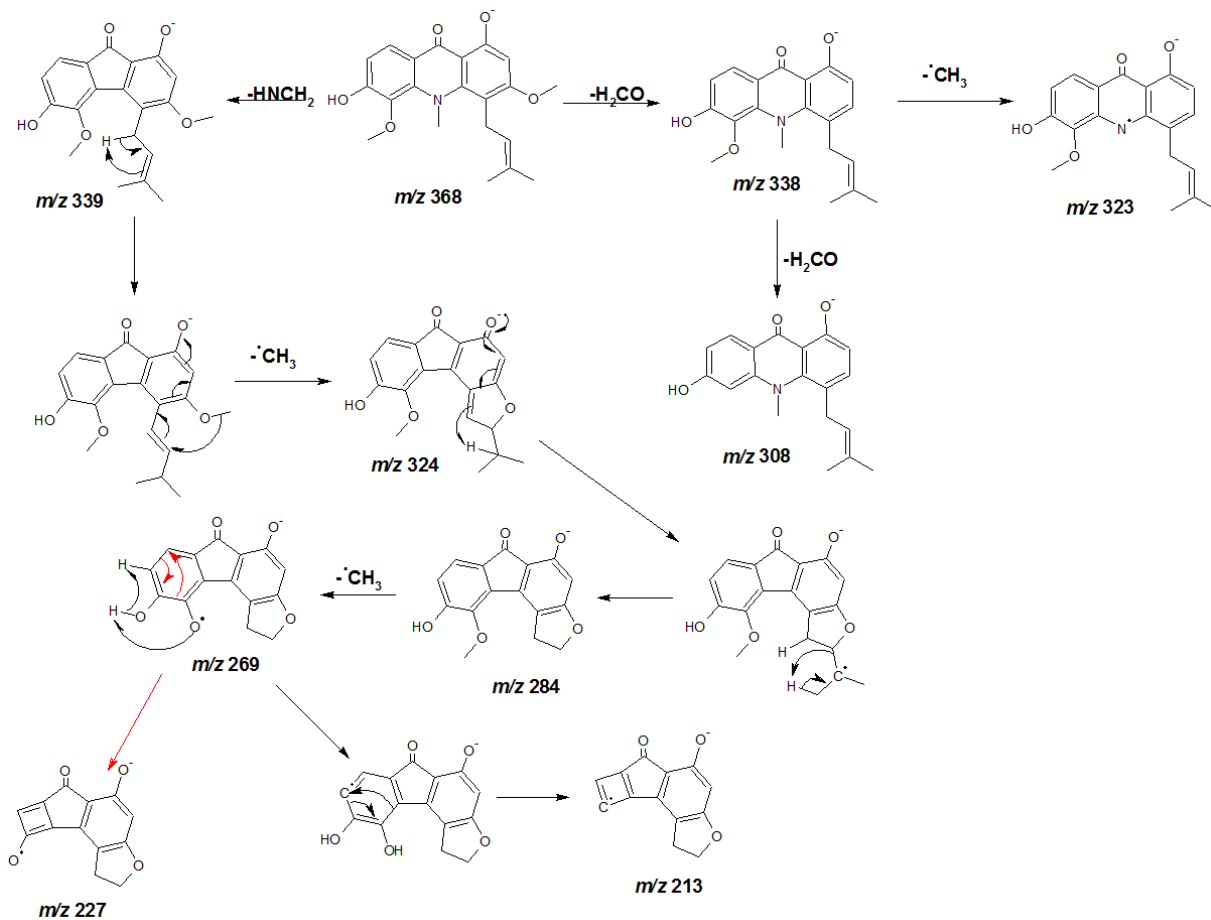
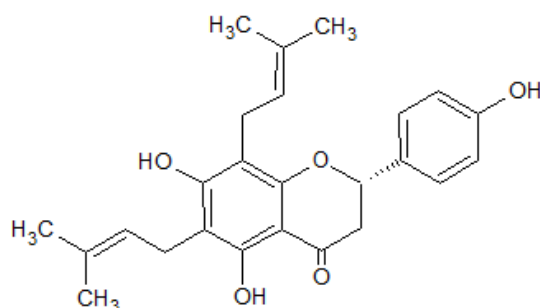


Figura 4-76: Espectro de massas para o íon m/z 368,1508 de t_r de 10,57 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-27: Proposta de fragmentação para a grandisinina(ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **14** de t_r de 10,75min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 407,1866, o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado à flavanona lanchocarpol A, a qual mostra uma diferença de massa de $-0,49$ ppm entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-77**). No espectro de íons produtos o pico base m/z 117 que refere-se com a fragmentação via RDA, o qual é constituído pelo anel B possuindo um único substituinte, o grupo hidroxila. O segundo fragmento via RDA, m/z 287 confirmou a posição dos dois grupos prenils e duas hidroxilas no anel flavônico A. A posição dos grupos prenils no anel A foi corroborado ainda pela presença dos picos menos intensos de m/z 219, m/z 201 e m/z 133 formados como mostrado no **Esquema 4-28**. Esse flavanona apresentou uma produção 7,02 vezes maior nas raízes de *C. limonia* (**Tabela 4-6**). O laboratório de PN da UFSCar isolou um derivado de lanchocarpol A, a eritrilsenegalona (Página 19), em que o prenil da na posição 8 se encontra ciclizado com a hidroxila na posição 7 formando uma anel furânico.



Lanchocarpol A

Figura 4-77: Estrutura da flavanona de massa neutra 408,1936 Da referente a m/z 407,1866.

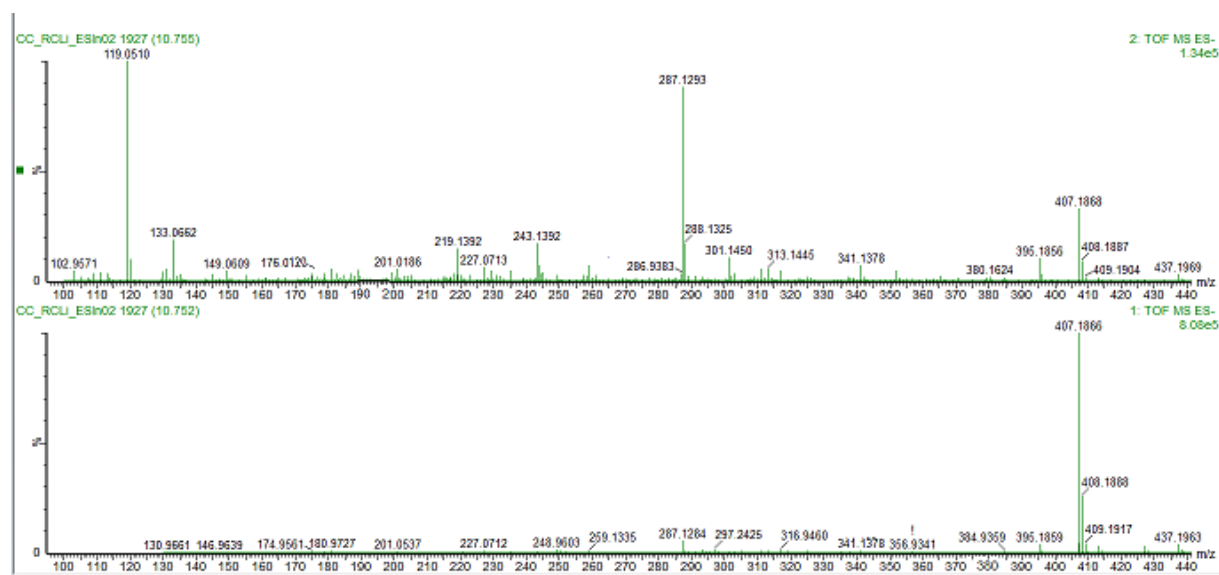
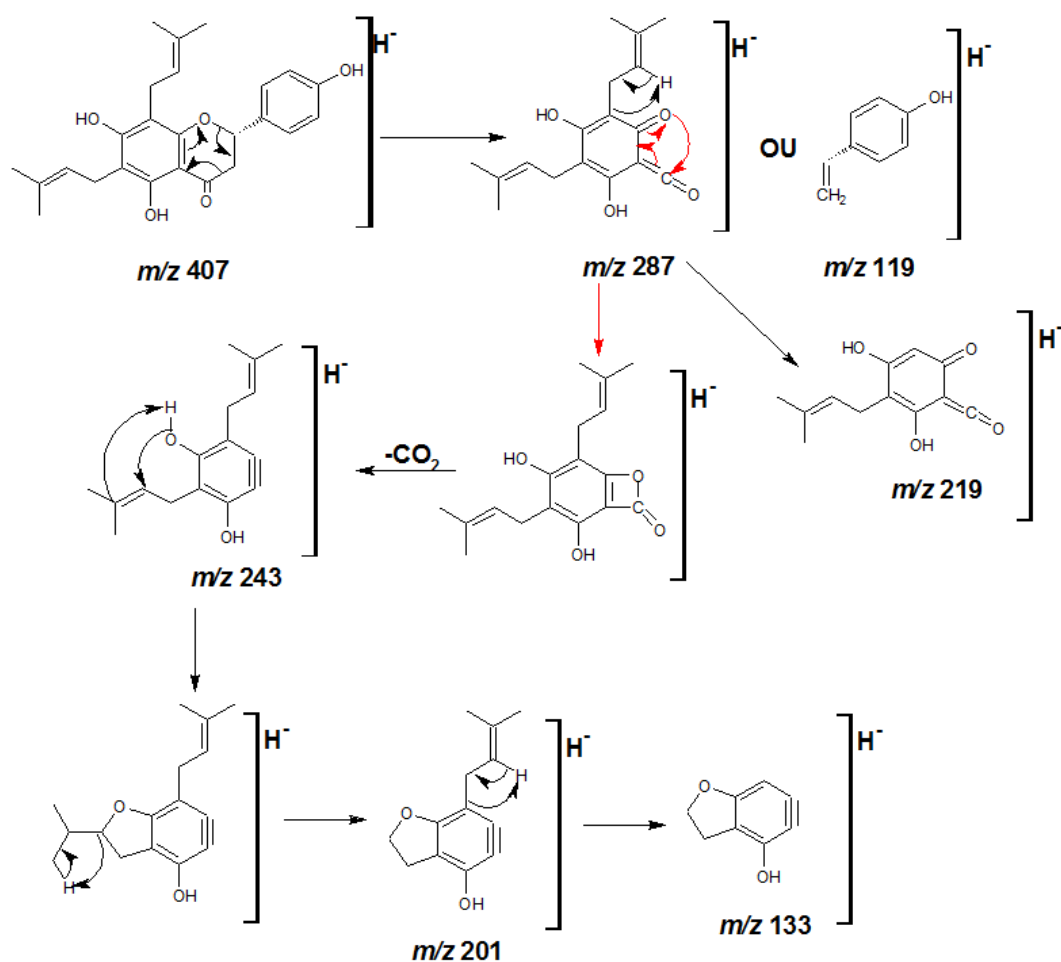


Figura 4-78: Espectro de massas para o íon m/z 407,1866 de t_r de 10,75 min. encontrado nas raízes de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-28: Proposta de fragmentação para o lanchocarpol A (ESI, modo negativo)

As bandas **3**, **6** e **9** não foram identificadas até o dado momento porque as substâncias com diferença de massa teórica e experimental pequena encontradas nos bancos de dados da literatura não correspondiam ao perfil quimiotaxonômico de espécies da família Rutaceae.

Tabela 4-6: Prováveis metabólitos secundários das raízes do *Citrus* evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (*ESI* negativo).

Banda	t _r (min)	[M-H] ⁺	Substância	Maior Produção	Varição
1	6,01	247,0977	Cafeoato de prenila	<i>C. sinensis</i>	DUE*
2	6,94	316,0819	Citruscridona ou Citramina	<i>C. limonia</i>	3,66
3	7,81	988,2899	Desconhecida	<i>C. limonia</i>	2,69
4	8,14	242,1187	Lemobilina	<i>C. sinensis</i>	DUE*
5	8,21	300,0878	Grandisina I	<i>C. limonia</i>	3,17
6	8,55	192,1017	Desconhecida	<i>C. limonia</i>	3,80
7	8,70	229,0867	Ostenol ou 7-Demetoxisuberosina	<i>C. limonia</i>	2,94
8	9,34	338,1035	Álcool 5-hidróxinoracrinocina	<i>C. limonia</i>	4,89
9	9,49	339,11346	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	DUE*
10	10,15	311,1291	Nordentatina	<i>C. limonia</i>	2,2
11	10,44	338,1396	Evoprenina	<i>C. sinensis</i>	DUE*
12	10,46	335,0919**	Yukovanol	<i>C. limonia</i>	DUE*
13	10,57	368,1508	Grandisinina	<i>C. sinensis</i>	DUE*
14	10,75	407,1866	Lanchocarpol A	<i>C. limonia</i>	7,02
15	11,47	379,1911	Clausarina	<i>C. limonia</i>	1,19

*DUE – Detectado em uma Única Espécie

** - Pico molecular [M-H₂O-H]⁺

4.3.6.2 Análises dos caules dos pés-francos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-79) no modo negativo de ionização dos caules dos pés francos foi possível evidenciar como mais significativas 13 bandas cromatográficas (Figura 4-80). As bandas cromatográficas 3, 4, 6, 8, 9, 11 e 12 são as mesmas encontradas nas análises feitas entre as raízes dos pés francos no modo positivo e negativo, onde foram discutidos na seção 4.3.5 e 4.3.6 (páginas 65 e 103) cujos metabólitos secundários encontram-se na Tabela 4-7.

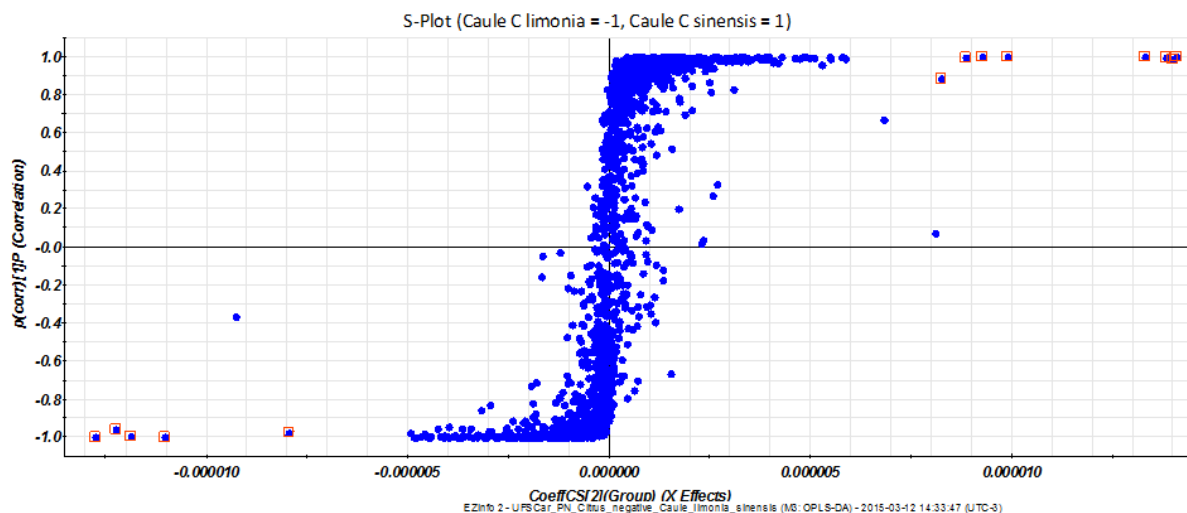


Figura 4-79: Gráfico *S-Plot* dos caules de *C. sinensis* e *C. limonia* no modo negativo de ionização.

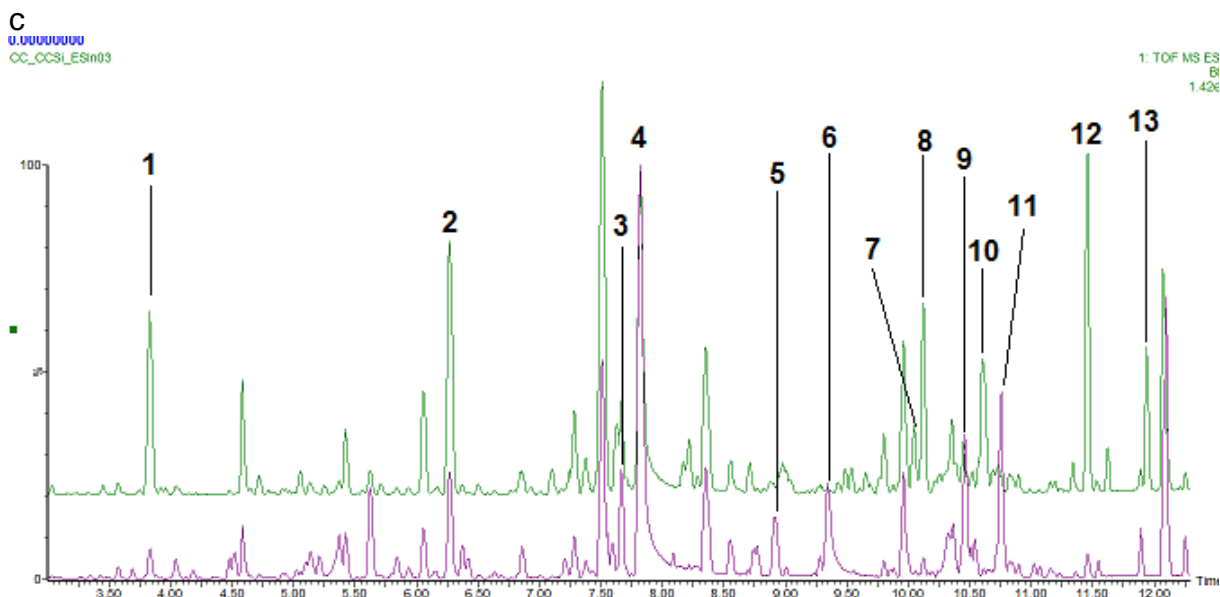


Figura 4-80: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes dos caules.

A análise da banda cromatográfica 1 de t_r de 3,83min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 593,1506, o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado às flavonas glicosiladas vicenina-2; apigenina-3,6-di-C-glucosídeo; apigenina-3,8-di-C-glucosídeo; luteolina-7-O-rutinosídeo; luteolina-7-O-neohesperidosídeo; kaempferol-3-O-rutinosídeo e kaempferol-7-O-rutinosídeo, as quais apresentaram uma diferença de massa de 1,11 ppm entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-81**). No espectro do íon molecular e no de íons produtos (**Figura 4-82**) foram observadas perdas de 120 e 90 Da (**Esquema 4-29**) típicas de flavonoides C-glicosilados. Estes normalmente não

sofrem a perda direta da unidade de açúcar como os flavonoides (**Figura 4-83**). Através dessa característica de fragmentação foi descartada a possibilidade de serem os flavonoides O-glicosilados para a banda **1**. Contudo, não foi possível propor entre os flavonoides C-glicosilados qual corresponderia à banda **1**, pois não foi observado fragmentos de RDA que pudesse diferenciar a vicenina-2 das apigeninas. Além das fragmentações características de C-glicosil, foram observados fragmentos formados pela perda de CO (**Esquema 4-29**). A produção de um desses flavonoides foi 4,69 vezes maiores nos caules de *C. sinensis* (**Tabela 4-7**).

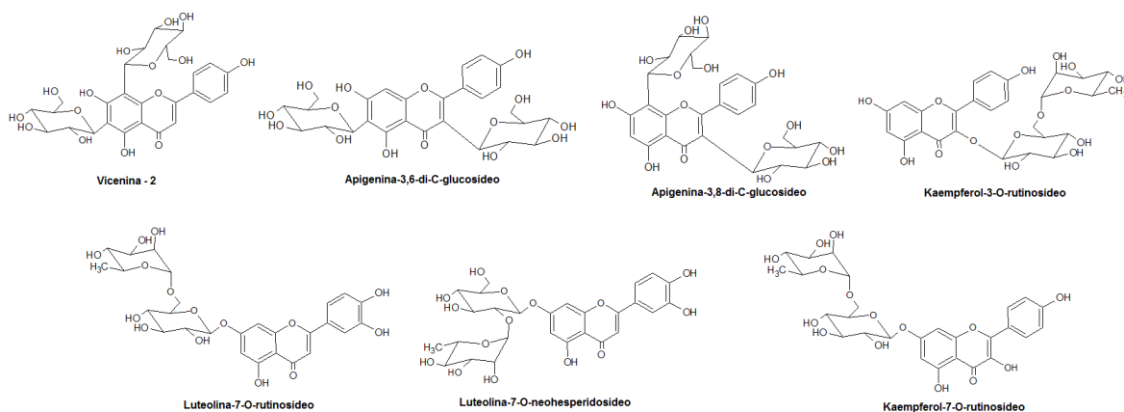


Figura 4-81: Estrutura das flavonas glicosiladas de massa neutra 594,1584 Da referente a m/z 593,1506.

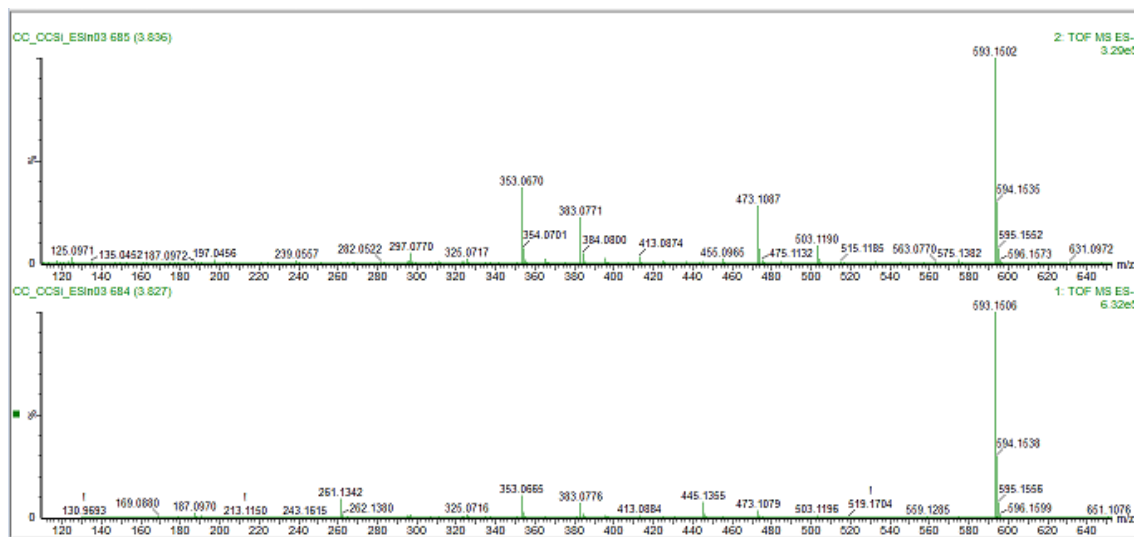


Figura 4-82: Espectro de massas para o íon m/z 593,1506 de t_r de 3,83min. encontrado nos caules de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

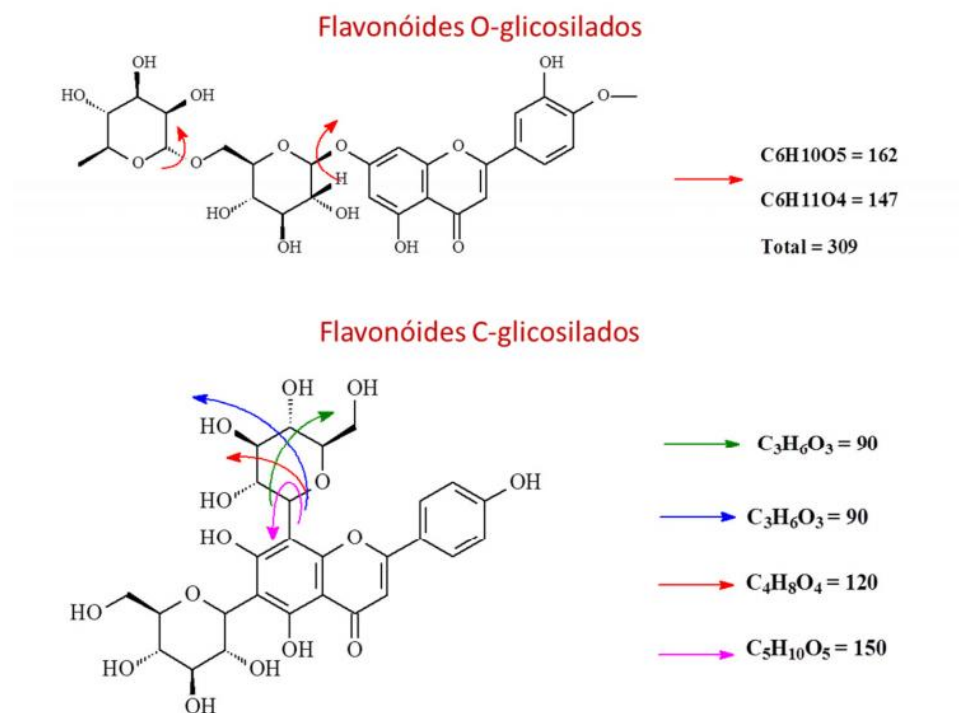
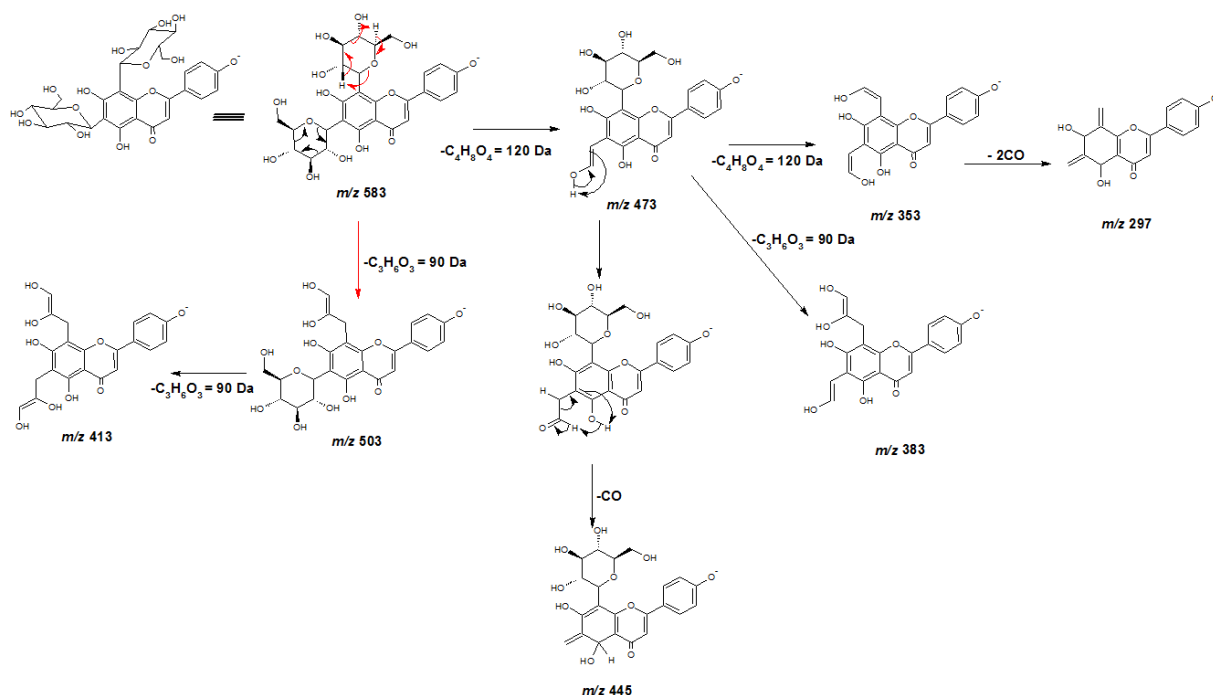


Figura 4-83 Fragmentações características de flavonoides C-glicosilados e O-glicosilados (BELLETE, 2014).



Esquema 4-29 Proposta de fragmentação para a vicenina-2 (ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **2** de t_r de 6,27min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 245,0819, o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado às cumarinas hassanona, 7-demetilisotamarina e 7-hidróxi-5-prenilóxicumarina, as quais apresentaram uma diferença de massa de 0,40 ppm

entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-84**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-85**) não foi observado picos referentes a perda de 30 Da (metanal), oriundo de uma metoxila, oriundos do fragmento metanal, desta maneira foi descartada a possibilidade de ser a cumarina hassanona. A presença do pico m/z 227 oriundo da perda de água levou a propor a identidade da banda 2 como sendo a cumarina 7-demetilisotamarina, pois esta é a única com possibilidade de perder 18Da inicialmente, como pode ser visto no(**Esquema 4-30**). Esta cumarina apresentou uma produção 1,35vezes maior nas raízes de *C.sinensis*(**Tabela 4-7**).

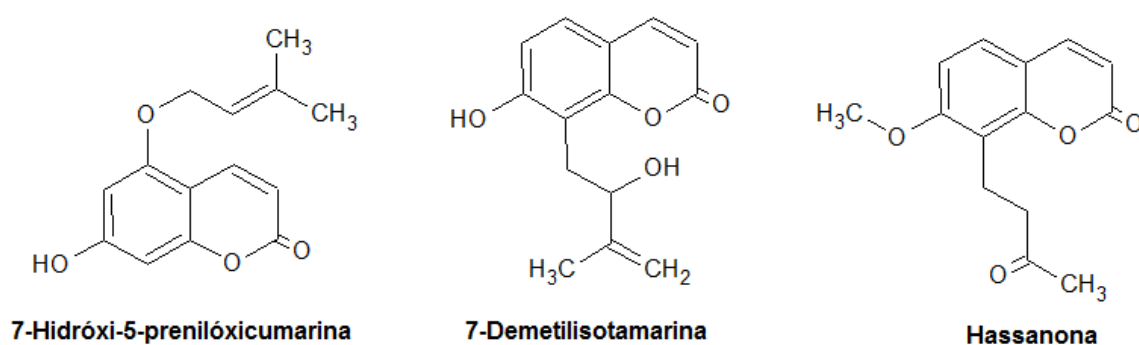


Figura 4-84: Estrutura da cumarina de massa neutra 246,0892 Da referente aom/z245,0819.

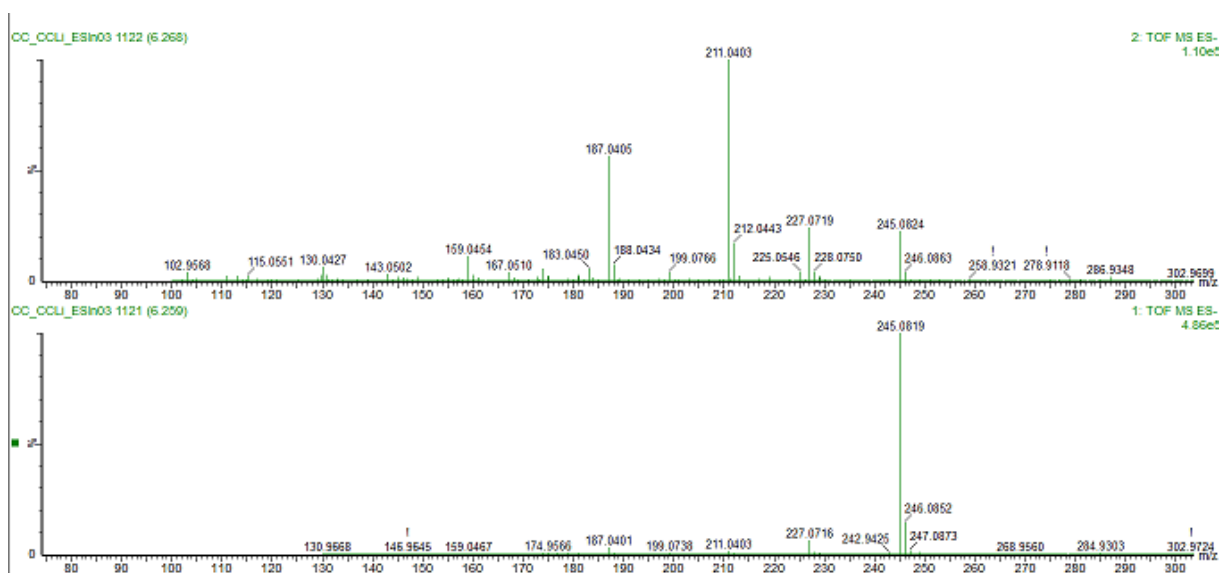
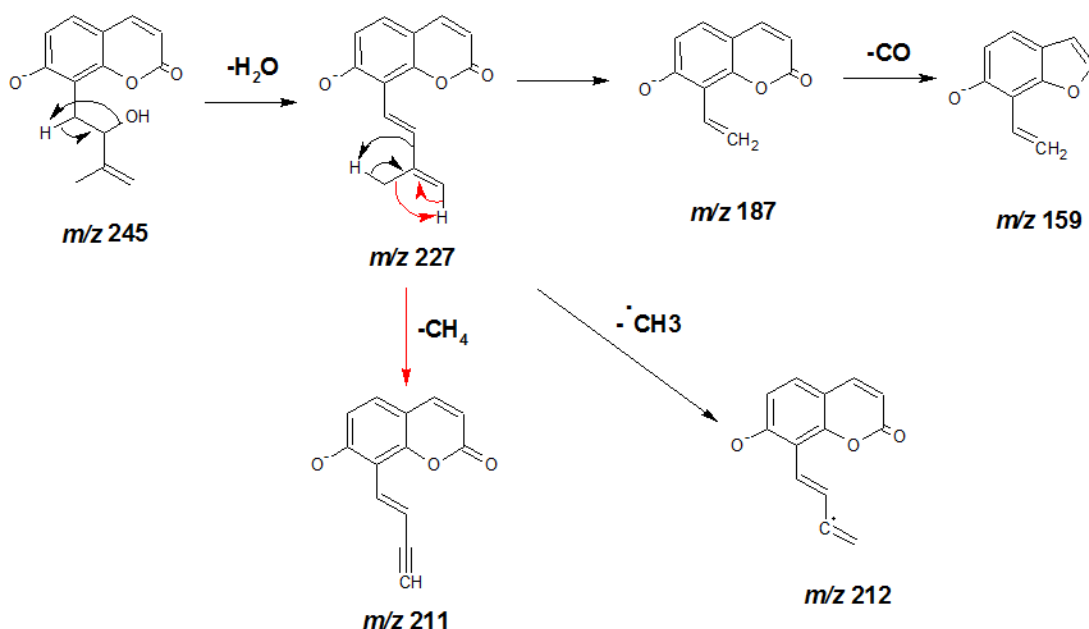
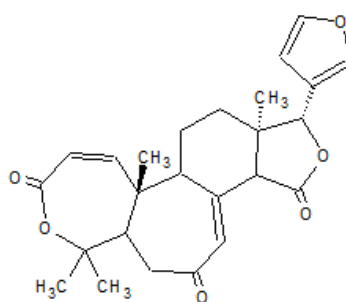


Figura 4-85: Espectro de massas para o íon m/z 245,0819 de t_r de 6,27 min. encontrado nos caules de *C. limonia* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-30 Proposta de fragmentação para a 7-demetilisotamarina(ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **7** de t_r de 10,05min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 423,1809, o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado ao único limonoide citriolídeo-A, o qual mostra uma diferença de massa de 0,95 ppm entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-86**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-87**) dessa banda cromatográfica não forneceu muitas informações sobre a molécula devido falta de fragmentos. Foram observados picos de intensidade muito baixa pra serem atribuídos de forma segura provenientes do íon molecular. Assim, até o dado momento sugere-se para a banda **7** o limonoide citriolídeo-A, o qual foi detectado somente nos caules de *C. sinensis* (**Tabela 4-7**).



Citriolídeo A

Figura 4-86 Estrutura do limonoide de massa neutra 424,1885 Da referente a m/z 423,1809.

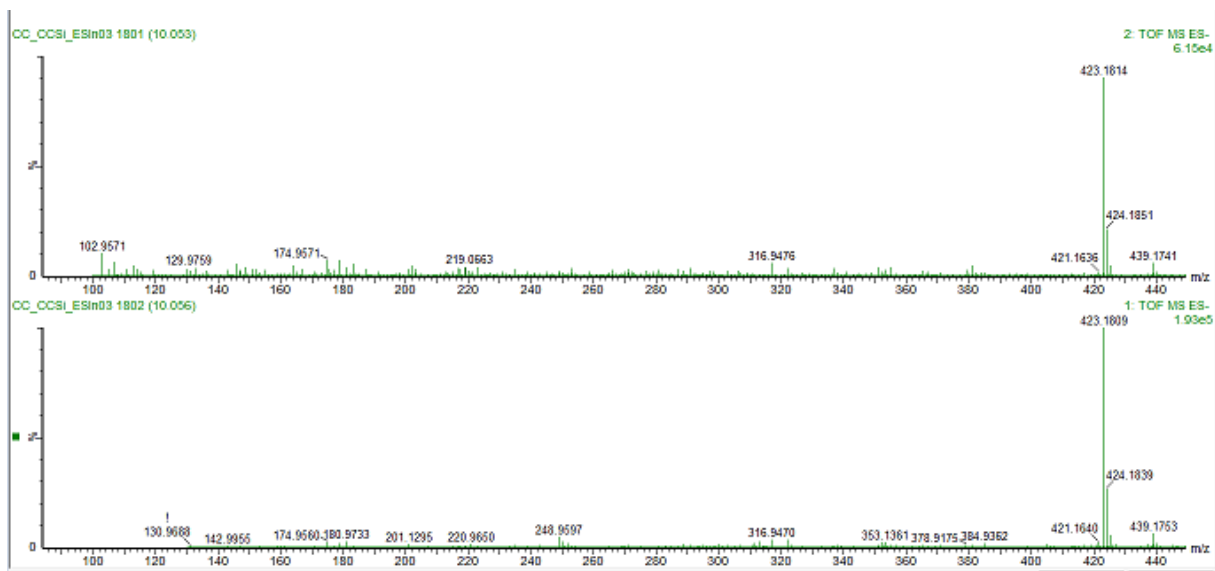


Figura 4-87: Espectro de massas para o íon m/z 423,1809 de t_r de 10,05min. encontrado nos caules de *C. sinensis* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

Para as bandas **5**, e **13** não foi encontrada nenhuma proposta no banco de dados correspondentes às suas respectivas massas de m/z 820,4706 e m/z 946,6685. A banda **10** possui a mesma massa acurada do Flavonoide yukovanol, o qual foi discutido anteriormente, o que indica que ser um isômero deste, entretanto seu padrão de fragmentação não se assemelha ao deste flavonoide. No banco de dados da literatura foi encontrada algumas estruturas de lignanas que poderiam ser correlacionadas com essa banda, contudo até o momento as fragmentações possíveis para uma lignana não foram encontradas no espectro de íon produtos.

Tabela 4-7: Prováveis metabólitos secundários dos caules do *Citrus* evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (*ESI* negativo).

Banda	t _r (min)	[M-H] ⁻	Substância	Maior Produção	Varição
1	3,83	593,1506	FCG ^{***}	<i>C. sinensis</i>	4,69
2	6,27	245,0819	7-Demetilisotamarina	<i>C. sinensis</i>	1,35
3	7,62	764,4077	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	DUE*
4	7,81	988,2899	Desconhecida	<i>C. limonia</i>	2,22
5	8,91	820.4706	Desconhecida	<i>C. limonia</i>	DUE*
6	9,34	338,1035	Álcool 5-hidróxinoracrinocina	<i>C. limonia</i>	DUE*
7	10,05	423,1809	Citriolídeo-A	<i>C. sinensis</i>	DUE*
8	10,15	311,1291	Nordentatina	<i>C. sinensis</i>	5,52
9	10,46	335,0919 ^{**}	Yukovanol	<i>C. limonia</i>	DUE*
10	10,60	407,1862	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	DUE*
11	10,75	407,1866	Lanchocarpol A	<i>C. limonia</i>	DUE*
12	11,47	379,1911	Clausarina	<i>C. sinensis</i>	9,5
13	11,94	946,6685	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	DUE*

*DUE – Detectado em uma Única Espécie

** - Pico molecular [M-H₂O-H]⁻

FCG^{***}(Flavonoide C-Glicosilado) - Vicenina-2; Apigenina-3,6-di-C-glucosídeo; Apigenina-3,8-di-C-glucosídeo

4.3.6.3 Análises das folhas dos pés-francos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot(Figura 4-88) no modo negativo de ionização das folhas dos pés francos foi possível evidenciar como mais significativas 9 bandas cromatográficas(Figura 4-89). A banda cromatográficas 1, devido ao maior numero de fragmentos obtidos no modo positivo de ionização foi discutida na seção 4.3.10 (páginas 156) e a substância proposta se encontra naTabela 4-8.

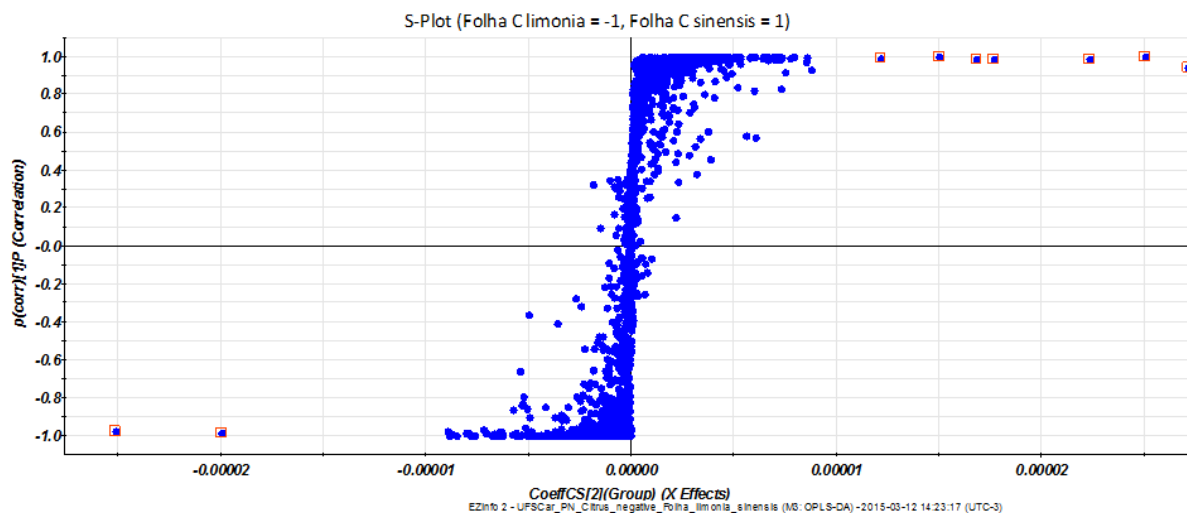


Figura 4-88: Gráfico *S-Plot* das folhas de *C. sinensis* e *C. limonia* no modo negativo de ionização.

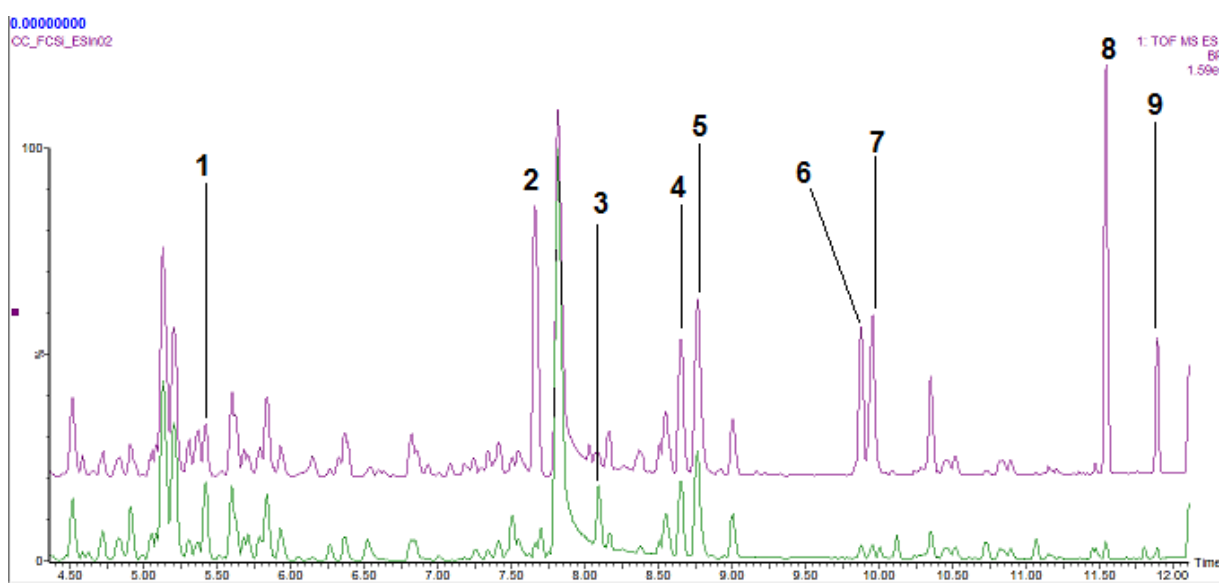


Figura 4-89: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes das folhas.

A análise da banda cromatográfica **2** de t_r de 7,67 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 531,2225, o qual busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado aos limonoides ácido nomilínico, citrusina e nomilinoato, os quais possuem uma diferença de massa de ppm entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-90**). O limonoide nomilinoato foi descartado como sendo referente à banda **2**, porque se trata de uma molécula instável e seu processo de extração e separação utiliza protocolos com uso de soluções tamponadas com fosfato de potássio (pH=8), afim de evitar sua ciclização no anel A (ZUKAS et al, 2004). No espectro de íons produtos (**Figura 4-91**) dessa banda

cromatográfica foi observado apenas perdas de acetona (58 Da), CO₂ (44 Da), CH₃COOH (60 Da) e de 42 Da que devido à estrutura da molécula poderia ser CH₂=C=CH₂ ou CH₂=CO, os quais podem ocorrer em qualquer uma das moléculas encontradas no banco de dados para esse pseudo íon molecular (**Esquema 4-31**). A produção de um desses metabólito referente a banda **2** foi 10,11 vezes maior nas folhas de *C. sinensis* (**Tabela 4-8**).

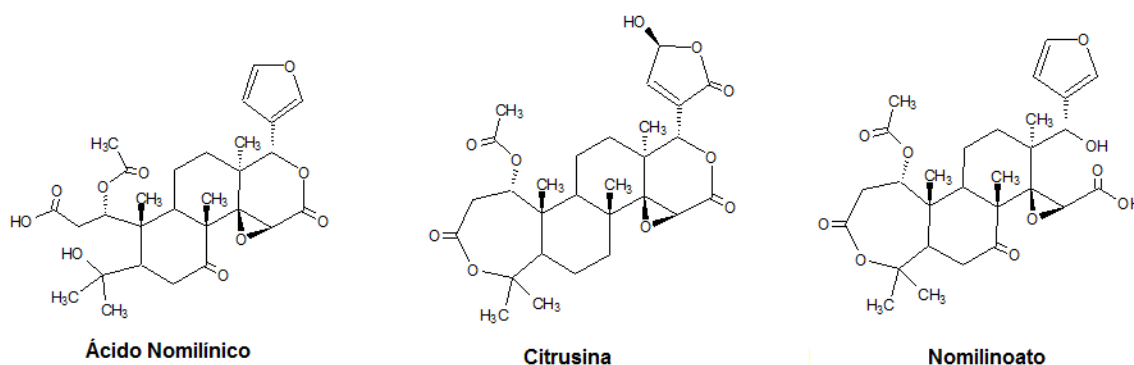


Figura 4-90 Estrutura dos limonoides de massa neutra 532,2308 Da referente aom/z531,2225.

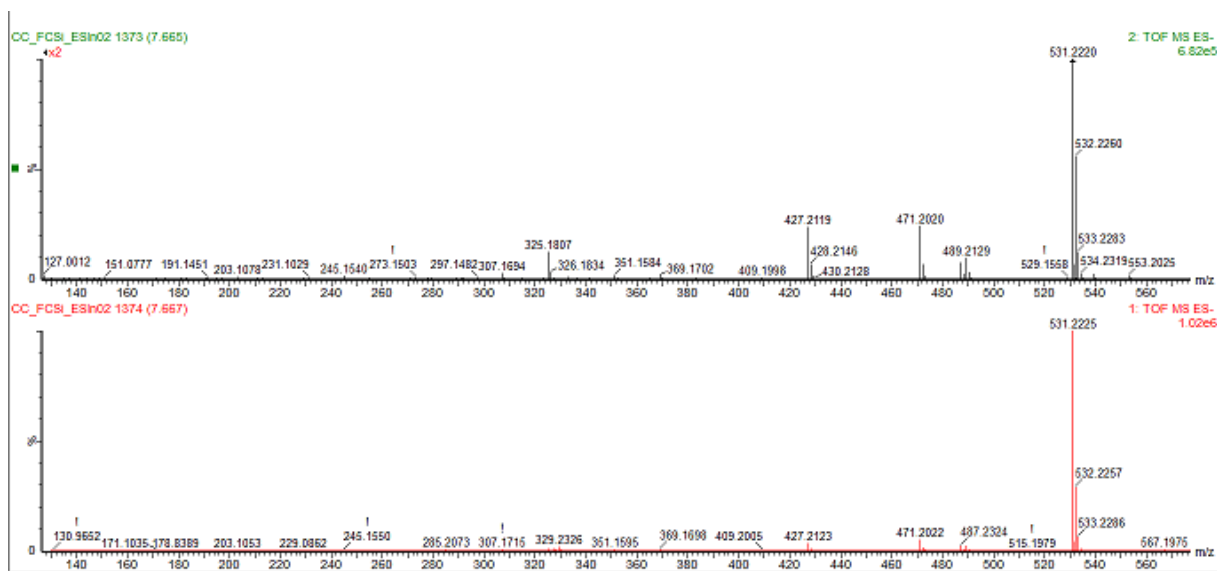
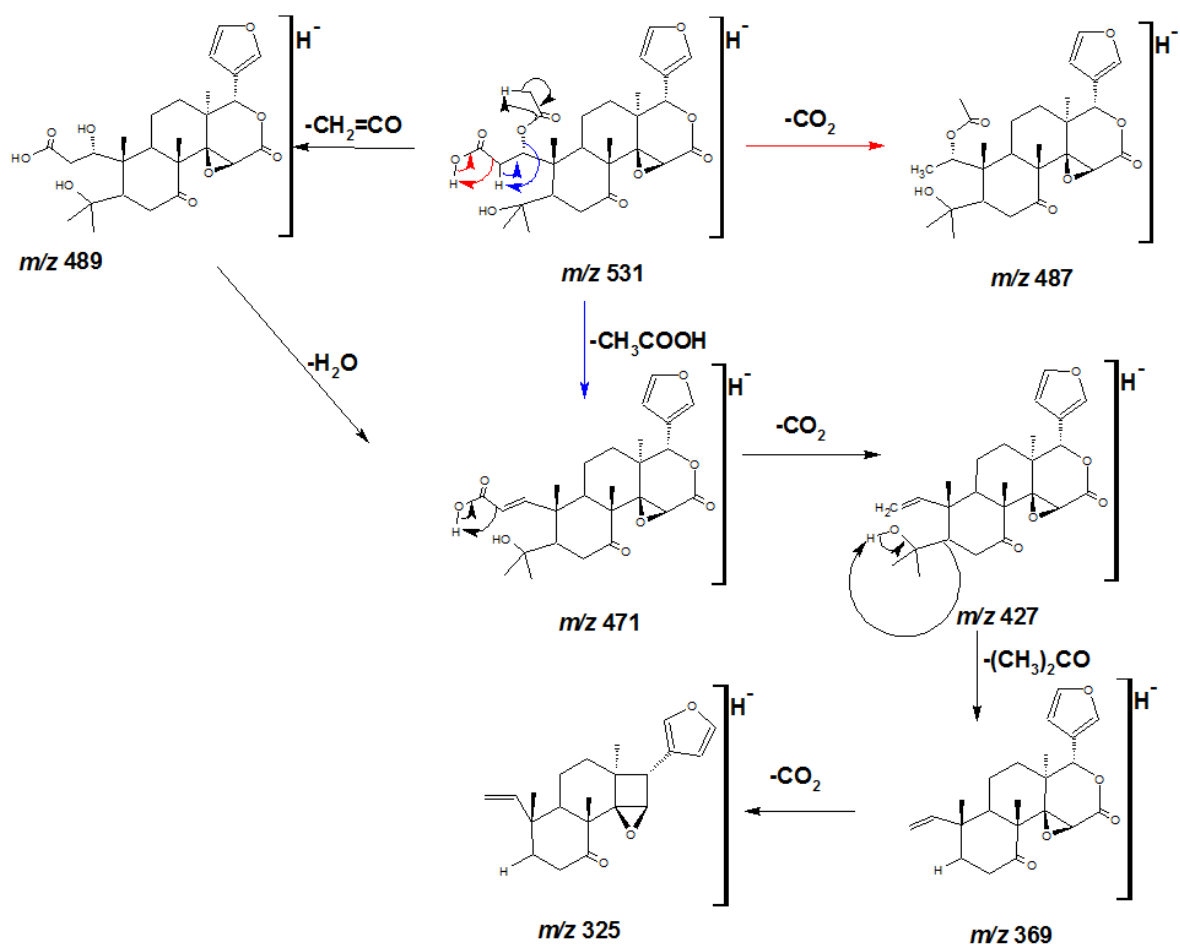


Figura 4-91: Espectro de massas para o íon m/z 531,2225 de t_r de 7,67 min. encontrado nas folhas de *C. sinensis* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-31 Proposta de fragmentação para o Ácido nomilínico (ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **3** de t_r de 8,09min. mostrou o íon pseudomolecularde m/z 313,0717,o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionadoàs flavonas 5,4'-diidróxi-7,8-dimetoxiflavona e 3,6-dimetóxi-5,7-diidróxiflavonaque mostram uma diferença de0,31 ppm entre a experimental observada e a massa teórica calculada (**Figura 4-92**). A análise do espectro dos íons produtos (**Figura 4-93**) forneceu informações de que o Anel B se encontrava monossustituído pela formação do pico m/z 117,derivado de pico m/z 269 eliminando, assim, a possibilidade de ser a flavona 3,6-Dimetóxi-5,7-diidróxiflavona. Apesar de não ter sido encontrado picos referentes a fragmentações do tipo RDA, ficou evidente que o anel A se encontrada trissustituído pela formação do pico m/z 163, o qual se formaatravés da clivagem de retrociliação do anel C,o que é muito comum em flavonoides 4'-hidroxilados (**Esquema 4-32**).A perda de CH_4 a partir do íon molecular forneceu evidencias de que o flavonoide possuía metoxilas em posições vizinha. A produção desse

flavonoide foi mais pronunciada nas folhas de *C. limonia* sendo 4,37 vezes maior nesta (Tabela 4-8).

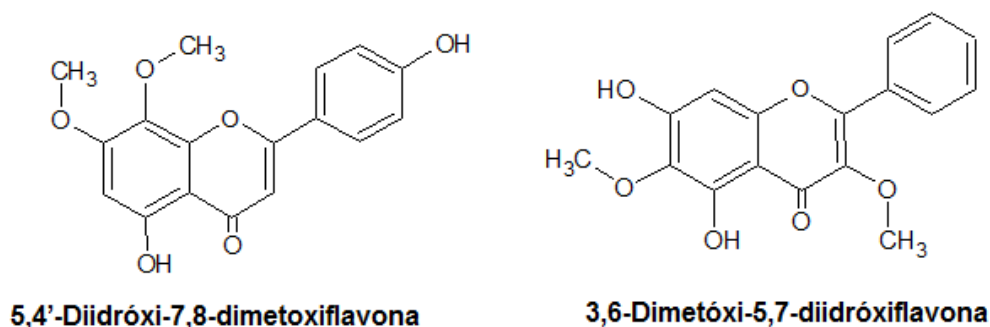


Figura 4-92 Estrutura flavona de massa neutra 314,0790 Da referente aom/z313,0717.

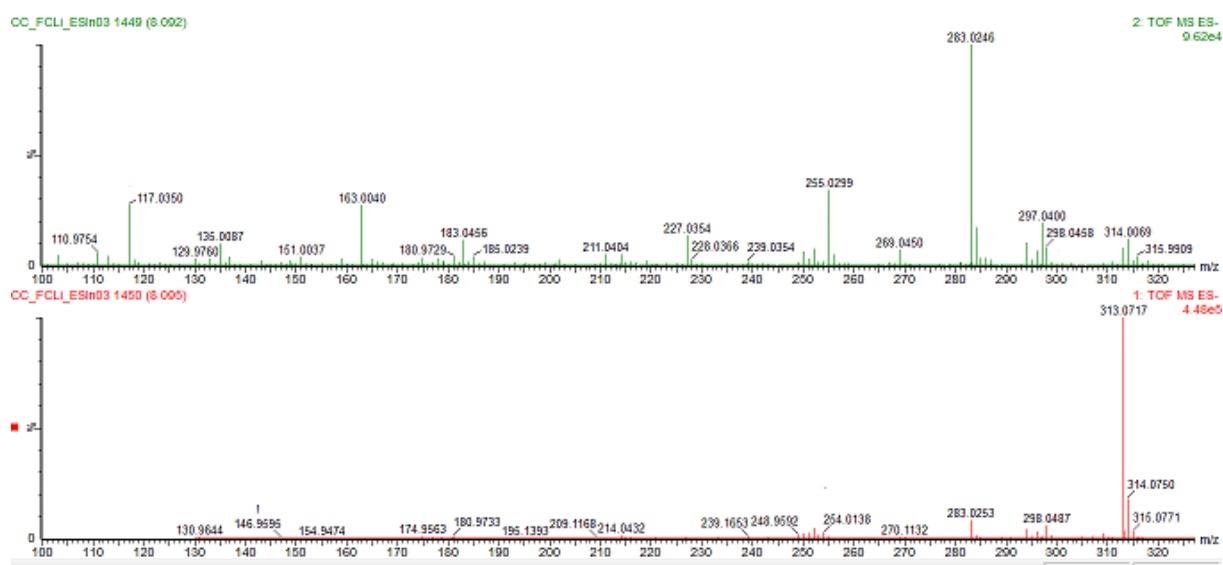
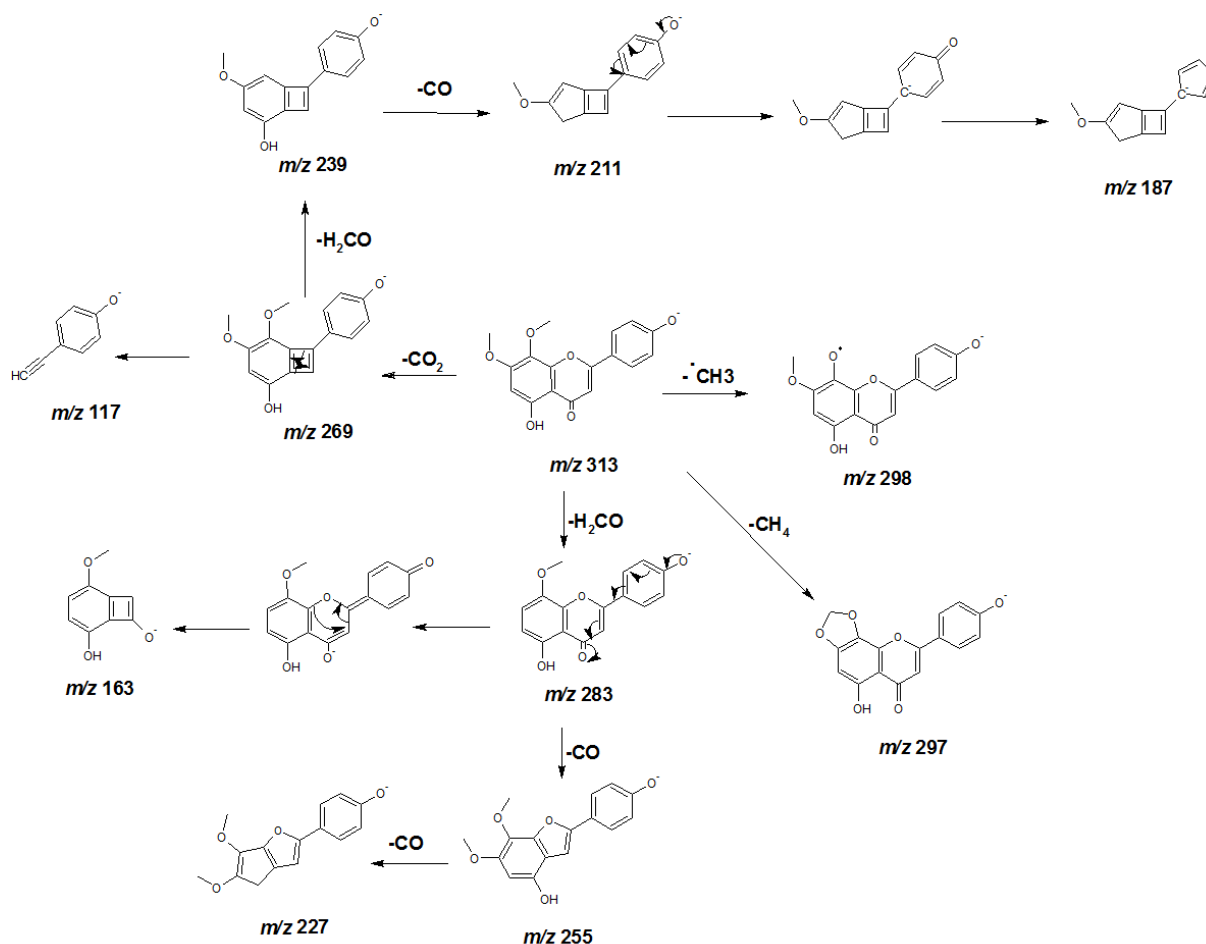


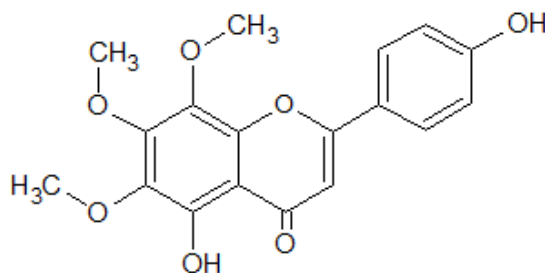
Figura 4-93: Espectro de massas para o íon m/z 313,0717 de t_r de 8,09 min. encontrado nas folhas de *C. limonia*(ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-32 Proposta de fragmentação para a 5,4'-diidróxi-7,8-dimetoxiflavona (ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **4** de t_r de 8,65min. mostrou o íon pseudomolecularde $m/z343,0819$, o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionadoàflavona xantomicrol que apresentou uma diferença de massa de 1,45 ppm entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-94**). Apesar de ter sido encontrada somente essa flavona no banco de dados poderia haver a possibilidade de outro tipo posicionamento dos substituintes no esqueleto flavônico, contudo a análise do espectro dos íons produtos (**Figura 4-95**)forneceu informações de que o Anel B se encontrava monossubstituído pela formação do pico $m/z117$ a partir do $m/z299$. Apesar de não ter sido encontrado picos referentes a fragmentações do tipo RDA, ficou evidente que o anel A se encontrada todo substituído pela formação do pico $m/z193$ que foi formado pela previa perda de metanal $m/z313$.A formação de $m/z177$ oriundo de $m/z193$ pela perda de CH₄(**Esquema 4-33**) forneceu evidencias de que o flavonoide possuía metoxilas em posições vizinhas que permitiram esse tipo de perda com a formação

do grupo metilenodióxi. A produção desse flavonoide foi mais pronunciada nas folhas de *C. sinensis* sendo 1,19 vezes maior nesta (Tabela 4-8).



Xantomicrol

Figura 4-94 Estrutura flavona polimetoxilada de massa neutra 344,0896 Da referente a m/z 343,0819.

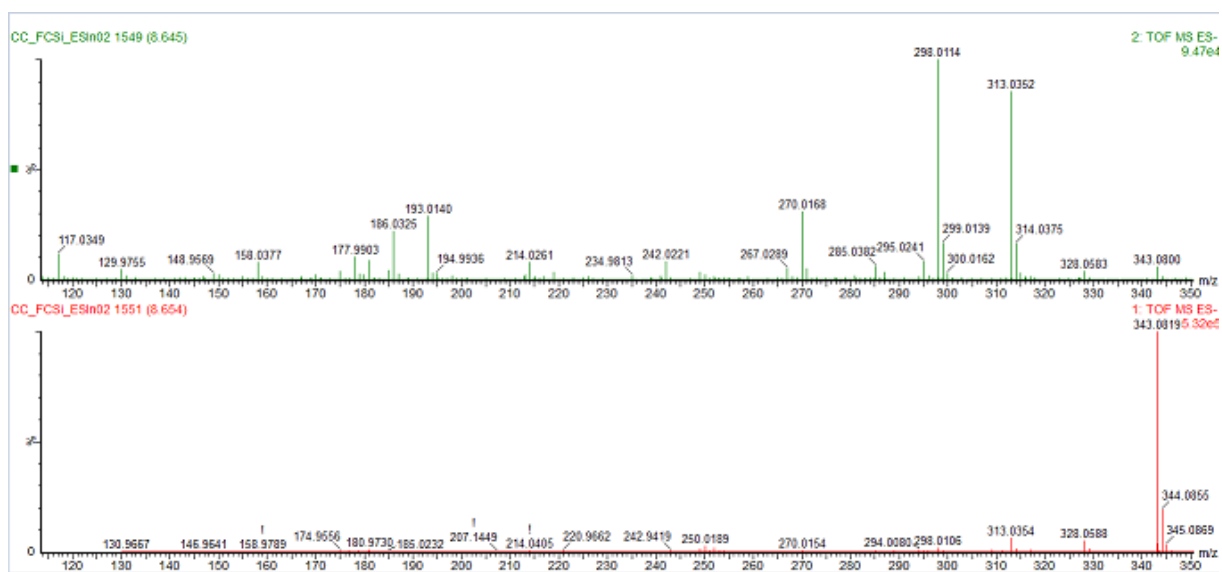
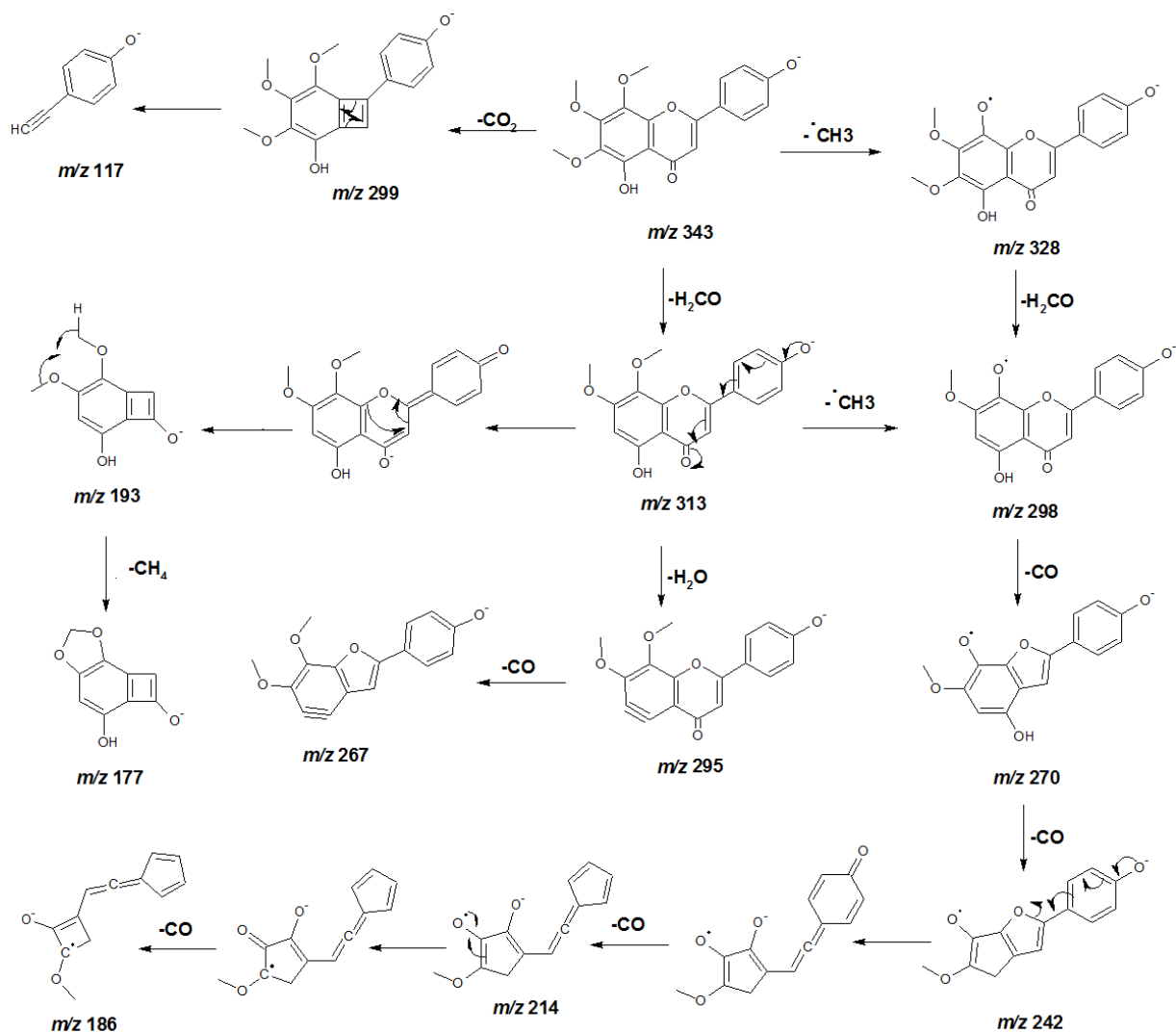


Figura 4-95: Espectro de massas para o íon m/z 343,0819 de t_r de 8,65 min. encontrado nas folhas de *C. sinensis* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-33 Proposta de fragmentação para o xantomicrol (ESI, modo negativo)

A análise da banda cromatográfica **5** de t_r de 8,76min. mostrou o íon pseudomolecular de m/z 373,0923, o qual na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado às flavonas tymusina e isotymusina que apresentaram uma diferença de massa de 1,60 ppm entre a experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-96**). A análise do espectro dos íons produtos (**Figura 4-97**) forneceu informações de que o Anel B se encontrava dissubstituído pela formação do pico m/z 147 proveniente da fragmentação via RDA, o qual sofreu prévias perdas de 15 e 30 Da (CH_3 e H_2CO). Também ficou evidente que o anel A era tetrassubstituído a partir dessa mesma sequência de fragmentação levando ao pico m/z 180, assim como pela presença do pico m/z 193 formado pela clivagem de retrociclização do anel Ca partir do fragmento de m/z 343 (**Esquema 4-34**). Essa fragmentação de retrociclização também forneceu evidências da posição da hidroxila no anel B, onde esse tipo de fragmentação é favorecido em flavonoides 4'-

substituídos com hidroxila, onde experimentos marcados com deutérios indicaram que a íon aniônico para essa fragmentação é formado na hidroxila na posição 4' do anel B do flavonoide (MCNAB et al., 2009). Baseados nessas evidencias e fragmentos propõe-se que a banda **5** seja o flavonoide Isotymusina. A produção desse flavonoide foi mais pronunciada nas folhas de *C. sinensis* sendo 1,22 vezes maior nesta (**Tabela 4-8**).

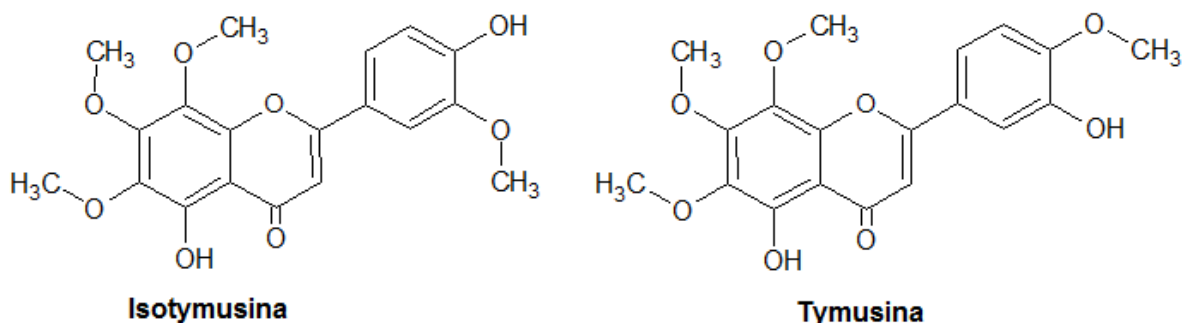


Figura 4-96 Estrutura flavona polimetoxilada de massa neutra 374,1001 Da referente aom/z373,0923.

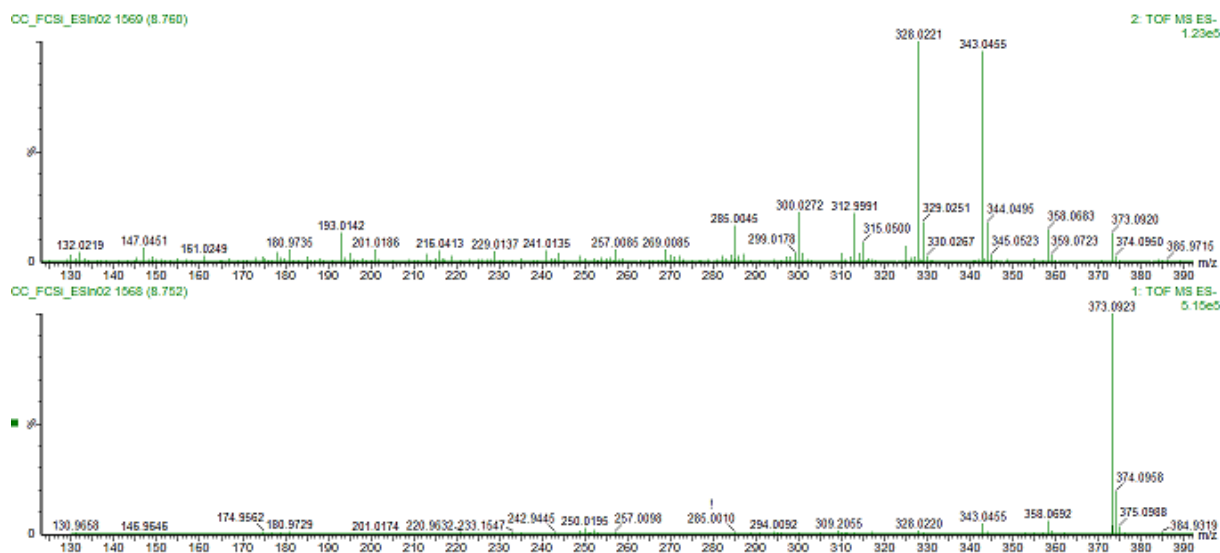
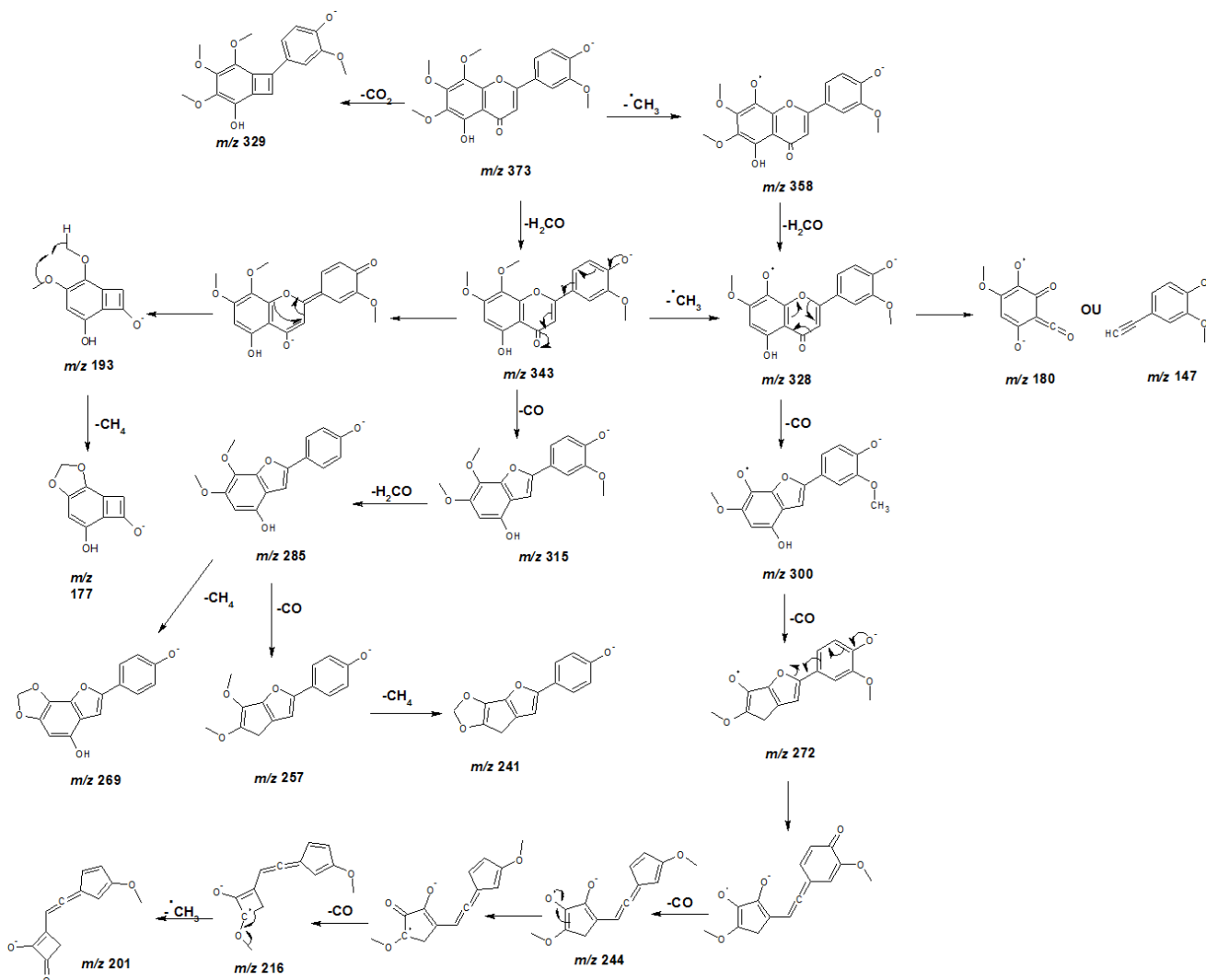


Figura 4-97: Espectro de massas para o íon m/z 373,0923 de t_r de 8,76 min. encontrado nas folhas de *C. sinensis* (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-34: Proposta de fragmentação para o Isotymusina (ESI, modo negativo)

As bandas de 6 a 9 que apresentaram baixa diferença de massa entre a teórica e a experimental eram ácidos graxos de baixa polaridade, não sendo cabível de detecção nesse estudo devido ao fato dos extratos trabalhados nesse trabalho serem hidroalcoólicos e a fonte de ionização de ESI não ser eficiente na ionização de compostos com baixo grau de polaridade.

Tabela 4-8: Prováveis metabólitos secundários das folhas do *Citrus* evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S-plot* (*ESI* negativo).

Banda	t _r (min)	[M-H] ⁺	Substância	Maior Produção	Variação
1	5,42	609,1816	FOG*	<i>C. limonia</i>	2,02
2	7,67	531,2225	Ácido nomilínico ou Citrusina	<i>C. sinensis</i>	10,11
3	8,09	313,0717	5,4'-Diidróxi-7,8-dimetoxiflavona	<i>C. limonia</i>	4,37
4	8,65	343,0819	Xantomicrol	<i>C. sinensis</i>	1,19
5	8,76	373,0923	Isotymusina	<i>C. sinensis</i>	1,22
6	9,88	293,2118	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	7,86
7	9,96	293,2118	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	8,66
8	11,55	277,2172	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	17,6
9	11,89	279,2328	Desconhecida	<i>C. sinensis</i>	8,63

*FOG (Flavonoide O-Glicosilado)- Homoeridictiol-7-O-neohesperidose, Homoeridictiol-7-O-rutinese, Neohesperidina ou Hesperidina

4.3.7 Aspectos metabólicos no processo de resistência

De acordo com os metabólitos que foram putativamente identificados nas raízes (**Figura 4-98**), caules (**Figura 4-99**) e folhas (**Figura 4-100**) dos pés francos percebe-se que a via metabólica dominante nas espécies do gênero *Citrus* se dá pela rota do Chiquimato (**Figura 4-101**), onde os principais metabolitos evidenciados pelo gráfico de *s-plot* nas análises via CLUE nos modos de ionização positivo e negativo foram as cumarinas, flavonoides e alcaloides acridônicos, nos quais são provenientes do ácido corísmico e este do ácido chiquímico, que dá o nome a via metabólica.

Como já de conhecimento comum na área da química de Produtos Naturais, sabe-se que tanto os flavonoides quanto os alcaloides acridônico e quinolínicos são oriundos da rota mista do Acetato com o Chiquimato, ou seja, para a biossíntese dessas classe de metabólitos estão envolvidas unidades de precursores oriundas de ambas as rotas, onde para a biossíntese dos flavonoides há a união de do Ácido cinâmico (via Chiquimato) com unidades de Acetil-CoA (Via Acetato), enquanto para a formação dos alcaloides acridônicos é o Ácido antranílico (Via Chiquimato) com Acetil-CoA (Via Acetato). O que vale ressaltar dessas observações é que na análise geral dos metabólitos, independente da espécie em que ele foi majoritário, é que a rota mista acetato/chiquimato favorece a formação de alcaloides nas raízes enquanto nas folhas favorece a formação de

flavonoides, como pode ser observado que nas raízes foram detectados seis alcaloides nas raízes e nenhum nas folhas, enquanto nas folhas não foi evidenciado nenhum alcaloide, mas seis flavonoides foram evidenciados. Outra característica marcante é a capacidade de inserção de unidades C5, as prenilas, nos metabolitos, onde o que se observa é que a tendência de prenilação se dá nas raízes e caules, sendo tal fato é embasado pelo numero de cumarinas (todas nas raízes) e alcaloides (A2, A4-A6) terem unidades prenilas inseridas no seu esqueleto ou o terem seu esqueletos parcialmente modificados pela a adição de um anel pirânico. Outro fato é que os únicos flavonoides (F9 e F10) evidenciados nas raízes e caules tem unidade prenilas inseridas no seu esqueleto básico ou a adição do anel furânico. Por sua vez, os caules possuem características metabólicas que se assemelham tanto às raízes quanto às folhas, já que é o órgão intermediário de transporte.

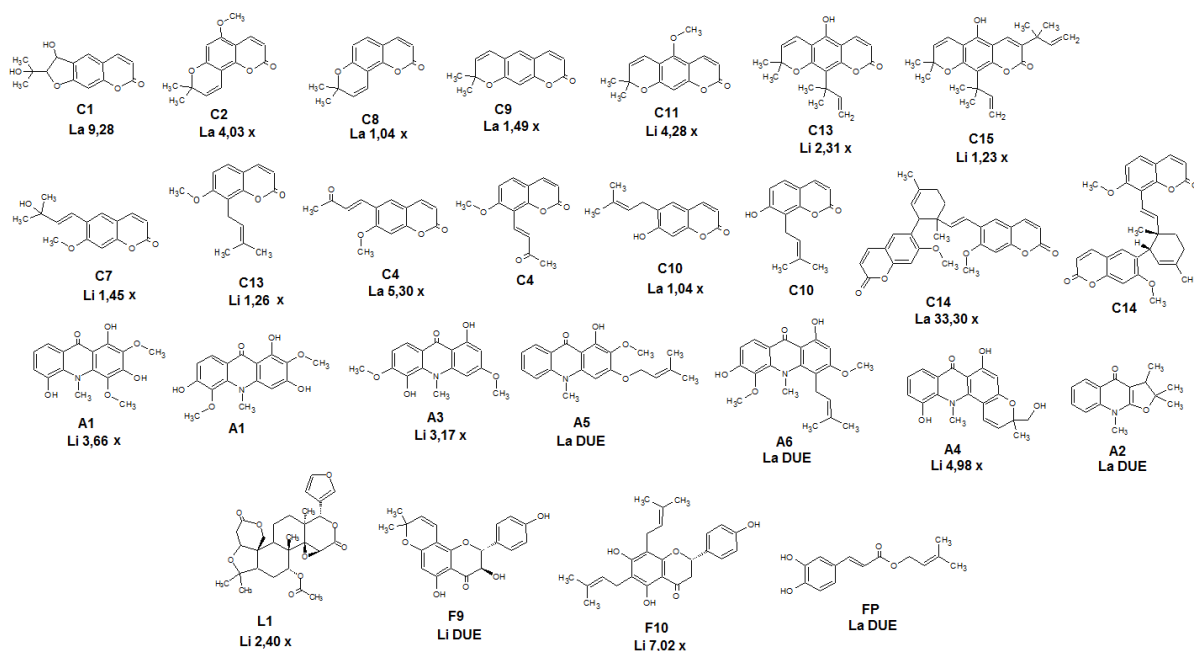


Figura 4-98:Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nas raízes dos pés francos com seus respectivos códigos de identificação, espécie em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **A** = alcaloide, **L**= limonoide, **F**= flavonoide, **FP** = fenilpropanoide. Espécies **La**= laranja (*C. sinensis*), **Li**= limão (*C. limonia*). **DUE** = Detectado em uma única espécie.

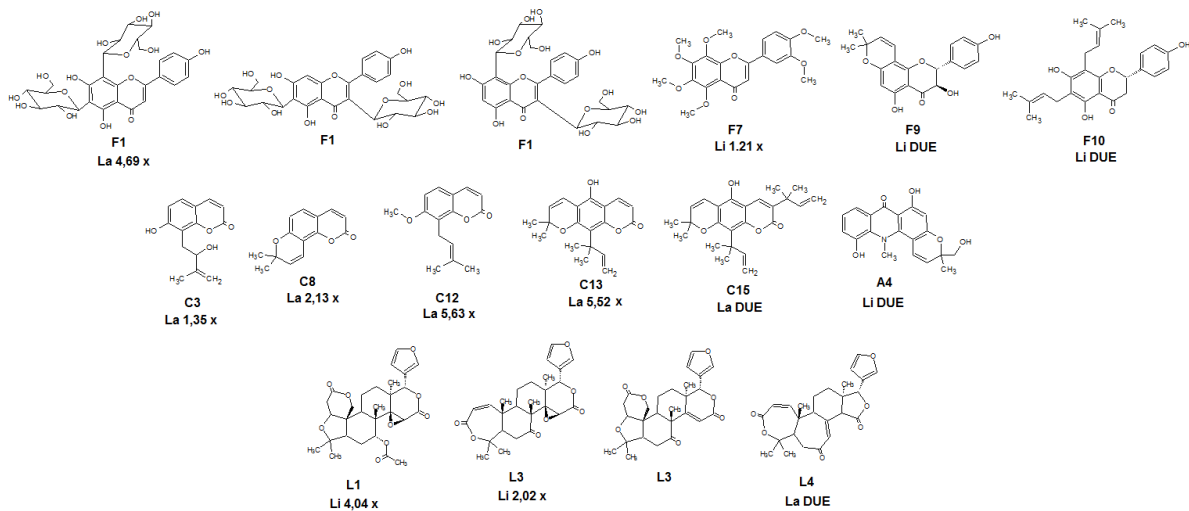


Figura 4-99: Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nos caules dos pés francos com seus respectivos códigos de identificação, espécie em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **A** = alcaloide, **L**= limonoide, **F**= flavonoide. Espécies **La**= laranja (*C. sinensis*), **Li**= limão (*C. limonia*). **DUE** = Detectado em uma única espécie.

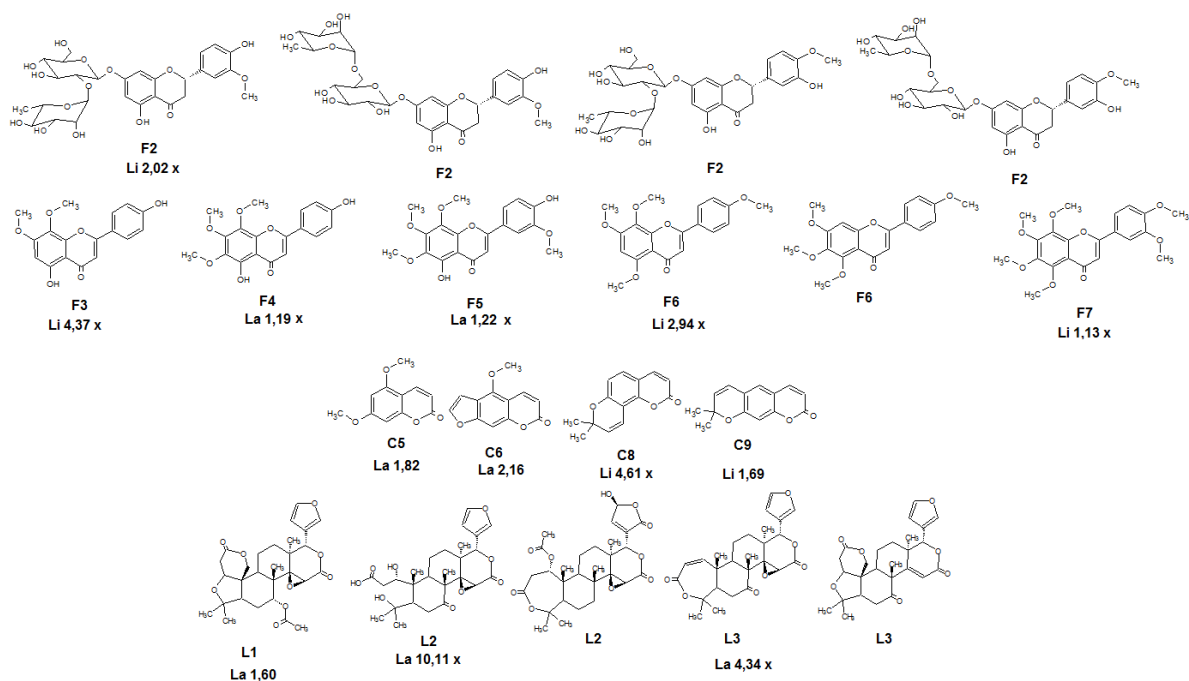


Figura 4-100: Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nas folhas dos pés francos com seus respectivos códigos de identificação, espécie em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **L**= limonoide, **F**= flavonoide. Espécies **La**= laranja (*C. sinensis*), **Li**= limão (*C. limonia*).

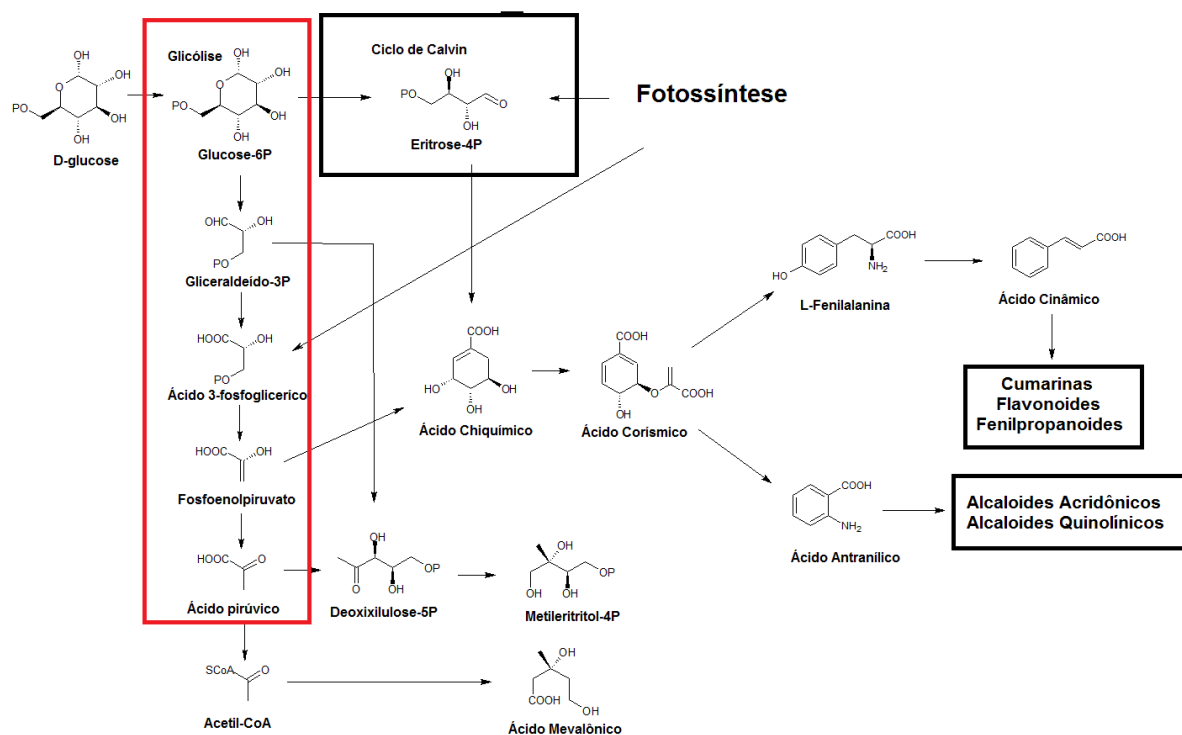


Figura 4-101: Rota metabólica resumida dos metabólitos secundários oriundos da rota Chiquimato.

Essa característica da capacidade de prenilação leva a outra observação importante que pode estar ligada ao grau de resistência da espécie *C. limonia* em relação ao processo de infecção da bactéria *X. fastidiosa*. Como pode ser visto **Figura 4-102**, as cumarinas seselina (C8) e xantiletina (C8) foram detectadas em todos os órgãos e suas maiores concentrações foram nas raízes nas duas espécies, contudo o que vale ressaltar é que as maiores concentrações dessas cumarinas ao serem comparadas entre as espécies se deram na espécie *C. sinensis* nas raízes e caules, e que nas folhas a concentração foi maior na espécie *C. limonia*, sendo cerca de 4,61 e 1,69 vezes maiores para as cumarinas seselina e xantiletina, respectivamente. O comportamento contrário é observado para os limonoides como pode ser visto na **Figura 4-103**, onde nas folhas a concentração dos limonoides é menor na espécie *C. limonia*, o que poderia explicar porque na espécie *C. sinensis* as concentrações das cumarinas seselina e xantiletina são menores, já que nesta as unidades prenilas, que podem ser provenientes das rota mevalonato, necessárias para a formação do anel furânico estão sendo utilizadas para a biossíntese desses limonoides, classe de metabólito na qual seu esqueleto básico é formado exclusivamente por unidades de prenilas.

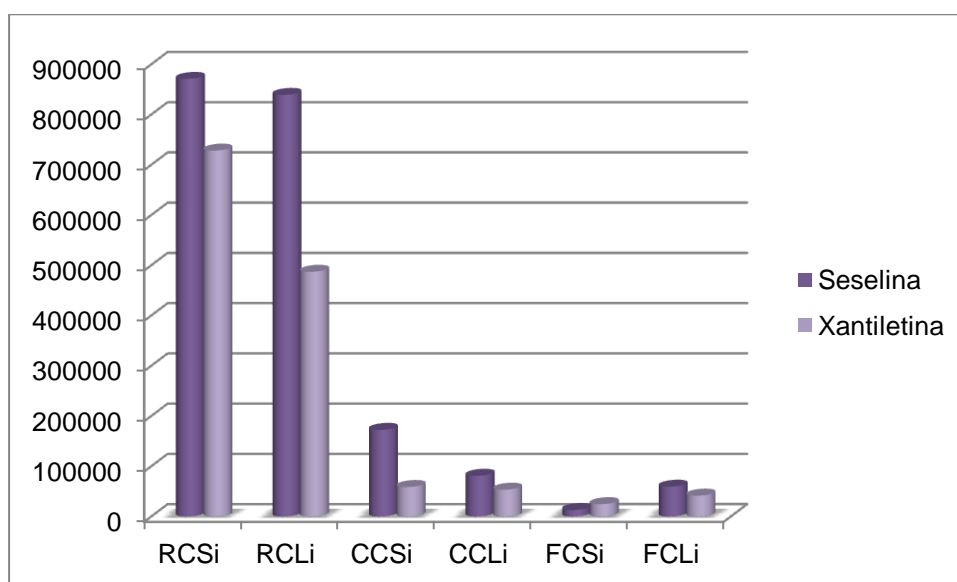


Figura 4-102: Variação das cumarinas (médias das áreas das bancas cromatográficas) xantiletina e seselina nos órgãos de *C. limonia* e *C. sinensis*

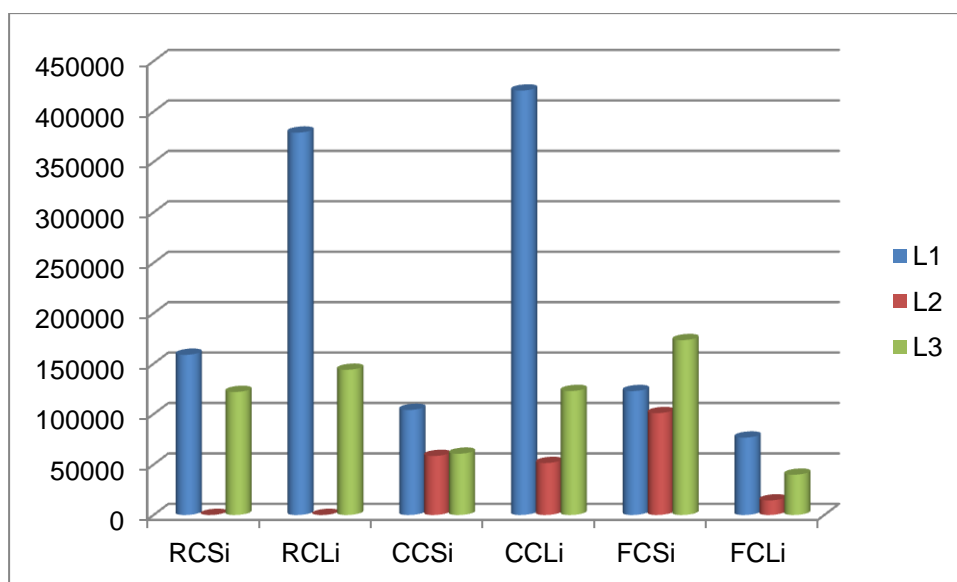


Figura 4-103: Variação dos limonoides (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos órgãos de *C. limonia* e *C. sinensis* (código de identificação dos limonoides na **Tabela 4-9**)

O que leva a supor que essa maior quantidade de cumarinas nas folhas estejam relacionadas com os aspectos químicos no processo de resistência contra o processo inicial de infecção dessas bactérias, pois pelo que se tem relatado na literatura é que em espécies ou variedades resistentes de citros as bactérias chegam a hospedar o organismo por um breve período de tempo, mas não são capazes de causar sintomas (COLETTA-FILHO et al., 2007) e os vetores da propagação da bactéria, as cigarrinhas, alimentam-se preferencialmente da

seiva das folhas, sendo o órgão de inoculo inicial das bactérias (PAIVA et al., 1996; DE MIRANDA et al., 2001; SERIKAWA et al., 2011).

O que se sabe até dado momento a respeito do processo de infecção dessa bactéria é que o estágio inicial de adesão na superfície dos vasos xilemáticos é um fator importante para a colonização e, por conseguinte a formação de biofilme e a colonização dos vasos xilemáticos adjacentes aumentando sua densidade celular em vários vasos e causando assim a doença (HOPKINS, 1989; SIMPSON et al., 2000; NEWMAN et al., 2004; SOUZA et al., 2006). Analisando os aspectos químicos para a resistência do *C. limonia*, essa alta concentração de cumarinas pode estar relacionada com a interrupção do desenvolvimento inicial das bactérias o que impediria ela de ter sucesso no processo inicial de multiplicação celular e de adesão que, por conseguinte impediria a formação e maturação do biofilme, que confere vantagens na proliferação celular e sobrevivência da colônia, assim como resistência no processo de detoxificação a agentes antimicrobianos (COSTERTON et al., 1995; LEITE et al., 2001). Trabalhos publicados pelo grupo de PN da UFSCar demonstraram que as cumarinas seselina e xantiletina não apresentaram uma atividade biológica significativa nas avaliações de inibição total do crescimento da bactéria *in vitro*, onde seus MIC foram de 6,1 μ M e 4,4 μ M, respectivamente (RIBEIRO et al., 2008). O que leva a crer que esses metabólitos secundários desempenham outra função no processo de resistência, como o de redução da formação do biofilme do agregado bacteriano, já que trabalhos realizados por Lee e colaboradores (2014), constataram que as cumarinas Umbelioferona (2) e Cumarina (1) (**Figura 4-104**) apresentaram uma inibição de mais de 80% da formação do biofilme do agregado bacteriano *E. coli* com MIC de 0,30 μ M e 0,34 μ M, respectivamente, sem afetar o crescimento bacteriano. Eles constataram também que juntamente com a redução da formação do biofilme foi observada a redução da mobilidade das bactérias. Tais observações do papel das cumarinas também foram observadas por Yang e colaboradores (2016), ao avaliarem o efeito de várias cumarinas na formação do biofilme e suas implicações na mobilidade de colônias de bactérias de espécie *Ralstonia solanacearum*, obtendo uma inibição de mais de 95% da formação do biofilme 0,35 μ M, 1,08 μ M e 1,58 μ M para as cumarinas Dafinetin (3), Esculetina (4) e Umbelioferona (2) (**Figura 4-104**), respectivamente.

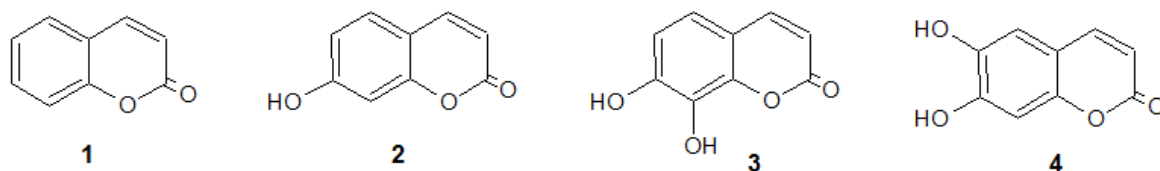


Figura 4-104: Cumarinas citadas na literatura que apresentaram grande inibição na formação de biofilmes em agregados bacterianos.

Devido a isso, pode-se supor que as bactérias ao não terem sucesso no processo de formação do biofilme, que além de garantir proteção e eficiência no processo de detoxificação contra agentes microbianos, morrem devido a baixa eficiência em capturar nutrientes dos vasos xilemáticos, já que o biofilme também garante uma maior eficiência na captura destes. Outra proposição seria que outro metabólito agiria em conjunto com as cumarinas, onde está ao ter sucesso em impedir a formação do biofilme tornariam as células bacterianas vulneráveis a ação deste outro metabólito. Este metabólito poderia ser os flavonoides, pois como pode ser visto na **Figura 4-105** os flavonoides que foram evidenciados pela análise quimiométrica *s-plot* como mais significativos na variância entre as espécies, quatro deles apresentaram uma concentração maior nas folhas de *C. limonia*. Entre os flavonoides que apresentaram uma concentração maior nas folhas de *C. limonia* o F2, que até o dado momento não pode ser devidamente identificado sendo proposta para sua identidade um dos quatro flavonoides O-glicosilados demonstrado na **Figura 4-100**, um deles teve sua atividade frente a *X. fastidiosa* avaliada, a Hesperidina. Este flavonoide foi avaliado no mesmo trabalho realizado pelo grupo de PN da UFSCar que avaliou as cumarinas seselina e xantiletina, onde sua atividade biológica foi moderada (MIC 3,3 μM) e os autores do trabalho concluíram que esse metabólito poderia atuar como barreira para o crescimento da *X. fastidiosa* em colônias pequenas em fase inicial de infecção (RIBEIRO et al., 2008). Da Silva (2013), em seu trabalho de mestrado avaliou a Hesperidina e a Naringenina em ensaios biológico *in vitro* e *in vivo* (enxertos de *C. sinensis* sobre *C. limonia*) obteve MIC *in vitro* 3,27 μM e 7,30 μM, respectivamente, e MIC *in vivo* 1,8 μM e 3,9 μM, respectivamente, dando mais embasamento à proposição das cumarinas estarem agindo em conjunto no processo de resistência à instalação inicial das bactérias no xilema, já que nos testes *in vivo* as cumarinas podem ser um dos fatores que contribuíram para o MIC menor do que nos testes *in vitro*. Vale

ressaltar que os outros flavonoides polimetoxilados F3, F6 que apresentaram uma concentração 4,37 e 2,94 vezes maior nas folhas de *C. limonia* podem estar envolvidos nesse processo de toxicidade frente a *X. fastidiosa*, entretanto não há relatos na literatura de atividade biológicas desse tipo de flavonoides nessas bactérias. Os flavonoides F9 e F10 podem ser biomarcadores de resistência nos caules de *C. limonia* já que esses foram encontrados somente nessa espécie, contudo sem o seu isolamento e teste frente à *X. fastidiosa* não pode-se concluir nada podendo ser apenas um biomarcador que o diferencia da espécie *C. sinensis*

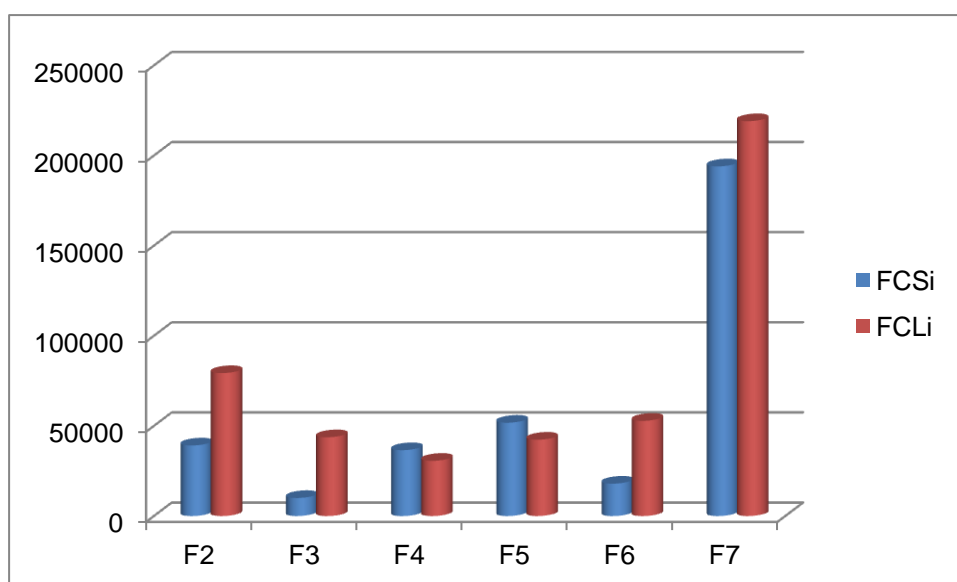


Figura 4-105 Variação dos flavonoides(médias das áreas das bandas cromatográficas) nas folhas de *C. limonia* e *C. sinensis* (código de identificação dos flavonoides na **Tabela 4-9**)

Tabela 4-9 Todas as substâncias discriminadas pela ferramenta *S-plot* nos pés francos

T _r	Substância	Órgão Vegetal			Modo de ionização		Classe	Código de identificação
		Raiz	Caule	Folha	ESI (+)	ESI (-)		
3,83	Vicenina-2 ou Apigenina-3,6-di-C-glucosídeo ou Apigenina-3,8-di-C-glucosídeo	-	+	-	-	+	Flavonoide	F1
5,42	Xantoarnol	+	-	-	+	-	Cumarina	C1
5,42	Homoeridictiol-7-O-neohesperidose ou Homoeriodictiol-7-O-rutinose ou Neohesperidina ou Hesperidina	-	-	+	-	+	Flavonoide	F2
5,68	5-Metoxiseselina	+	-	-	+	-	Cumarina	C2
6,01	Cafeoato de prenila	+	-	-	-	+	Fenilpropanoide	FP
6,27	7-Demetilisotamarina	-	+	-	-	+	Cumarina	C3
6,57	Ostenona ou Suberenona	+	-	-	+	-	Cumarina	C4
6,85	Citropteno	-	-	+	+	-	Cumarina	C5
6,94	Citruscridona ou Citramina	+	-	-	-	+	Alcaloide	A1
7,00	Bergapteno	-	-	+	+	-	Cumarina	C6
7,11	Suberenol	+	-	-	+	-	Cumarina	C7
7,60	Acetato de limonila	+	+	+	+	-	Limonoide	L1
7,62	Desconhecida	-	+	-	+	+	Desconhecida	D1

7,67	Ácido deacetilnomilínico ou Citrusina	-	-	+	-	+	Limonoide	L2
7,81	Desconhecida	+	+	-	-	+	Desconhecida	D2
8,09	5,4'-Diidróxi-7,8- dimetoxiflavona	-	-	+	-	+	Flavonoide	F3
8,14	Lemobilina	+	-	-	-	+	Alcaloide	A2
8,15	Seselina	+	+	+	+	-	Cumarina	C8
8,21	Grandisina I	+	-	-	-	+	Alcaloide	A3
8,28	Obacunona ou Deoxilimonina	-	+	+	+	-	Limonoide	L3
8,35	Xantiletina	+	-	+	+	-	Cumarina	C9
8,55	Desconhecida	+	-	-	-	+	Desconhecida	D3
8,65	Xantomicrol	-	-	+	-	+	Flavonoide	F4
8,70	Ostenol ou 7- Demetoxisuberosina	+	-	-	-	+	Cumarina	C10
8,72	Xantoxiletina	+	-	-	+	-	Cumarina	C11
8,76	Isotymusina	-	-	+	-	+	Flavonoide	F5
8,79	6- Demetoxitangeretina ou 5,6,7,4'- Tetrametoxiflavona	-	-	+	+	-	Flavonoide	F6
8,91	Nobiletina	-	+	+	+	-	Flavonoide	F7
8,91	Desconhecida	-	+	-	-	+	Desconhecida	D4
9,34	Álcool 5- hidróxinoracrinocina	+	+	-	-	+	Alcaloide	A4
9,49	Desconhecida	+	-	-	-	+	Desconhecida	D5
9,60	Ostol	+	+	-	+	-	Cumarina	C12
9,88	Desconhecida	-	-	+	-	+	Desconhecida	D6

9,96	Desconhecida	-	-	+	-	+	Desconhecida	D7
10,05	Citriolídeo-A	-	+	-	-	+	Limonoide	L4
10,15	Nordentatina	+	+	-	+	+	Cumarina	C13
10,44	Evoprenina	+	-	-	-	+	Alcaloide	A5
10,45	Desconhecida	-	-	+	+	-	Desconhecida	D8
10,46	Yukovanol	+	+	-	-	+	Flavonoide	F8
10,56	Thamnosina ou Bisparasina	+	-	-	+	-	Cumarina	C14
10,57	Grandisinina	+	-	-	-	+	Alcaloide	A6
10,60	Desconhecida	-	+	-	-	+	Desconhecida	D9
10,75	Lanchocarpol A	+	+	-	-	+	Flavonoide	F9
10,80	Desconhecida	+	-	-	+	-	Desconhecida	D10
11,47	Clausarina	+	+	-	+	+	Cumarina	C15
11,55	Desconhecida	-	-	+	-	+	Desconhecida	D11
11,89	Desconhecida	-	-	+	-	+	Desconhecida	D12
11,94	Desconhecida	-	-	+	-	+	Desconhecida	D13

4.3.8 Investigação do provável mecanismo de defesa de *C. sinensis* enxertado sobre *C. limonia* frente à CVC

Como foi discutido na introdução, a produção citrícola é realizada sobre um porta enxerto que confere uma melhor produtividade da copa que se quer propagar, desta maneira duas espécies vegetais são unidas para alcançar tal objetivo e estas passam a existir como um só organismo vivendo simbioticamente.

A laranja doce produzida no Brasil geralmente provém do processo de enxertia da espécie de *C. sinensis* sobre *C. limonia*, sendo assim nesse trabalho foi realizado a separação dos órgãos vegetais provenientes da copa e do porta enxerto, totalizando quatro diferentes partes vegetais no intuito de se obter um melhor entendimento de quais órgãos estão mais envolvidas e como as rotas metabólicas foram afetadas ao longo de toda a espécie vegetal no processo de combate à infecção causada pela bactéria *X. fastidiosa*.

4.3.9 PCA e HCA das amostras de enxertos infectadas e sadias

Na projeção das amostras obtidas nas análises de PCA nos gráficos de scores no modo positivo e negativo de ionização (**Figura 4-106-A e Figura 4-107-A**) pode-se perceber que as amostras formam grupos de acordo com as espécies as quais elas pertencem, onde órgãos oriundos da espécie *C. sinensis* possuem pesos negativos e as que pertencem a espécie *C. limonia* tem peso positivo na PC1. No modo positivo de ionização há uma clara divisão dos agrupamentos de cada órgão do enxerto nas PC1x PC2, entretanto no modo negativo de ionização o que se observa é que as amostras oriundas da espécie *C. sinensis* foram todas agrupadas na mesma região do hipercampo formado pelas PC1X PC3, o qual sugere que apesar de estarem próximas o que as diferenciam são as mesmas classes de metabólitos que melhorionizam no modo negativo. Cabe ressaltar aqui que a análise por PCA é uma técnica que tem por objetivo reduzir a dimensionalidade dos dados, permitindo assim uma melhor visualização de como as amostras variam entre si e como estão relacionadas com as suas respectivas variáveis e que essas observações são feitas em um espaço n-dimensional, onde muitos casos são necessários mais de uma componente (mais de duas dimensões) para ter uma noção total da variância dos dados. No caso do gráfico de scores no modo negativo ainda não o tínhamos em mãos para ser

demonstrado aqui sua projeção com três componentes (PC1x PC3x PC5) que melhor projetava a variância que separava as amostras oriundas dos órgãos de *C. sinensis*.

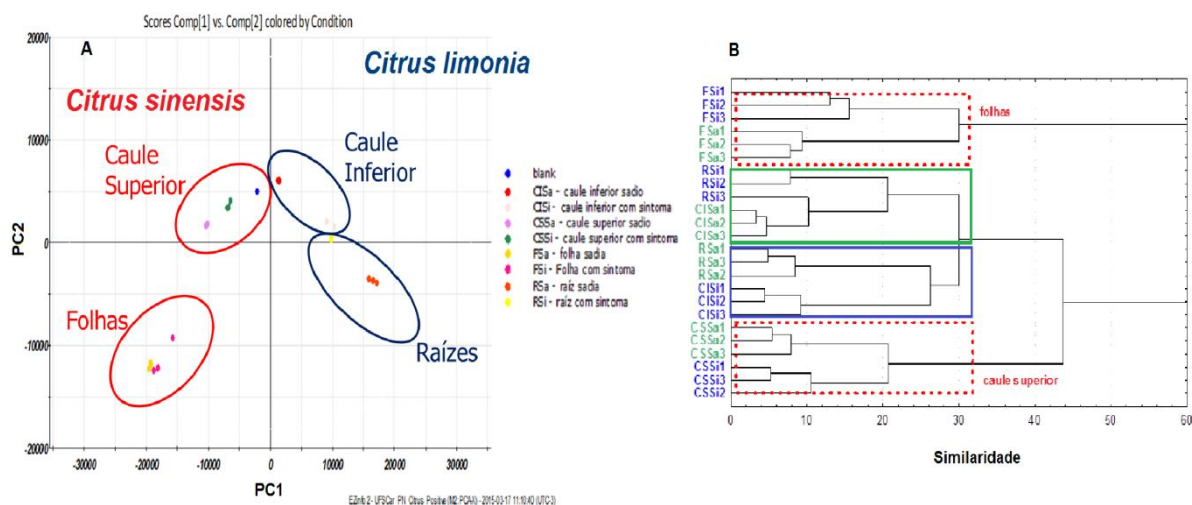


Figura 4-106: Análises quimiométricas no modo positivo de ionização de todos os órgãos vegetais dos enxertos sadios e infectados **A-** PCA – gráfico de scores de PC1xPC2 ; **B-** HCA- dendrograma de similaridade

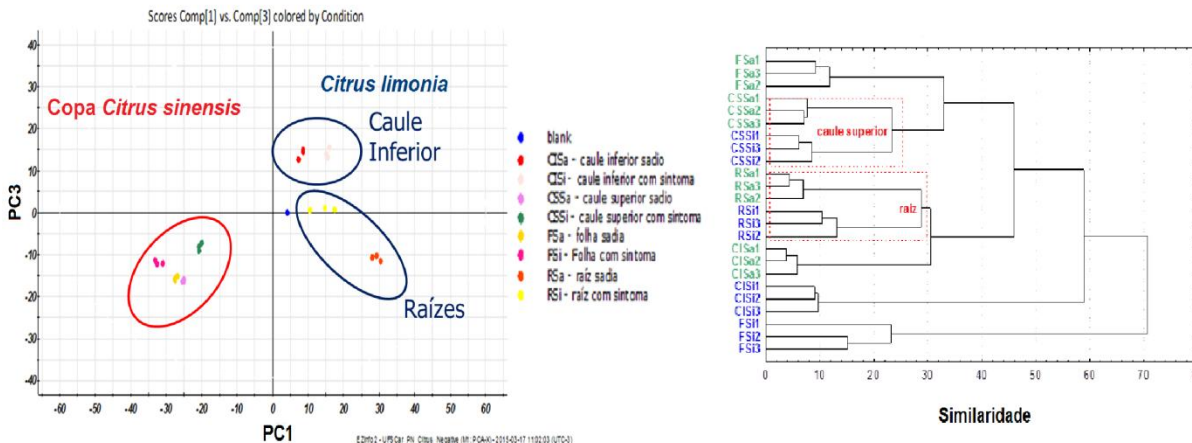


Figura 4-107: Análises quimiométricas no modo negativo de ionização de todos os órgãos vegetais dos enxertos sadios e infectados **A-** PCA – gráfico de scores de PC1xPC3 ; **B-** HCA- dendrograma de similaridade

Os dendrogramas obtidos para o conjunto de amostras doentes e sadias nos modos positivo e negativo de ionização mostraram a formação de 4 e 6) grupos(a partir do dois grandes grupos iniciais), porém sem uma correspondência com os sintomas da doença, em uma análise inconclusiva a primeira vista. No entanto, no dendrograma do modo positivo (**Figura 4-106-B**) notou-se que dois grupos correspondiam a amostras provenientes das folhas e caule superior e o

outro dois grupos aqueles foram aqueles agrupados em raízes sadias com caules inferiores infectados (detalhe em azul) e raízes infectadas com caules superiores sadios (detalhe em verde) que foram confirmado com a sobreposição dos cromatogramas tal similaridade (**Figura 4-108** e **Figura 4-109**). Esses agrupamentos de similaridade de órgãos distintos dos enxertos e em diferentes fases de equilíbrios fisiológicos pode indicar que esses metabolitos que foram melhor ionizados no modo positivo no massas estejam se deslocando das raízes para os caules durante o processo de infecção das plantas pelo fitopatógeno o que explicaria o porquê do perfil químico dos caules inferiores sadios se assemelharem aos das raízes infectadas e o inverso, já que os metabólitos das raízes estão sendo deslocando para os caules inferiores ou a rota metabólica das raízes estejam sendo silenciadas em detrimento do favorecimento de outras rotas que possam estar associada a produção de metabolitos no combate contra o hospedeiro nocivo. Isso será confirmado em análises quimiométricas discutidas em itens afrente, usando espectrometria de massas e análises quimiométricas supervisionadas (*s-plot*), o qual permite identificar os respectivos íons que mais diferenciam nesses órgãos.

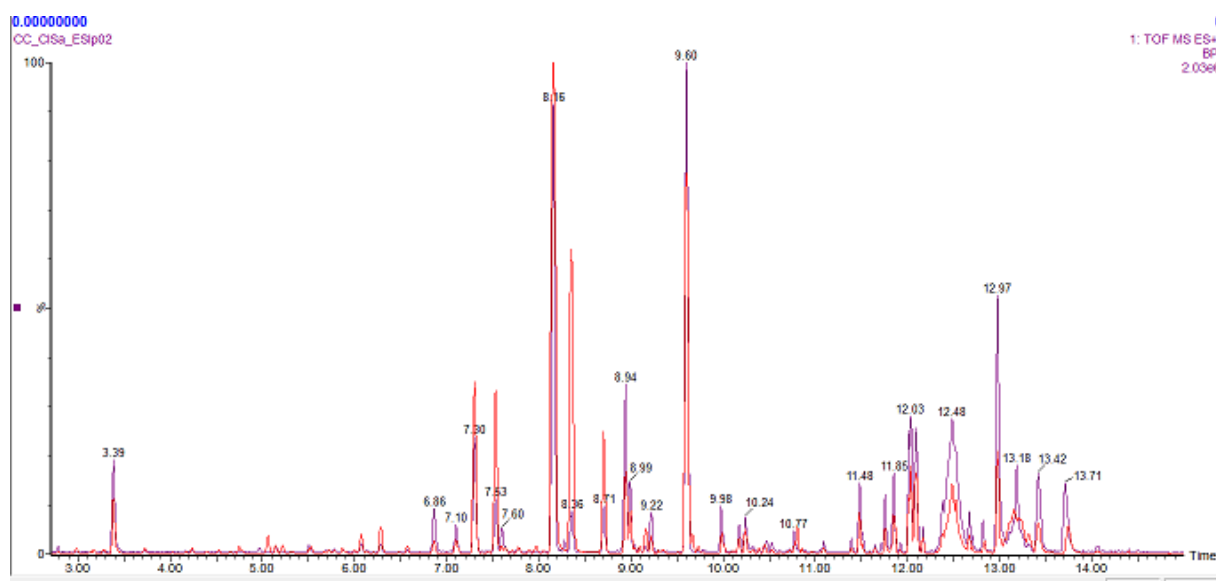


Figura 4-108: Cromatogramas (*ESI* positivo) sobrepostos do (-) CISa – Caule Inferior Sadio e (-) RSi – Raiz Sintoma. No gráfico de HCA está destacado em verde

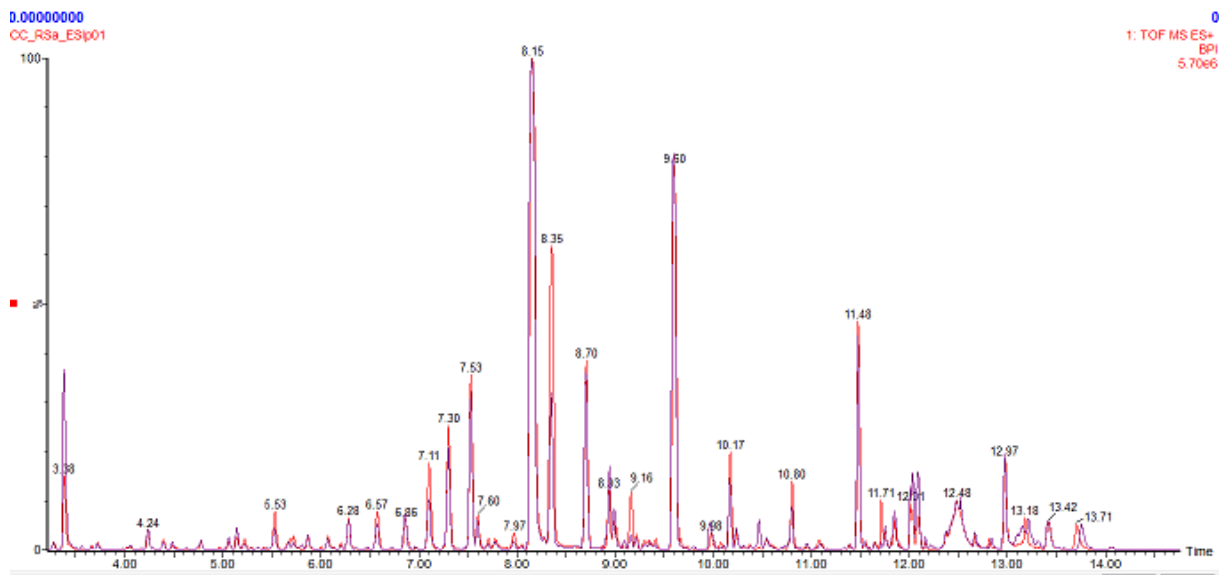


Figura 4-109: Cromatogramas (*ESI* positivo) sobrepostos do (-) CISi – Caule Inferior Sintoma e (-) RSa – Raiz Sadio.No gráfico de HCA está destacado em azul

Nas análises de HCA obtidas das análises cromatográficas realizadas em modo negativo (**Figura 4-107-B**), também foram observados 2 grupos correspondentes às amostras oriundas do caule superior e da raiz da planta, entretanto o dado marcante desta análise é o fato das amostras referentes às folhas estarem separados em grupos de similaridades bem distantes (59 ligações de distância de similaridade) o que pode indicar que o principal processo de resposta nos enxertos frente ao processo de infecção esta sendo nas folhas o que é sustentada essa hipótese já que em trabalhos realizados no monitoramento das colônias da bactéria *X. fastidiosa* obstruindo os vasos xilemáticos ao longo das plantas infectadas com sintomas aparentes, percebeu-se que esse se dá principalmente nos xilemas dos pecíolos seguido do limbo e caule, além do fato de que os metabólitos mais citados envolvidos no processo de infecção de *Citrus* serem os flavonoides glicosilados que são melhores ionizáveis no modo negativo o que explicaria o porquê dessa resposta nas análises de HCA ser só evidenciada neste modo (QUEIROZ-VOLTAN et al., 2000; SOARES, 2011; ISIDORO, 2013; BELLETE, 2014; SOARES et al., 2014).

A peso de cada variável na descrição das componentessão apresentados no gráfico de PCA de *loadings*nas **Figura 4-110**e **Figura 4-111**, e assim como nas análises dos pés francos, a discriminação e a classificação da

confiabilidade dos íons que constituem a banda cromatográfica foram feitos nas análises de s-plot discutidas na próxima seção.

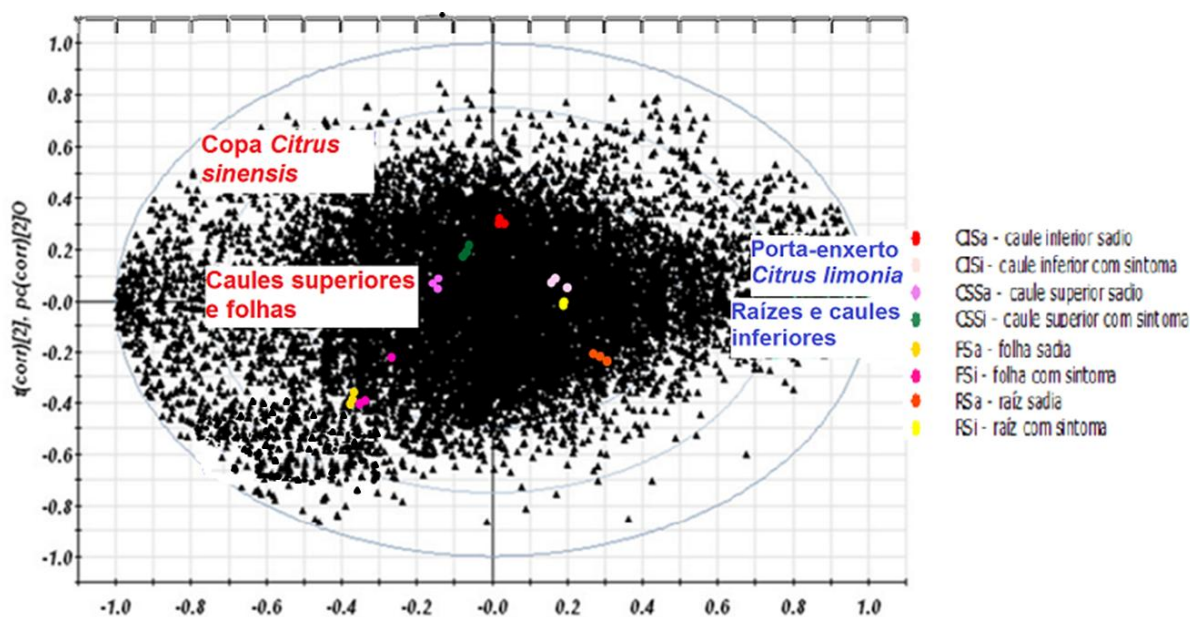


Figura 4-110: Análise de PCA: gráfico de *loadings* da Componente 1 X Componente 2 das análises realizadas no modo positivo de ionização dos órgãos vegetais.

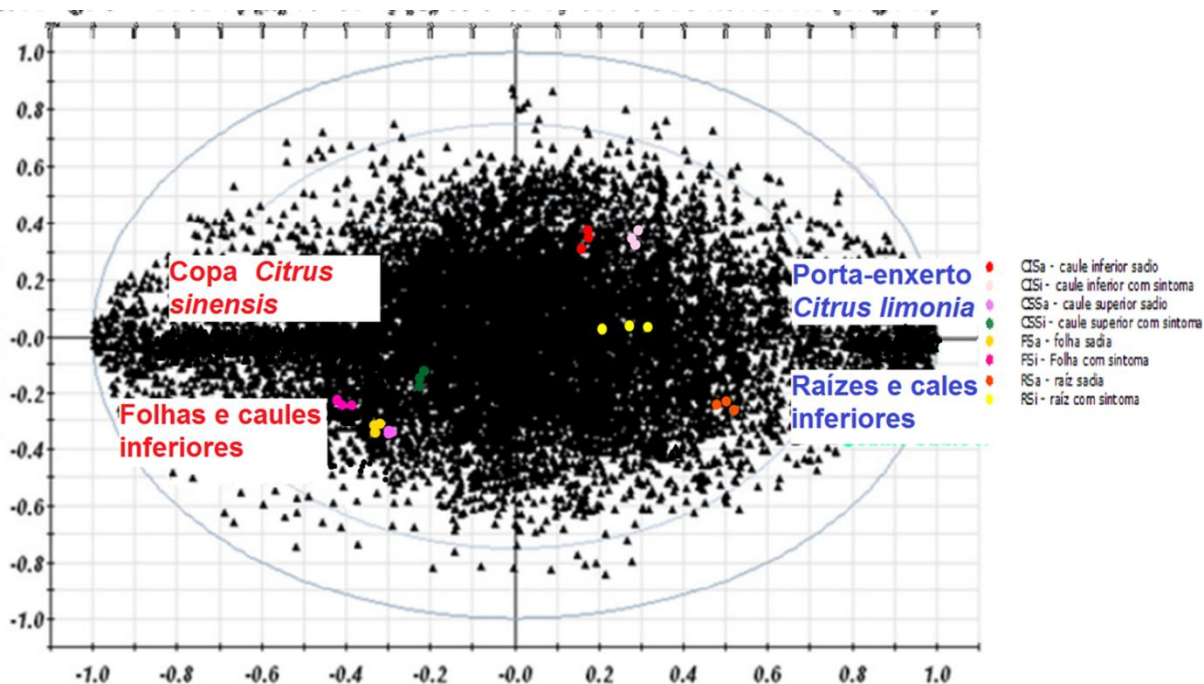


Figura 4-111: Análise de PCA: gráfico de *loadings* da Componente 1 X Componente 3 das análises realizadas no modo negativo de ionização dos órgãos vegetais.

4.3.10 Análises discriminantes dos biomarcadores via *S-plots* dos enxertos das análises no modo positivo de ionização

Nas análises quimiométricas discriminantes dos enxertos sadios e infectados via *S-plot* no gráfico os grupos inferiores são os enxertos sadios e os superiores são os enxertos infectados elas foram feitas entre as folhas, caules superiores - provenientes da espécie *C. sinensis* – caules inferiores e raízes - provenientes da espécie *C. limonia*.

4.3.10.1 Análises das raízes dos enxertos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s-plot* (Figura 4-112) no modo positivo de ionização das amostras das raízes dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 13 bandas cromatográficas (Figura 4-113). As bandas cromatográficas 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12 e 13 correspondem a metabólitos encontrados nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 (página 65) (Tabela 4-10).

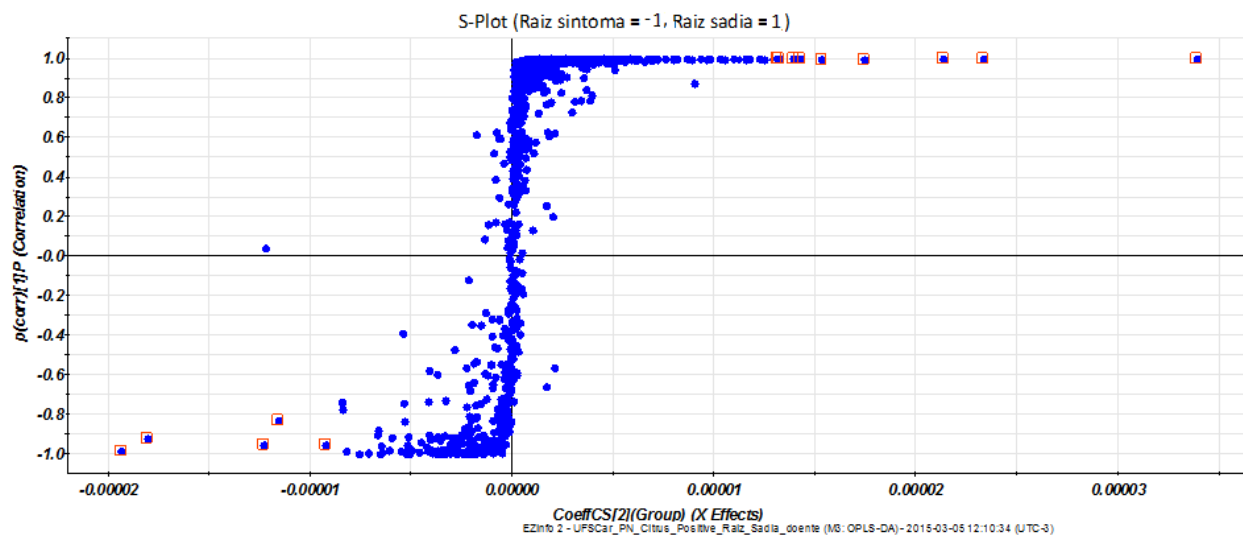


Figura 4-112: Gráfico *S-Plot* das raízes dos enxertos sadios e infectados no modo positivo de ionização.

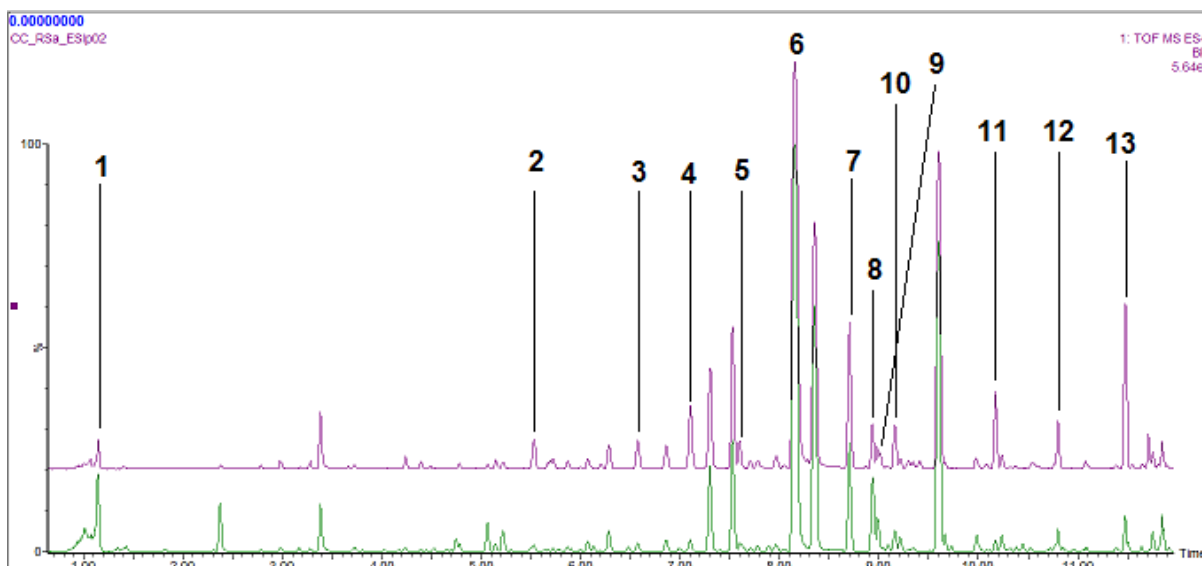
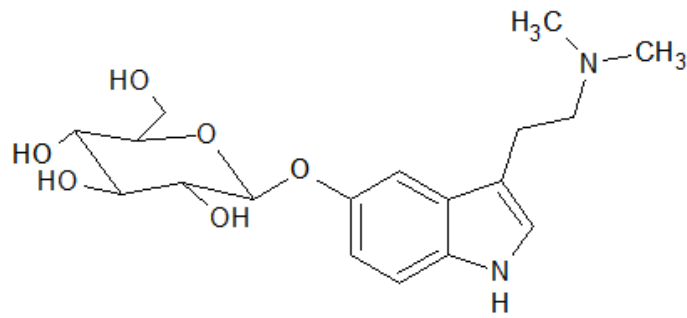


Figura 4-113: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes das raízes dos enxertos.

A análise da banda cromatográfica **1** de t_r de 1,15min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 367,1864, para o qual não foi encontrado metabólito com massa próxima no banco de dados feito para esse trabalho, contudo no banco de dados do METLIN foi encontrado para esse íon o alcaloide glicosilado bufotenina O-glucosídeo, o qual apresentou um erro de 0,6mDa entre a massa experimental observada e a massa teórica calculada (**Figura 4-114**). No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-115**) foi observado somente um fragmento m/z 160,0762, o qual é oriundo da perda da glucose e de dimetilamina (**Esquema 4-35**). Comparada com a massa teórica calculada para esse íon verifica-se apresenta um erro de apenas 0,6mDa tornando seguro afirmar que a banda **1** se trata desse alcaloide, o qual foi isolado anteriormente em folhas de *C. unshiu* (SMITH et al., 2005). Este alcaloide está sendo citado pela primeira vez no enxerto em estudo, e aparecendo em intensidade maior nas raízes infectadas (1,67 vezes maior - **Tabela 4-10**). Se esse alcaloide estivesse presente somente na planta sintomática seria uma fitoalexina. Ele não foi isolado anteriormente por estar em baixa quantidade.



Bufotenina O-glucosídeo

Figura 4-114: Estrutura do alcaloide glicosilado de massa neutra 366,1790 Da referente aom/z367,1870.

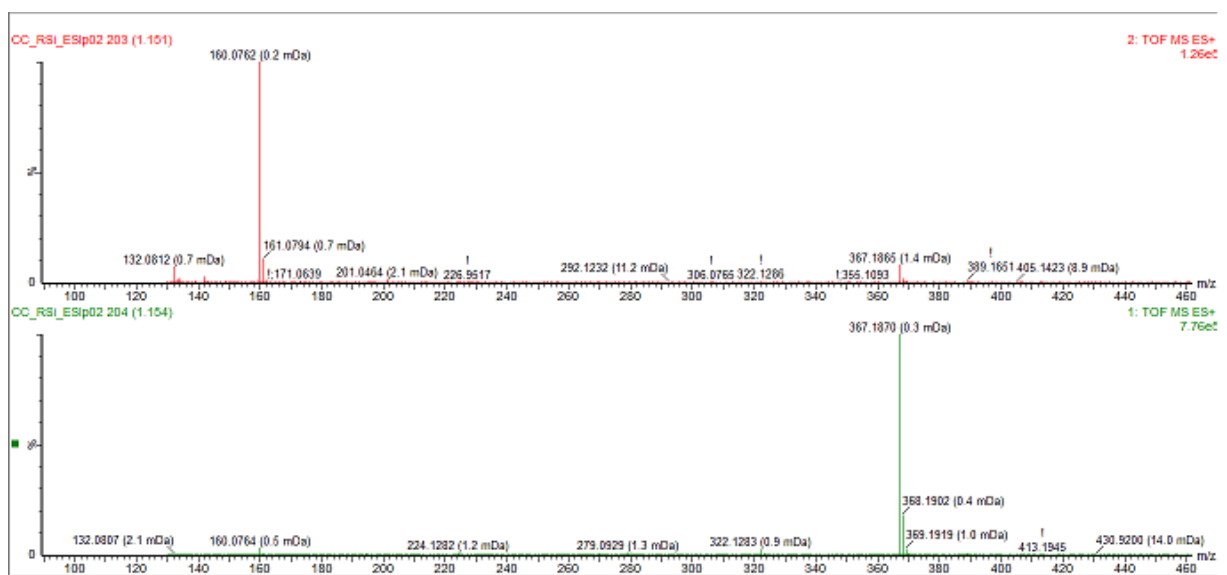
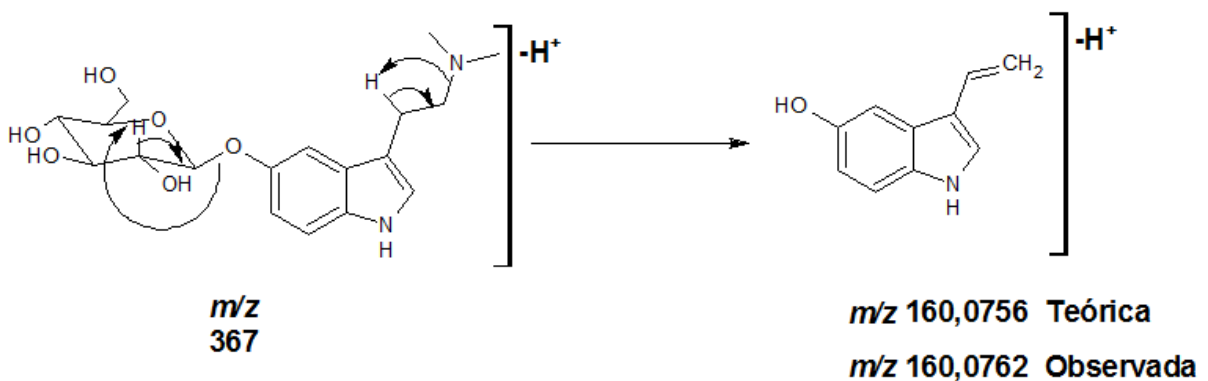


Figura 4-115: Espectro de massas para o íon m/z 367,1870 de t_r de 1,15min. encontrado nas raízes dos enxertos infectados (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-35: Proposta de fragmentação para o Bufotenina O-glucosídeo(ESI, modo positivo)

A análise da banda cromatográfica **2** de t_r 5,53 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 263,0924 com diferença de massa de 0,3 mDa comparado com as massas teóricas calculadas para as cumarinas - buntansina B, xantoarnol, kelactona e decursidinol (**Figura 4-18**). Esse íon pseudomolecular já foi previamente identificado nos t_r 5,42 min. como sendo a cumarina xantoranol nas análises feitas entre os pés-francos. Nessas análises entre os enxertos a identidade da banda **2** foi proposta como sendo a cumarina decursinol ou kelactona, pois as duas permitem o mesmo perfil de fragmentação. Contudo, não foi encontrado na literatura perfis de fragmentação dessas duas cumarinas em *ES* no modo positivo de ionização. A eliminação da possibilidade de ser a buntansina B se deu devido a ausência de perdas de 30 Da provenientes da perda de metanal. A grande intensidade do pico m/z 201 (**Figura 4-116**) que pode ser formado da perda de CH_4 , H_2O , CO e pode ser justificada pela estabilidade do íon positivo por configuração até o oxigênio do anel furano (**Esquema 4-36**). Essas cumarinas decursinol ou kelactona são encontradas em menor concentração nas plantas infectadas, ou seja, a presença da bactéria leva a uma redução em sua concentração. Nas plantas sadias uma ou outra dessas cumarinas aparece 4,03 vezes a mais (**Tabela 4-10**).

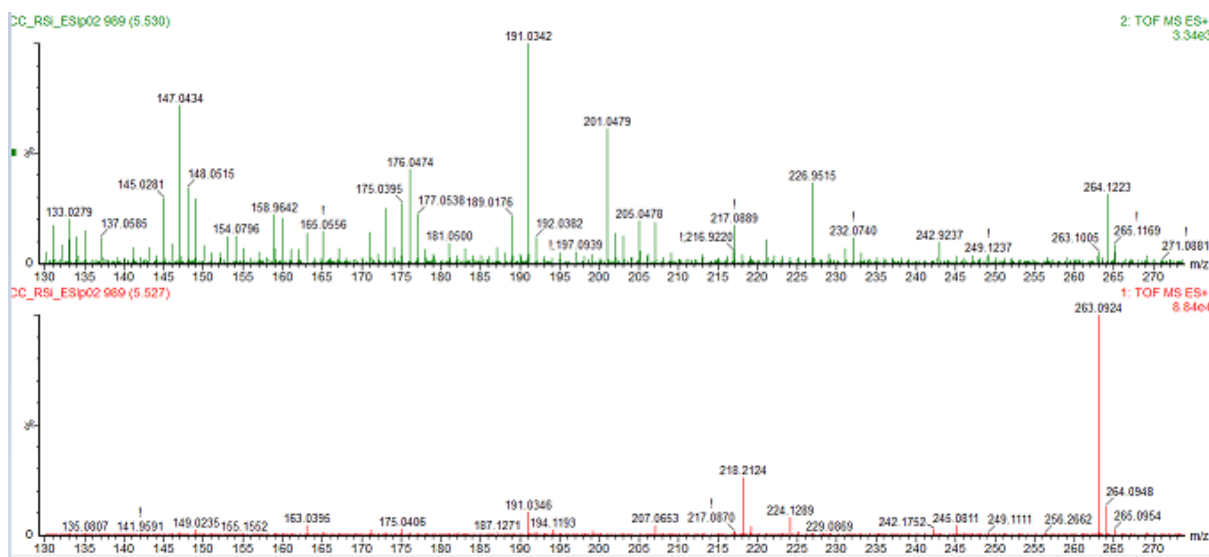
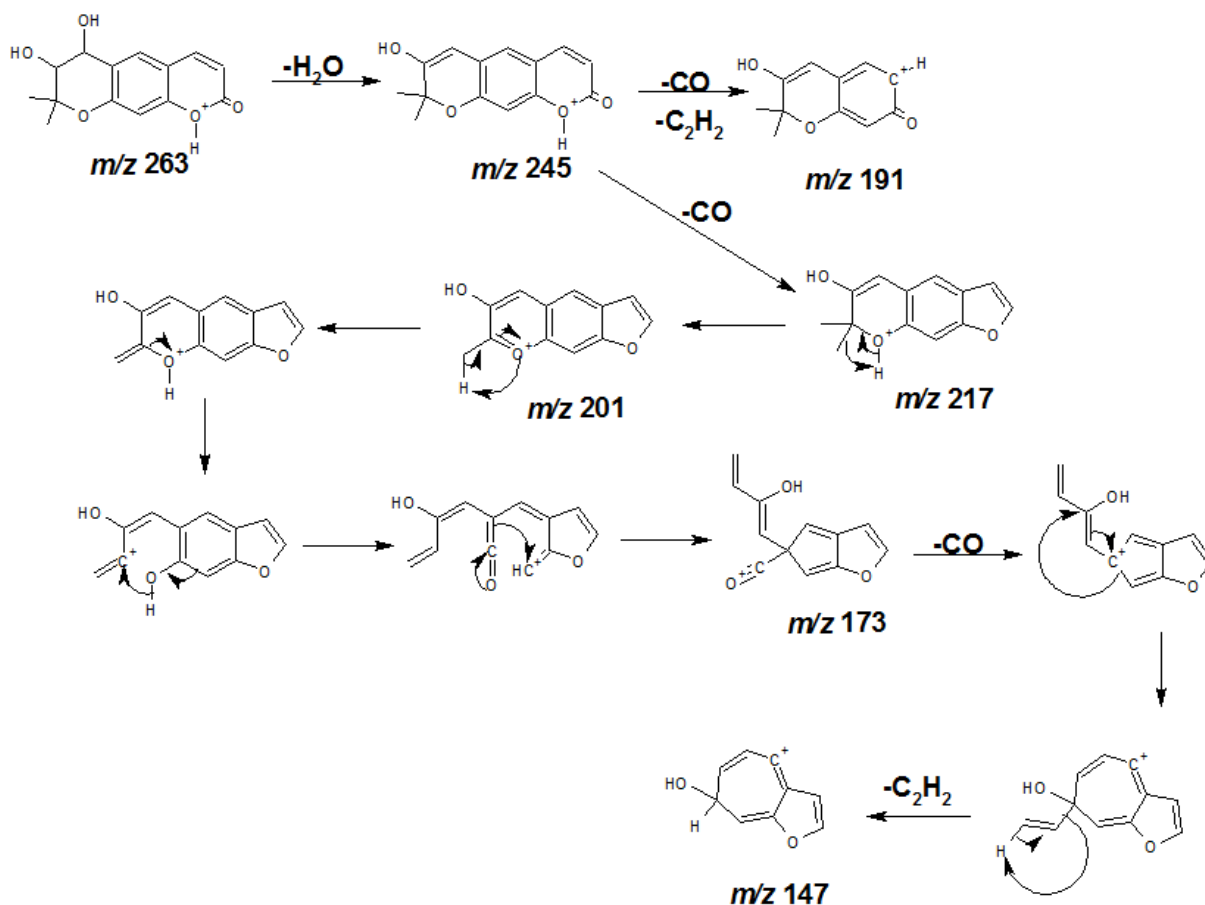


Figura 4-116: Espectro de massas para o íon m/z 263,0924 de t_r de 5,53 min. encontrado nas raízes dos enxertos infectados (*ESI*, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-36: Proposta de fragmentação para odecursinol (ESI, modo positivo)

A análise da banda cromatográfica **10** de t_r de 9,16 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 259,0974 com diferença de massa de 0,1 mDa em comparação à massa teórica calculada para as cumarinas xantoxiletina, luvangetina e 5-metoxiseselina (**Figura 4-20**). Esse íon pseudomolecular já foi previamente identificado nos t_r de 5,68 e 8,72 como sendo a cumarina 5-metoxiseselina e xantoxiletina, respectivamente nas análises feitas entre os pés-francos. Nessas análises entre os enxertos a identidade da banda **10** foi proposta como sendo a cumarina luvangetina e essa proposição foi corroborada pela presença do pico m/z 227 (**Figura 4-117**), discutido anteriormente como característico dessa cumarina (**Esquema 4-6** e **Esquema 4-37**). Desta forma, propõe-se como sendo a banda **10** a cumarina luvangetina, a qual teve uma diminuição de sua concentração de cerca de 2,43 vezes nas raízes das plantas infectadas (**Tabela 4-10**).

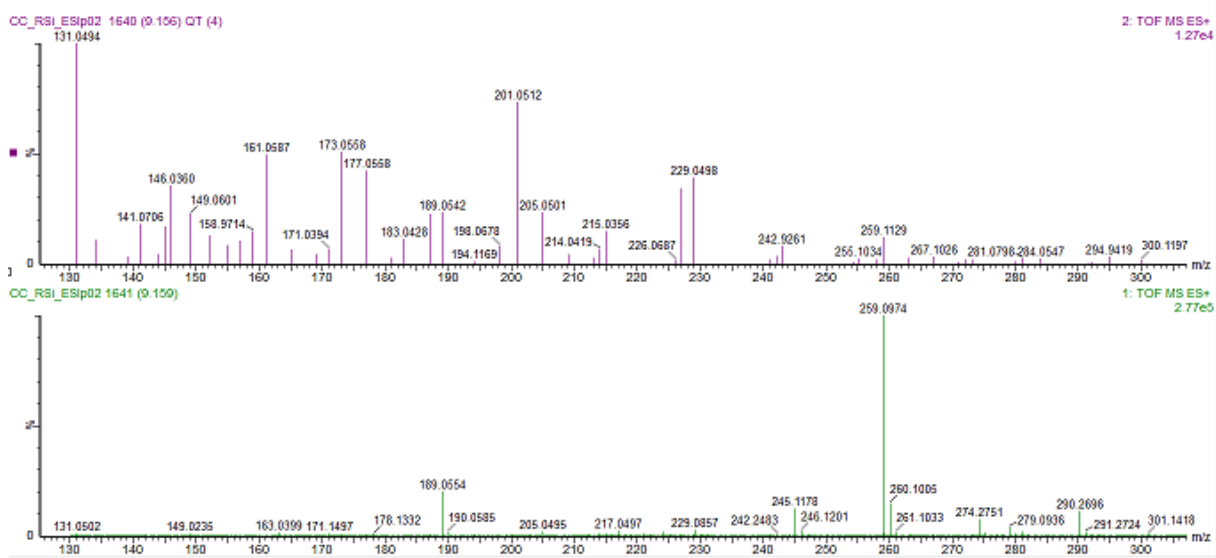
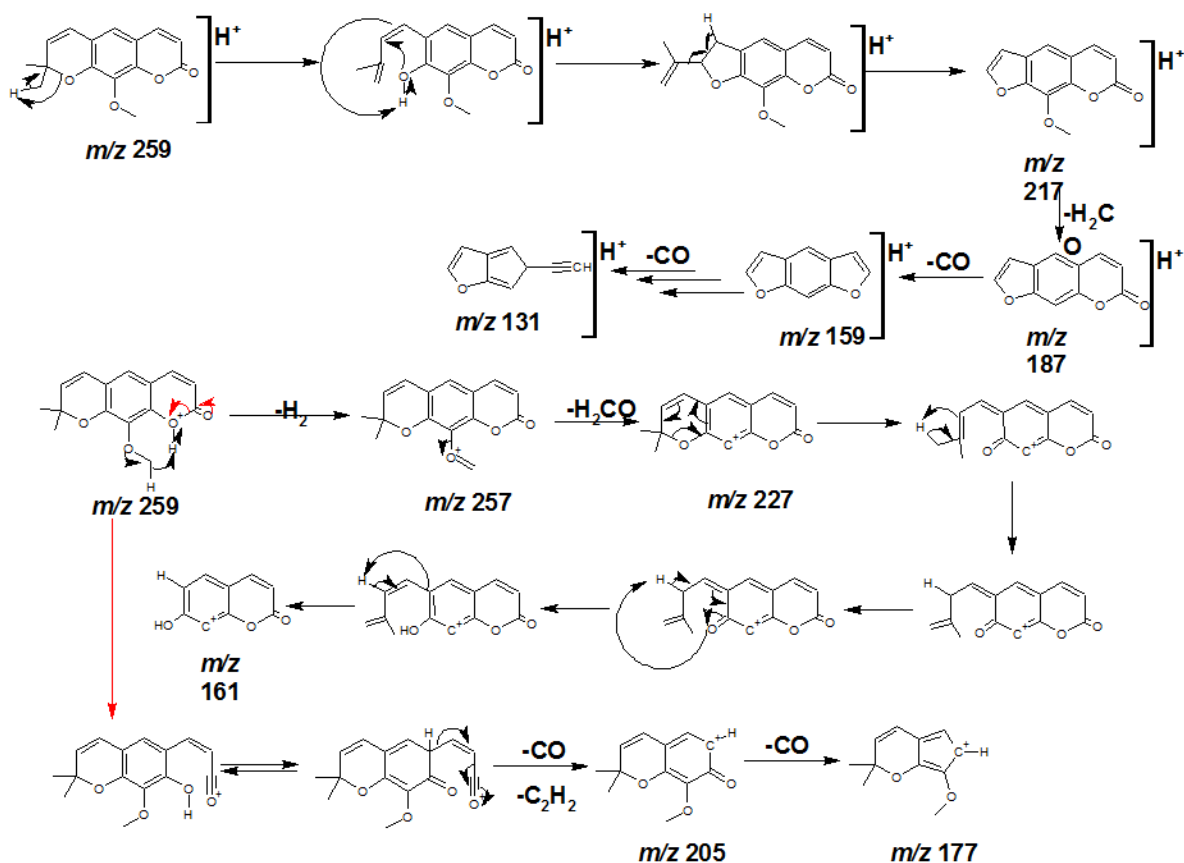


Figura 4-117: Espectro de massas para o íon m/z 259,0974 de t_r de 9,16 min. encontrado nas raízes dos enxertos infectados (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-37: Proposta de fragmentação para a luvangetina(ESI, modo positivo)

As bandas 8,9 não foram identificadas até o momento porque as substâncias com diferença de massa teórica e experimental pequenas eram ácidos

graxos nitrogenados como foi explicado anteriormente não seria possível devido às condições de análises e extração.

Tabela 4-10: Prováveis metabólitos secundários das raízes dos enxertos sadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (ESI positivo).

Banda	t _r (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Varição
1	1,15	367,1864	Bufotenina O-glucosídeo	Infectada	1,67
2	5,53	263,0924	Kelactona ou Decursinol	Sadia	4,03
3	6,57	245,0820	Ostenona ou Suberenona	Sadia	2,18
4	7,11	245,1194	Suberenol	Sadia	14,40
5	7,60	515,2290	Acetato de limonila	Sadia	3,71
6	8,15	229,0869	Seselina	Sadia	1,53
7	8,72	259,0974	Xantoxiletina	Sadia	2,04
8	8,94	274,2752	Desconhecida	Infectada	1,21
9	8,99	318,3014	Desconhecida	Infectada	1,42
10	9,16	259,0974	Luvangetina	Sadia	2,43
11	10,15	313,1445	Nordentatina	Sadia	8,68
12	10,80	327,1596	Desconhecida	Sadia	3,33
13	11,47	381,2061	Clausarina	Sadia	6,51

4.3.10.2 Análises dos caules inferiores dos enxertos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-118) no modo positivo de ionização dos caules inferiores dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 7 bandas cromatográficas (Figura 4-119). As bandas cromatográficas 3 – 7 são as mesmas encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 (página 65) cujos metabólitos secundários correspondentes se encontram na Tabela 4-11.

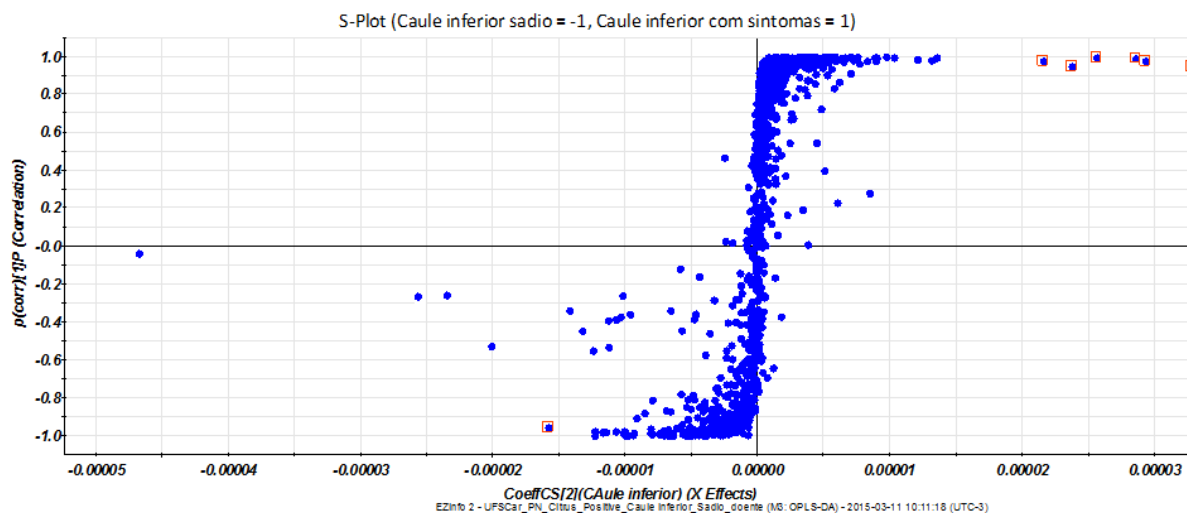


Figura 4-118: Gráfico *S-Plot* dos caules inferiores dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.

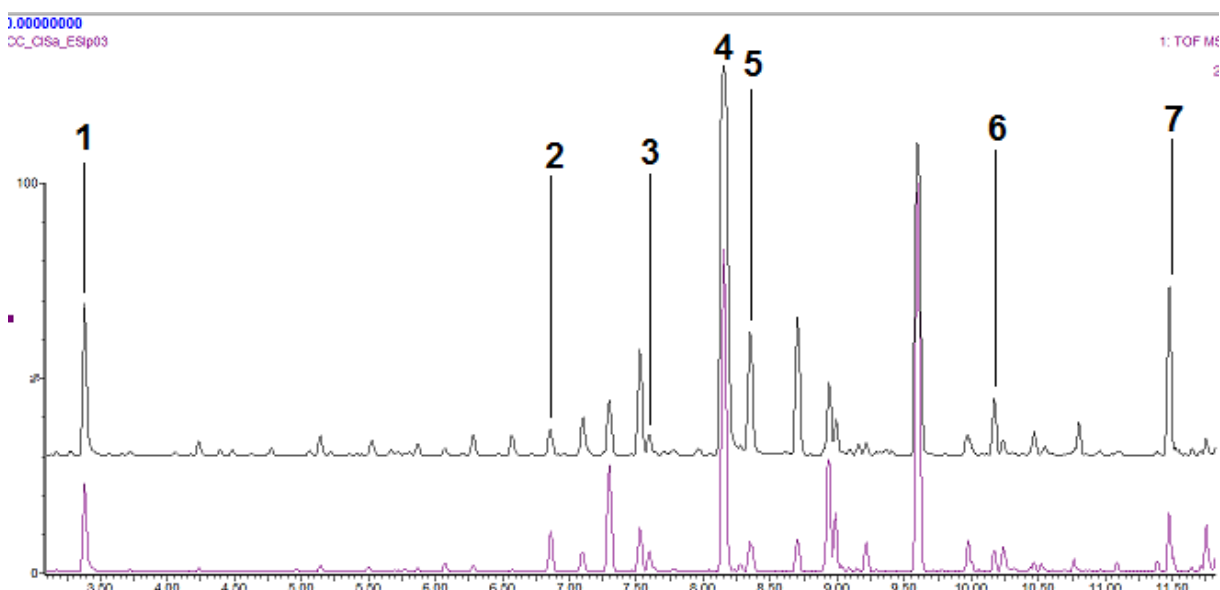


Figura 4-119: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes dos caules inferiores dos enxertos.

A análise da banda cromatográfica 1 de t_r de 3,38min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 274,1449, para o qual não foi encontrado metabólito com massa próxima no banco de dados feito para esse trabalho, contudo uma busca no banco METLIN(SMITH et al., 2005) foi localizado para esse íon o alcaloide lunacrina, o qual apresentou um erro de 1,1mDa entre a massa experimental observada e a teórica calculada (**Figura 4-120**). Esse alcaloide não foi isolado no laboratório de PN da UFSCar em matrizes de espécies de *Citrus*. Entretanto há relatos na literatura do isolamento do alcaloide eskimianina das folhas e caules de *C. unshiu* e *C. aurantium*(OHTA; MIYAZAKI; YAMAKAWA, 1959), sendo biossinteticamente derivado da lunacrina (**Esquema 4-38**). No espectro de massas

de íons produtos (**Figura 4-121**) foi observado fragmentos que condizem com a estrutura desse alcaloide, como perdas de CO e metanal, referente ao grupo metoxila como pode ser observado na proposta de fragmentação no **Esquema 4-39**. Esse alcaloide teve um surpreendente aumento de cerca de 5.10 vezes nos caules infectados em relação aos sadios (**Tabela 4-11**).

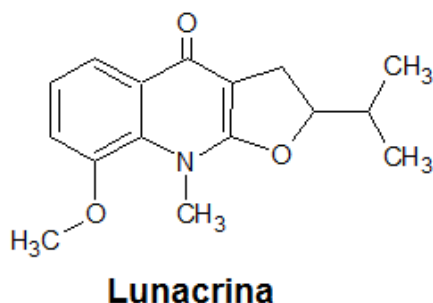
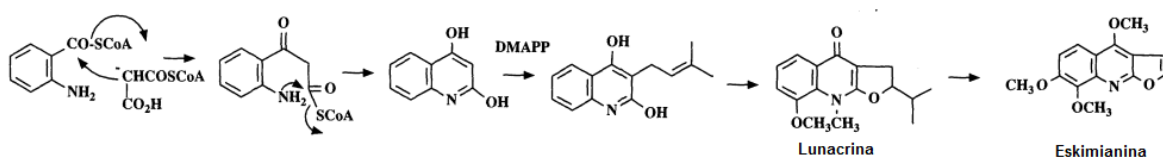


Figura 4-120: Estrutura do alcaloide glicosilado de massa neutra 273,1364Da referente a m/z 274,1449.



Esquema 4-38: Lunacrina como precursora na biossíntese do alcaloide eskimianina (SEIGLER, 1998).

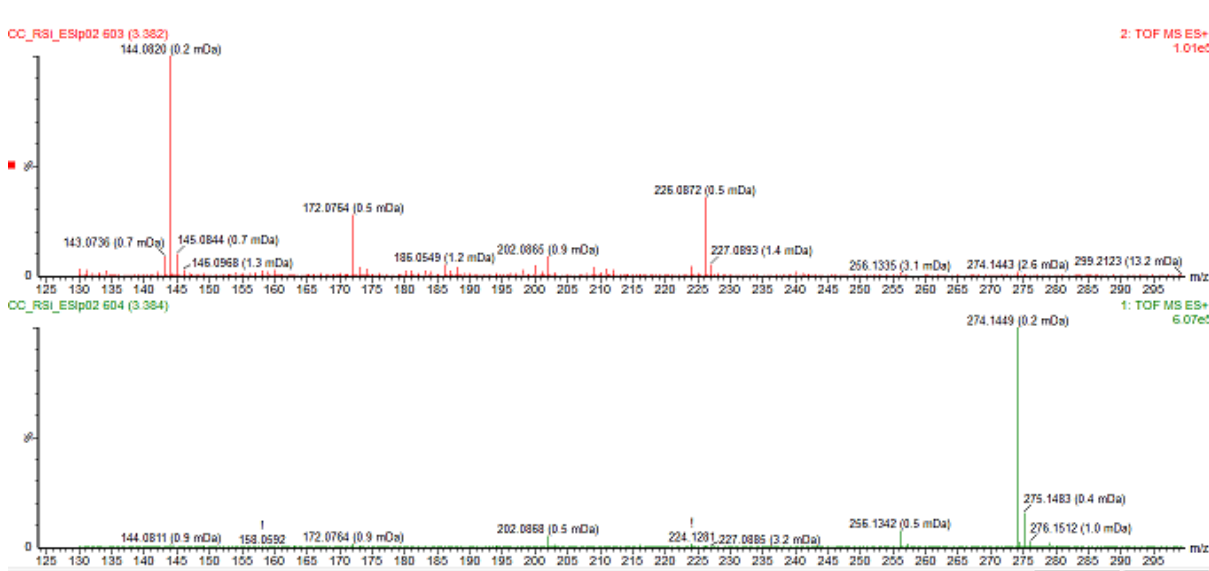
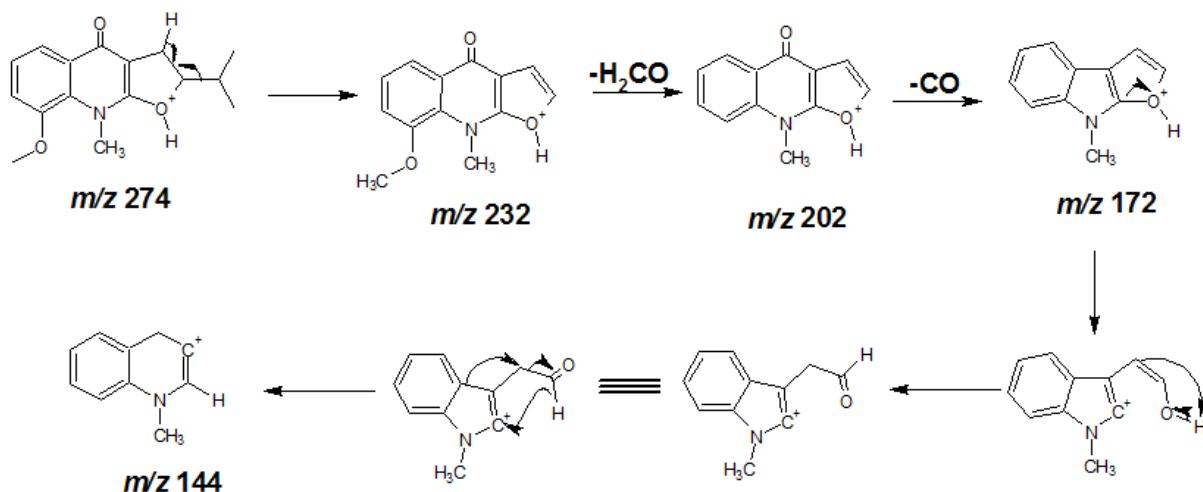
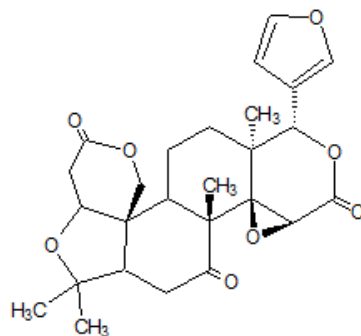


Figura 4-121: Espectro de massas para o íon m/z 274,1449 de t_r de 3,38 min. encontrado nos caules inferiores dos enxertos infectados (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-39: Proposta de fragmentação para a Lunacrina(ESI, modo positivo)

A análise da banda cromatográfica **2** de t_r de 6,86min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 471,2017, adutos de sódio (m/z 493,1828) e $[M+H_3O]^+$ (m/z 488,2272), os quais correspondem a uma diferença de massa de 0,2 mDa para um único limonoide: limonina (**Figura 4-122**). O espectro de íons produtos (**Figura 4-123**) da banda cromatográfica não forneceu fragmentos, sendo observado somente picos de baixa intensidade para m/z 161, m/z 213 e m/z 425, cujas propostas de fragmentação para sua formação seguem no **Esquema 4-40**. A não fragmentação dos limonoides nesse trabalho pode estar associada à formação de adutos de sódios, sendo necessária uma energia de colisão maior, pois a energia utilizada nesse estudo foi uma faixa de 25-35 eV. Na literatura há relatos de ótimas fragmentações alcançadas utilizando CLUE-ESI-QTOF, no modo positivo de ionização e com energia de colisão de 35eV onde os autores observaram vários fragmentos provenientes de $[M+H]^+$ nos limonoides limonina, ichangina, ácido nomilínico, deacetilmomilina, nomilina e obacunona (AVULA et al., 2016). Contudo os dados obtidos permitem confirmar a limonina para banda **2**, o qual foi encontrada numa concentração 1,72 vezes menor na planta doente (**Tabela 4-11**).



Limonina

Figura 4-122: Única estrutura encontrada no banco de dados de massa neutra 470,1940 Da referente aom/z471,2017.

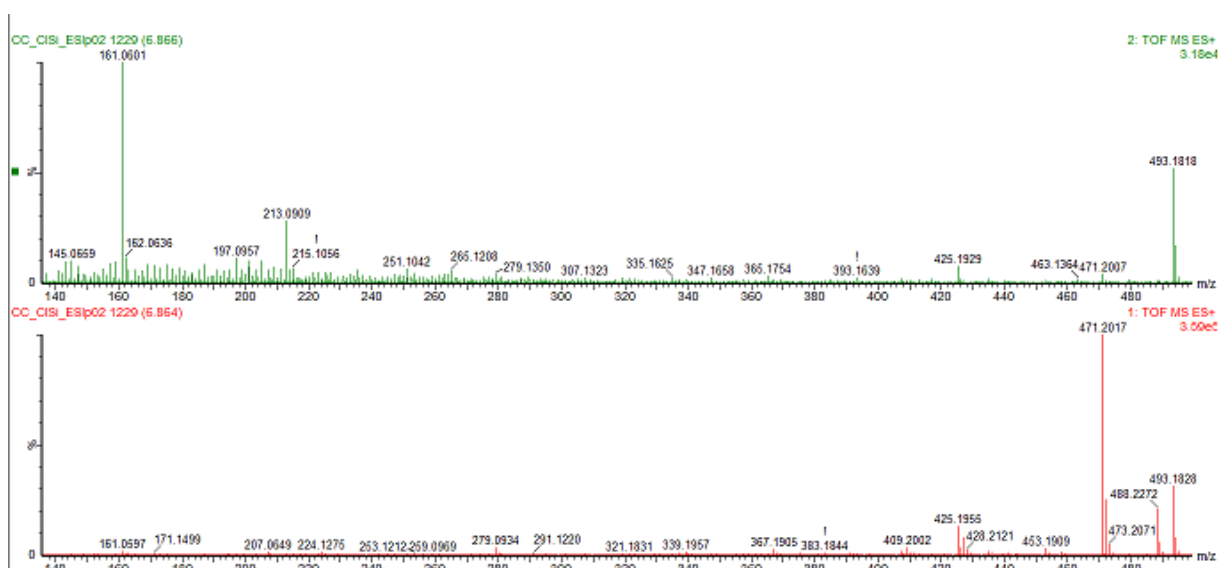
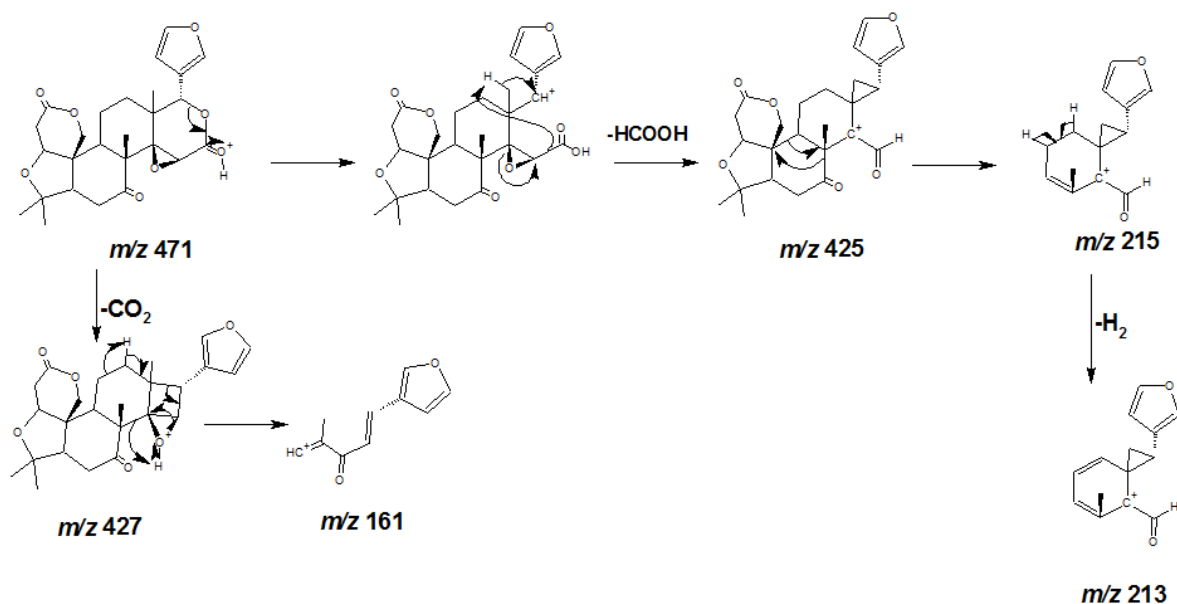


Figura 4-123: Espectro de massas para o íon m/z 471,2017 de t_r de 6,86min. encontrado nos caules inferiores dos enxertos infectados (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-40: Proposta de fragmentação para a limonina (ESI, modo positivo)

Tabela 4-11: Prováveis metabólitos secundários dos caules inferiores dos enxertados e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (ESI positivo).

Banda	t _r (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Varição
1	3,38	274,1452	Lunacrina	Infectada	5,10
2	6,86	471,2017	Limonina	Sadia	1,72
3	7,60	515,2290	Acetato de limonila	Infectada	2,40
4	8,15	229,0869	Seselina	Infectada	7,42
5	8,35	229,0869	Xantiletina	Infectada	4,57
6	10,15	313,1445	Nordentatina	Infectada	6,12
7	11,47	381,2061	Clausarina	Infectada	6,85

4.3.10.3 Análises dos caules superiores dos enxertos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-124) no modo positivo de ionização dos caules superiores dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 9 bandas cromatográficas (Figura 4-125). As bandas cromatográficas 1, 2, 4, 5, 7, 8 e 9 são as mesmas encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 (página 65) cujos metabólitos secundários correspondentes se encontram na Tabela 4-12.

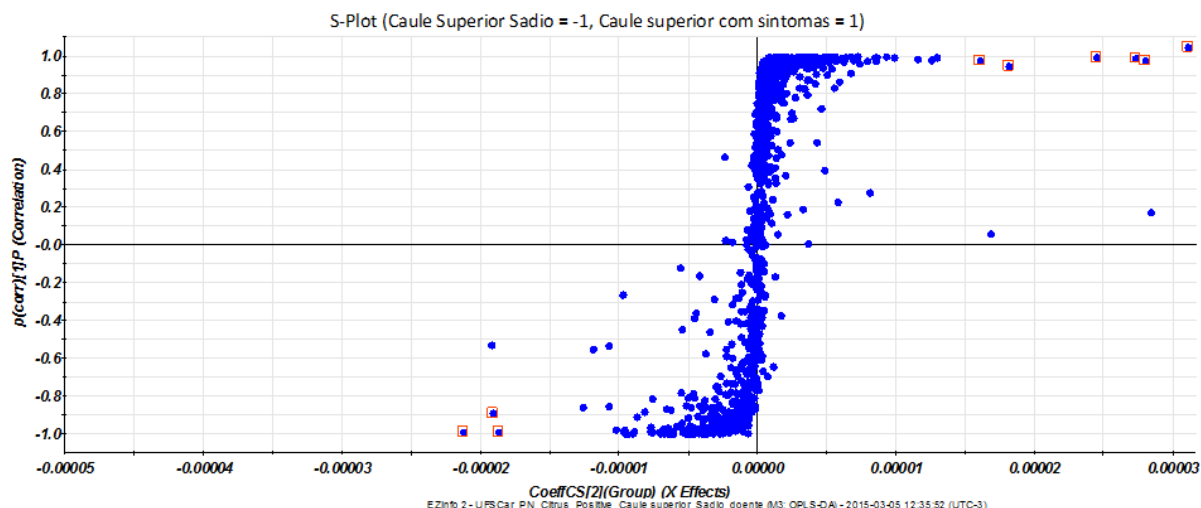


Figura 4-124: Gráfico *S-Plot* dos caules superiores dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.

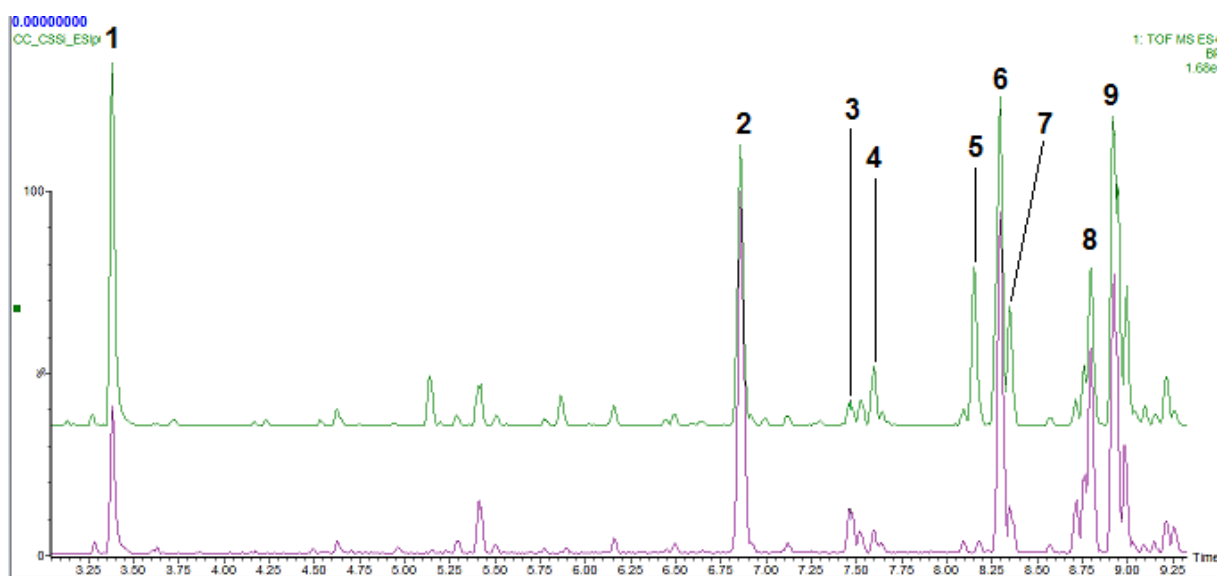


Figura 4-125: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes dos caules superiores dos enxertos.

A análise da banda cromatográfica **3** de t_r de 7,47min. mostrou o íon pseudomolecular $m/z728,3976$ e aduto de sódio ($m/z750,3976$), os quais possuem uma diferença de massa de 0,7 mDa para os ciclopeptídeos citrusinaIII e citrusina XI (**Figura 4-126**). No espectro de íons produtos (**Figura 4-127**) não foi observada fragmentações que justificassem a presença de um dos dois ciclopeptídeos. Na literatura foi relatado o isolamento e caracterização total da citrusina XI de cascas dos fruto de *C. unshiu*, onde o autor fez experimento de massas de alta resolução e obteve um valor de massa acurada experimental de $m/z728,3976$ (NOH et al., 2015), a identidade do $m/z728,3976$ obtido para a banda **3** com esse para a citrusina XI, permite sugerir a presença desse peptídeo, contudo, os dados não são

sólidos para confirma-lo. Esse ciclopeptídeo já foi isolado das cascas de frutos de *C. sinensis* assim como em outras espécies do gênero (MATSUBARA et al., 1991; MORITA et al., 2007; KUROYANAGI et al., 2008; WEN-WEN et al., 2014), nos levando a acreditar que a citrusina XI deve corresponder à banda **3**.

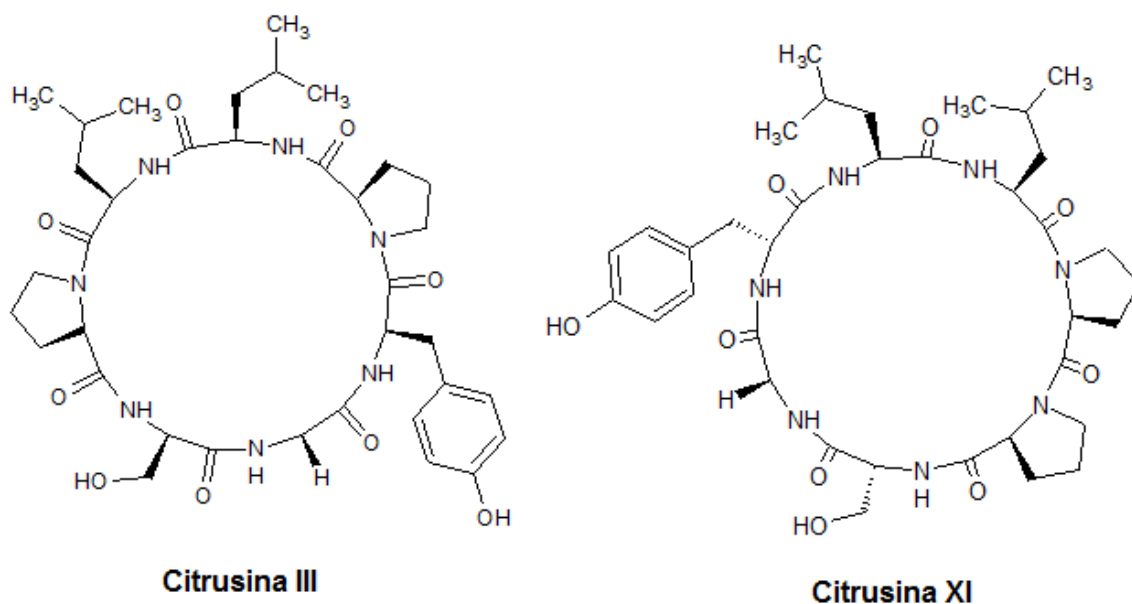


Figura 4-126: Estrutura dos ciclopeptídeos de massa neutra 727,3904Da referente aom/z728,3976.

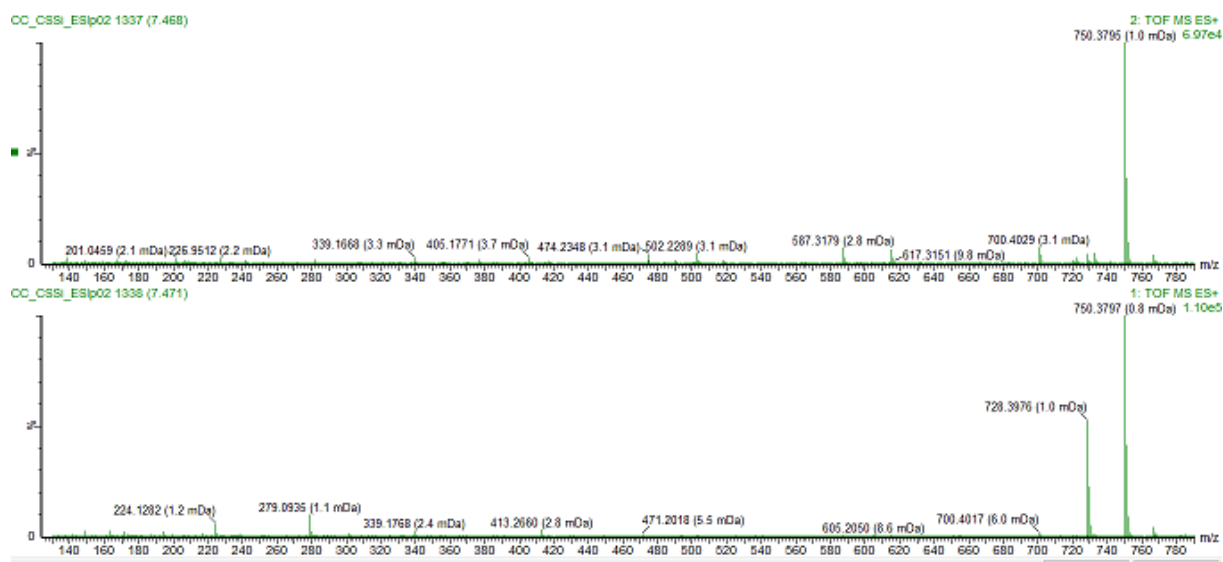


Figura 4-127: Espectro de massas para o íon m/z 728,3976 de t_r de 7,47 min. encontrado nos caules superiores dos enxertos infectados (*ESI*, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).

A análise da banda cromatográfica **6** de t_r de 8,29 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 373,1286 e $[M+Na]^+$ (m/z 395,1110), os quais possuem uma

diferença de massa de 0,2 mDa entre as massas teóricas calculadas para as flavonas pentametoxiladas sinensetina, tangeretina, aurantenina, 5-demetoxinobiletina e 6-demetoxinobiletina (**Figura 4-128**). O espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-129**) do íon pseudomolecular m/z 373,1286, não forneceu picos característicos de fragmentações do tipo RDA direto desse íon, entretanto foram constatados fragmentos de RDA de m/z 163 e m/z 181 provenientes do íon m/z 343 formado do íon precursor por perda de metanal (**Esquema 4-41**). O pico de m/z 181 indica ainda que a perda da metoxila do flavonoide se deu no anel A. O pico m/z 153 derivado desse anterior pela perda de CO reforça essa proposta. A formação desses íons podem ocorrer em todas as flavonas propostas, exceto na tangeretina a qual possui somente uma metoxila no anel B e não permitindo a formação do m/z 163. Foi observado também picos referentes à perdas de CH_4 e posterior formação de metilenodióxi e de uma segunda perda de CH_4 , formando outro grupo metilenodióxi, m/z 357 e m/z 311, o que levou a descartar a aurantenina para a banda 6, pois esta não possui dois pares de metoxilas próximos para a formação dessa grupo (**Esquema 4-41**). O pico m/z 358 de baixa intensidade, oriundo da perda de um radical CH_3 do íon molecular, sugere ser esta em C-5 levando a íon radicalar estabilizado pela carbonila protonada em C-4. Considerando essa explicação aceitável, a flavona 5-demetoxinobiletina também seria descartada. Assim a banda 6 poderia corresponder a sinensetina ou 6-demetoxinobiletina. Uma dessas duas flavonas aparece em uma concentração (1,84 vezes) maior no caule inferior infectado (**Tabela 4-12**).

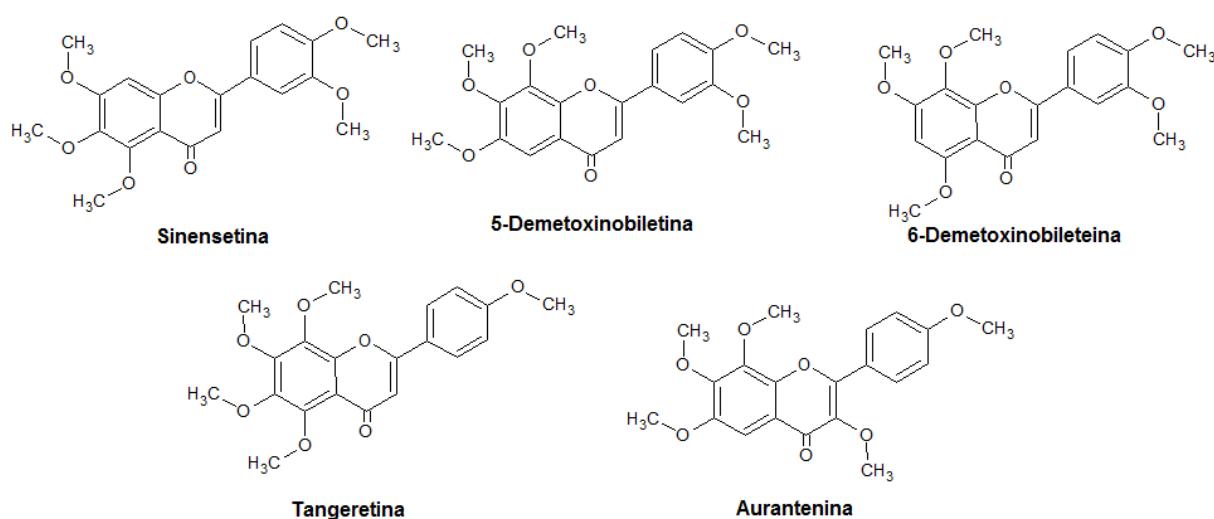


Figura 4-128: Estrutura das flavonas pentametoxiladas de massa neutra 372,1209 Da referente aom/z373,1286.

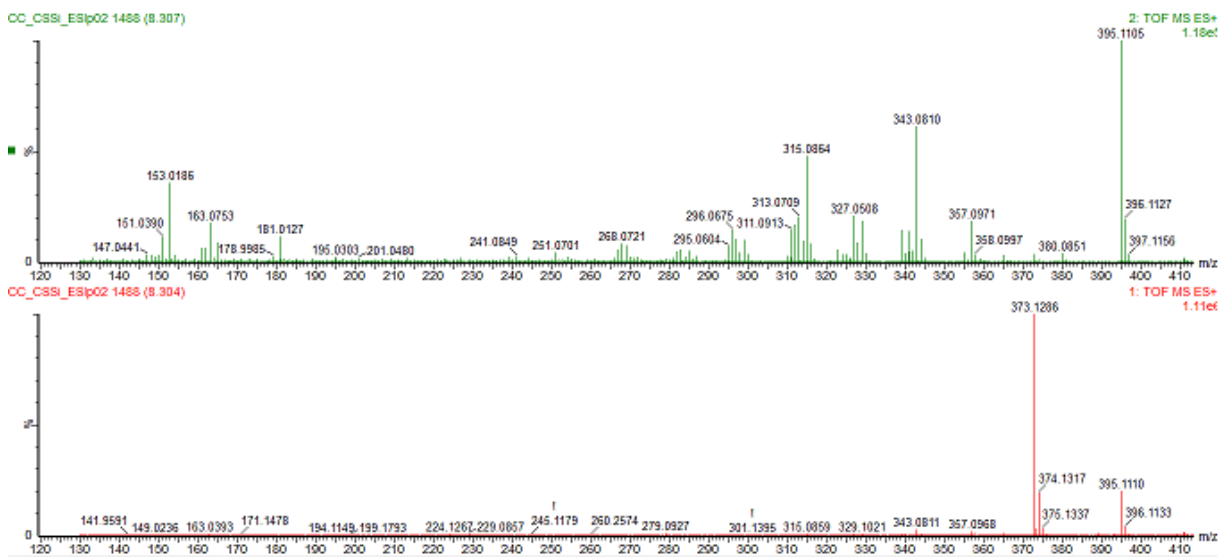
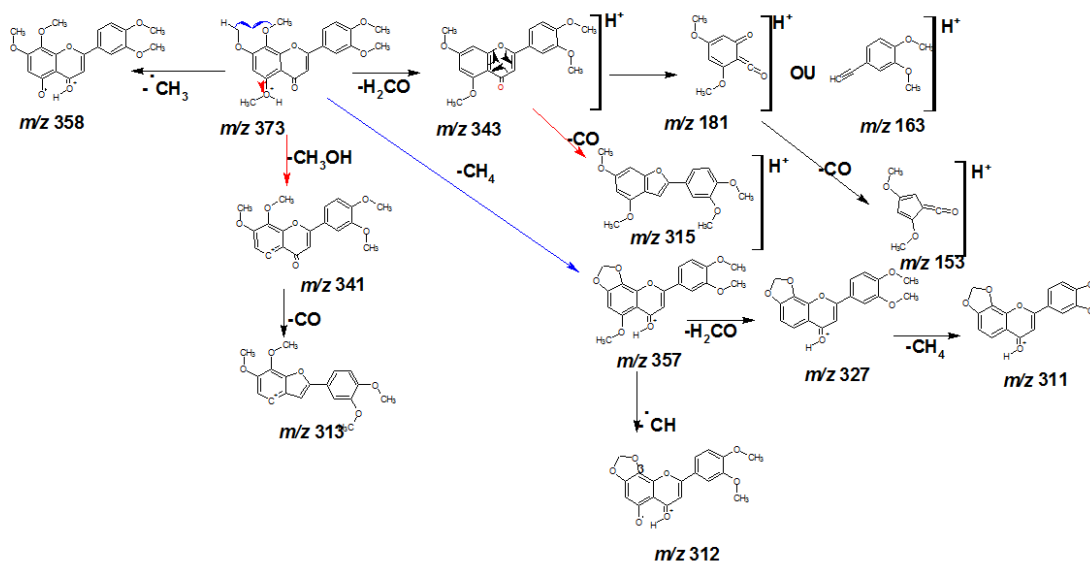


Figura 4-129: Espectro de massas para o íon m/z 373,1286 de t_r de 8,29 min. encontrado nos caules superiores dos enxertos infectados (ESI, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-41: Proposta de fragmentação para a 6-Demetoxinobiletina (ESI, modo positivo)

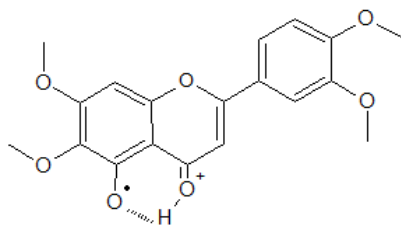


Figura 4-130: Proposta de estabilização do radical formado referente ao pico *m/z* 358 observado.

Tabela 4-12: Prováveis metabólitos secundários dos caules superiores dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (ESI positivo).

Banda	<i>t_r</i> (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Variação
1	3,38	274,1452	Lunacrina	Infectada	2,85
2	6,86	471,2017	Limonina	Sadia	1,04
3	7,47	728,3976	Citrusinalll ou Citrusina XI	Sadia	1,36
4	7,60	515,2290	Acetato de limonila	Infectada	2,64
5	8,15	229,0869	Seselina	Infectada	DUE*
6	8,29	373,1286	6-Demetoxinobiletina ou Sinensetina	Infectada	1,84
7	8,35	229,0869	Xantiletina	Infectada	1,42
8	8,79	343,1188	6-Demetoxitangeretina ou 5,6,7,4'-Tetrametoxiflavona	Sadia	1,11
9	8,94	274,2752	Desconhecida	Infectada	1.29

*DUE – Detectado em uma Único Enxerto

4.3.10.4 Análises das folhas dos enxertos no modo positivo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-131) no modo positivo de ionização das folhas dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 10 bandas cromatográficas (Figura 4-132). As bandas cromatográficas 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9 e 10 são as mesmas encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 (página 65), como também nas análises nos outros órgãos dos enxertos discutidos anteriormente, cujos metabólitos secundários se encontram na Tabela 4-13.

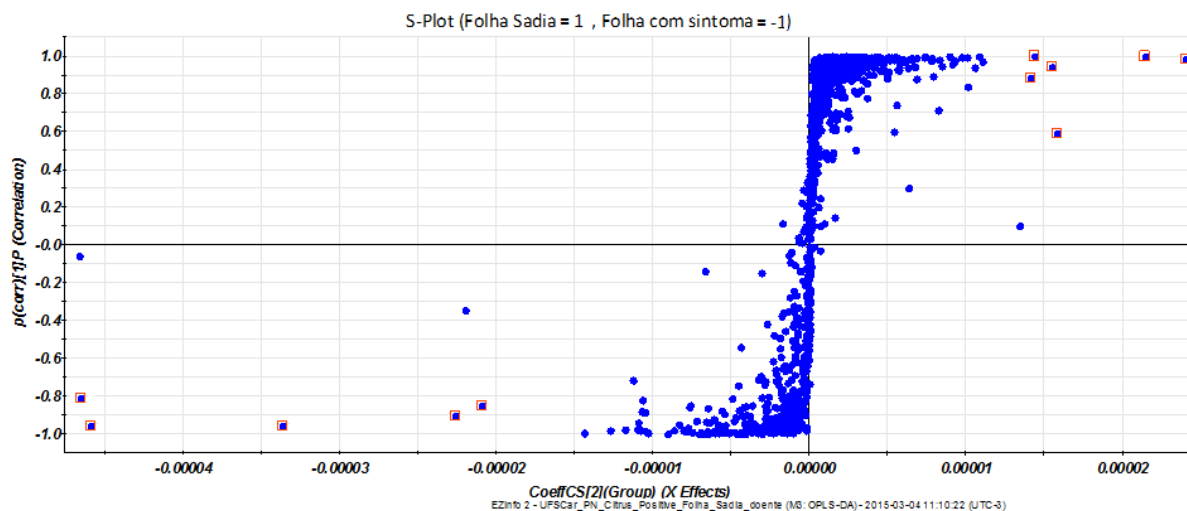


Figura 4-131: Gráfico *S-Plot* das folhas dos enxertossadios e infectados no modo positivo de ionização.

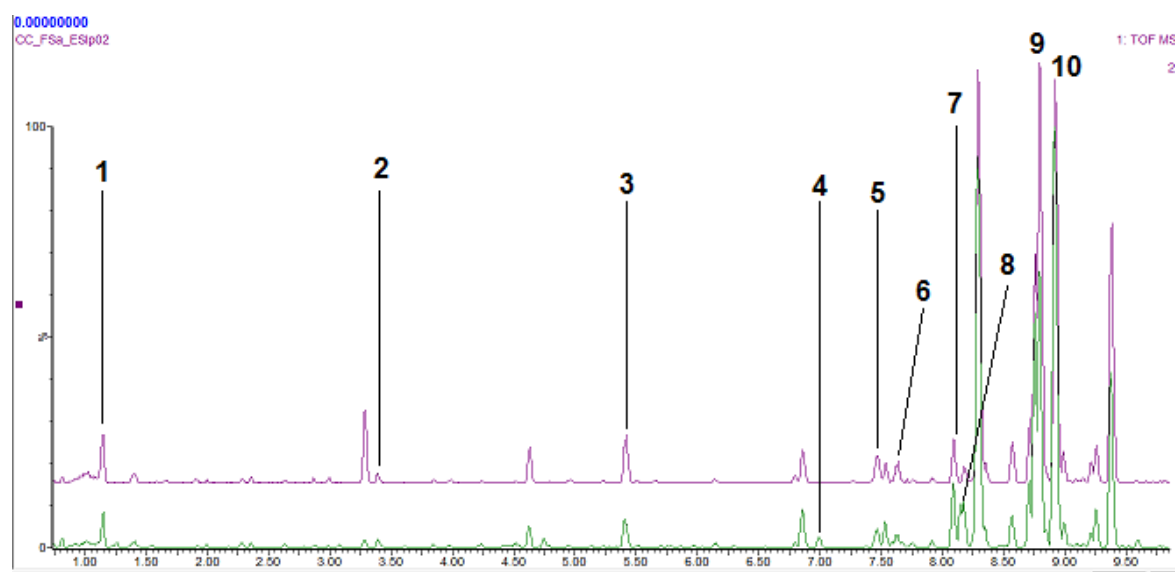


Figura 4-132: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes das folhas dos enxertos.

A análise da banda cromatográfica 3 de t_r de 5,41 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 611,1970 e $[M+Na]^+$ (m/z 633,1793) os quais possuem uma diferença de massa de 0,6 mDa em relação às massas teóricas calculadas para as flavanonas glicosiladas homoeridictiol-7-o-neohesperidose, homoeridictiol-7-o-rutinose, neohesperidina, hesperidina e 3,5-diidroxi-3'-metoxiflavanona-7-o-neohesperidose (**Figura 4-133**), as quais possuem fórmula molecular $C_{28}H_{34}O_{15}$. No espectro do íon molecular (**Figura 4-134**) é observado o íon m/z 303 referente à perda de 308 Da, correspondente à neohesperidose ou rutinose, com em flavonoides glicosilados com dissacárides. O fragmento m/z 449 é referente à perda de 162 Da do açúcar rhamnose, reforçando a presença da rutinose no qual a

rhamnose está ligada a glucose em uma relação 1→6 (**Figura 4-135**). Na literatura há relatos de diferenciação desses dois tipos de dissacarídeos em flavonoides, contudo para tal é necessário trabalhar com baixas energias, já que os flavonoides O-glicosilados, possuem ligações glicosídicas instáveis que podem sofrer fragmentações e rearranjo mesmo durante o processo de ionização. (CUYCKENS; CLAEYS, 2004). Foi observado também fragmento proveniente de RDA (m/z 153) (**Esquema 4-42**) após a prévia perda do dissacarídeo, entretanto não foi possível obter uma diferenciação entre os flavonoides já citados, pois a metoxila se encontra no anel B em todos eles, contudo não foi observado nenhuma perda de água, fragmento aglicona menos 18 Da ou íon pseudomolecular $[M-H_2O-H]^-$, levando a eliminar o flavanona 3,5-Dihidroxi-3'-metoxiflavanona-7-O-neohesperidose de ser um dos flavonoides referente à banda **3**. Ainda assim, essa banda não pode ser proposta a um único desses quatro flavonoides. Contudo, em estudos de interação *Citrus* e patógeno a flavanona hesperidina estava presente como substância que mais variava em concentração, como foi observado nos trabalhos de Soare (2011; 2014), Bellete, (2014) e Isidoro, (2013). Essa informação nos leva a inferir que a banda **10** tem grande possibilidade de ser a hesperidina, pois nesse trabalho ela aparece numa concentração (1,13 vezes) maior nas folhas doentes (Tabela 4-13 Tabela 4-13: Prováveis metabólitos secundários das folhas dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico S-plot (ESI positivo)).

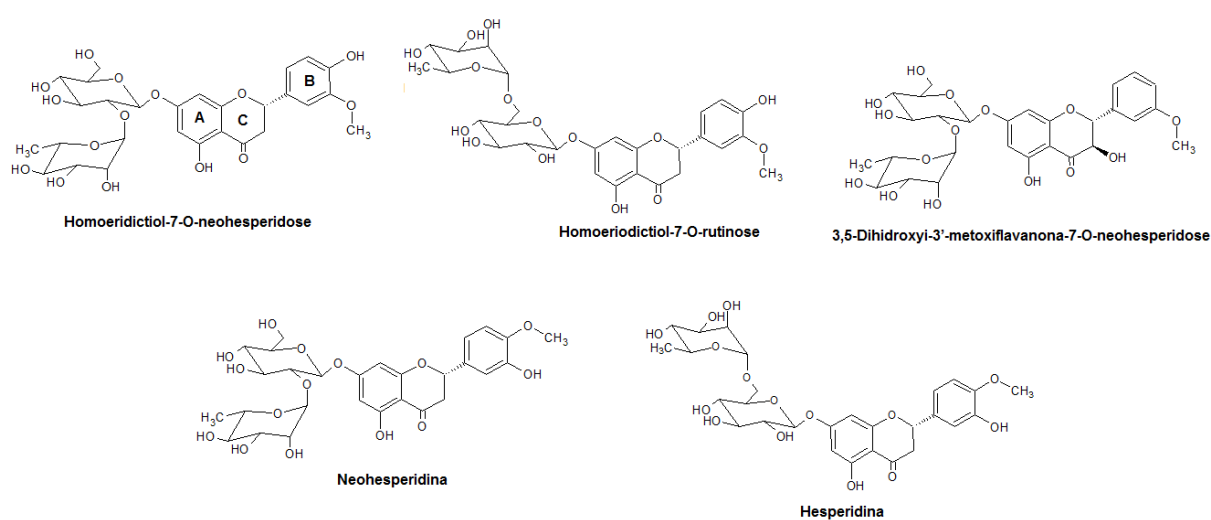


Figura 4-133: Estrutura das flavanonas glicosiladas de massa neutra 610,1897Da referente a m/z 611,1970.

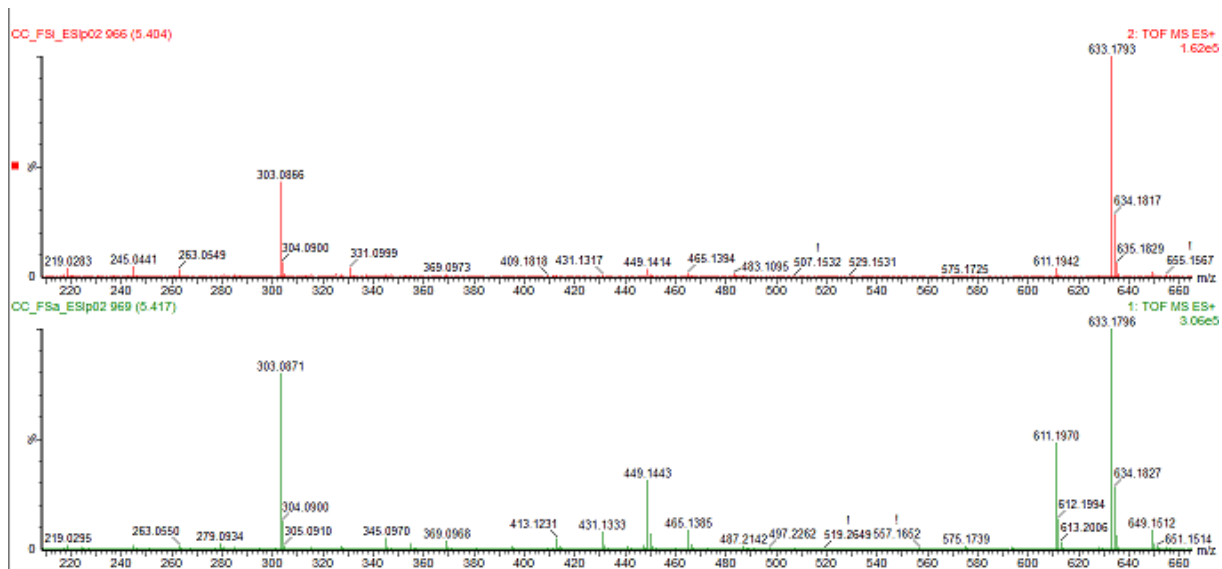
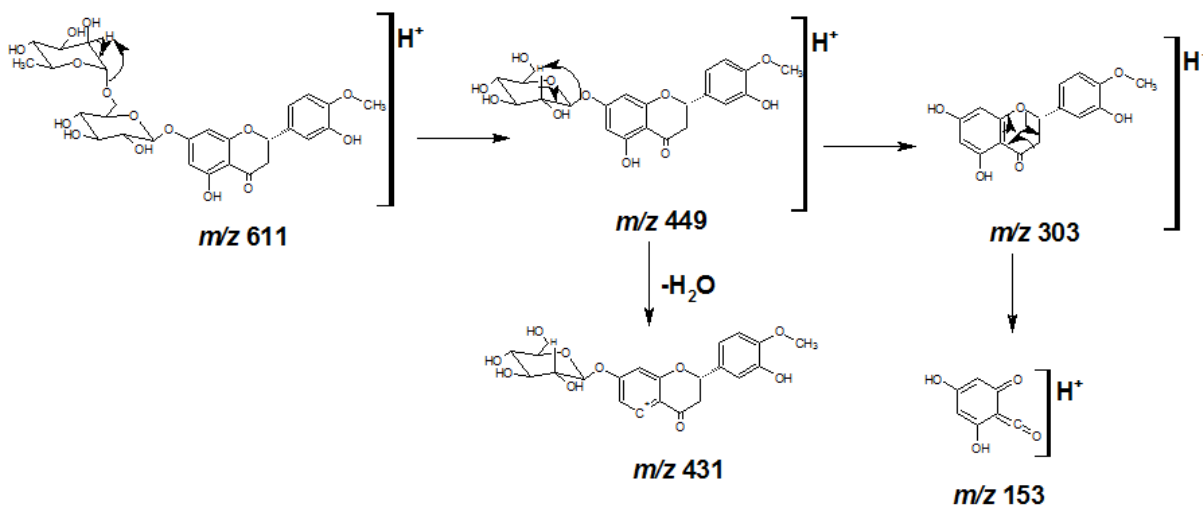


Figura 4-134: Espectro de massas para o íon m/z 611,1970 de t_r de 5,41min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (*ESI*, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-42: Proposta de fragmentação para a hesperidina (*ESI*, modo positivo)

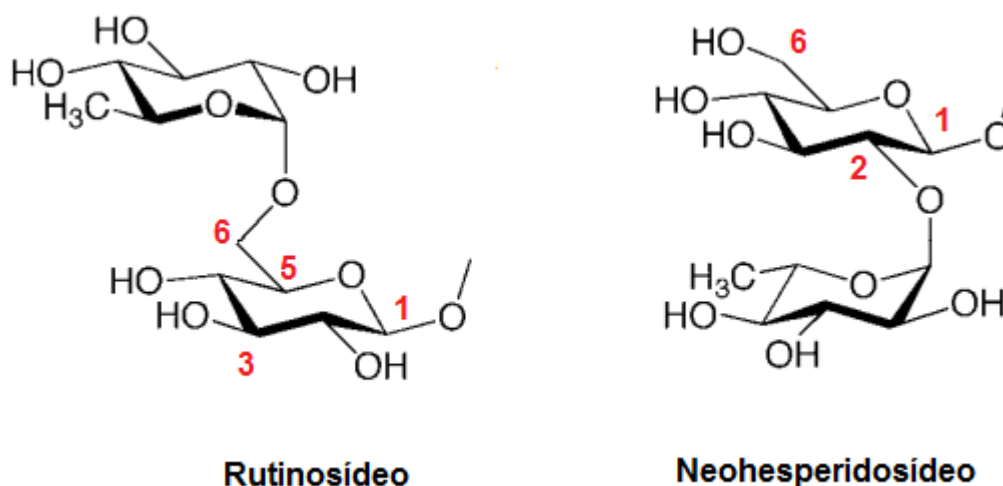


Figura 4-135: Estrutura dos dissacarídeos rutinose e neohesperidosee posição das suas ligações interglicosídicas

A análise da banda cromatográfica 7 de t_r de 8,10 min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 373,1288 e $[M+Na]^+$ (m/z 395,1099) os quais possuem diferença de massa de 0,3 mDa entre as massas teóricas calculadas para as flavonas pentametoxiladas sinensetina, tangeretina, aurantenina, 5-demetoxinobiletina e 6-demetoxinobiletina (**Figura 4-128**). O espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-136**) do íon pseudomolecular m/z 373,1286, forneceu picos correspondendo a fragmentação similares àquelas propostas para a banda 6. Por exemplo, os fragmentos RDA de m/z 167 e m/z 181 neste experimento também permite descartar a tangeretina. Contudo, para a banda 7 observou-se somente um pico referente à perda de CH_4 e posterior formação de metilenodioxila em m/z 357, o que levou a descartar a sinensetina, 5-demetoxinobiletina e 6-demetoxinobiletina. Assim, pode-se atribuir a banda 7 ao flavonoide aurantenina, o qual permite explicar as fragmentações obtidas (**Esquema 4-43**). Este flavonoide aumenta 1,58 vezes nas folhas infectadas (**Tabela 4-13**)

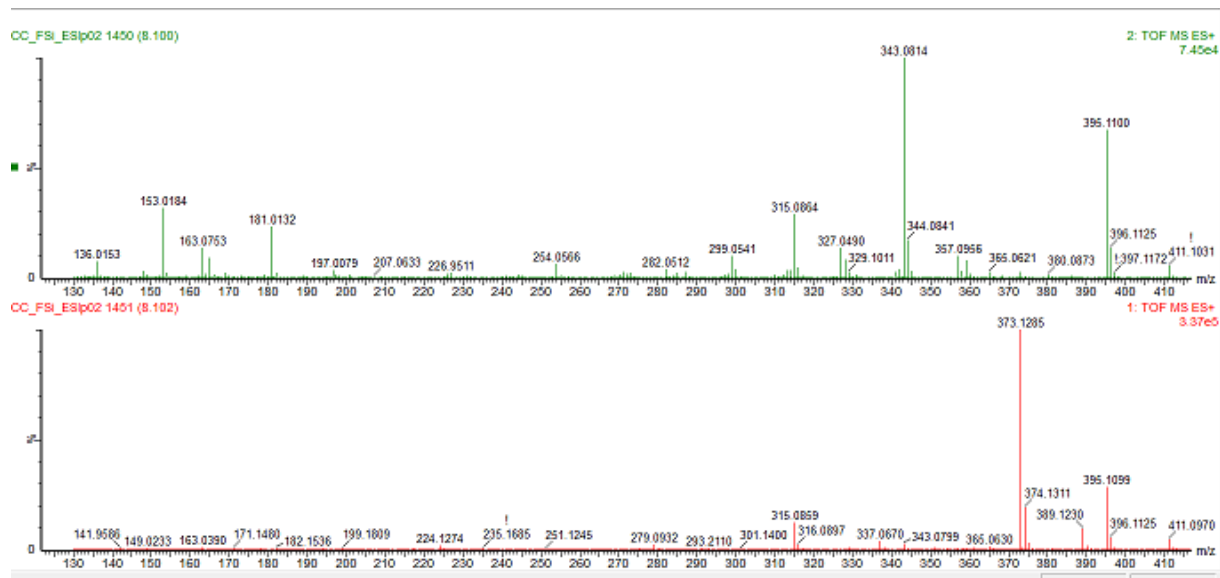
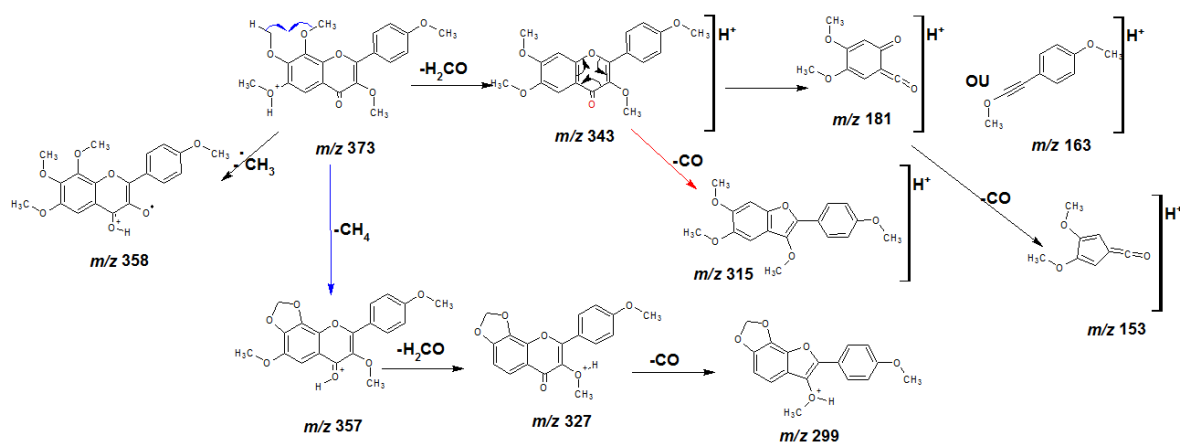


Figura 4-136: Espectro de massas para o íon m/z 373,1288 de t_r de 8,10 min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (*ESI*, modo positivo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-43: Proposta de fragmentação para a Aurantienina (*ESI*, modo positivo)

Tabela 4-13: Prováveis metabólitos secundários das folhas dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (*ESI* positivo).

Banda	t _r (min)	[M+H] ⁺	Substância	Maior Produção	Varição
1	1,15	367,1864	Bufotenina O-glucosídeo	Sadia	1,06
2	3,38	274,1452	Lunacrina	Infectada	4,02
3	5,42	611,1970	FOG**	Infectada	1,13
4	7,00	217,0504	Bergapteno	Infectada	DUE*
5	7,47	728,3976	Citrusinalll ou Citrusina XI	Sadia	1,11
6	7,60	515,2290	Acetato de limonila	Sadia	1,63
7	8,10	373,1288	Aurantenina	Infectada	1,58
8	8,15	229,0869	Seselina	Infectada	DUE*
9	8,79	343,1188	6-Demetoxitangeretina ou 5,6,7,4'-Tetrametoxiflavona	Sadia	1,06
10	8,91	403,1393	Nobiletina	Infectada	1,47

*DUE – Detectado em um Único Exerto

**FOG (Flavonoide O-Glicosilado)- Homoeridictiol-7-O-neohesperidose, Homoeridictiol-7-O-rutinose, Neohesperidina ou Hesperidina

4.3.11 Análises discriminantes dos biomarcadores via *S*-plot dos enxertos das análises no modo negativo de ionização

4.3.11.1 Análises das raízes dos enxertos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-137) no modo negativo de ionização das raízes dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 9 bandas cromatográficas (Figura 4-138). As bandas cromatográficas 2 – 4 e 6 – 9 são as mesmo encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 e 4.3.6 (página 65 e 103) cujos metabólitos secundários encontram-se na Tabela 4-14.

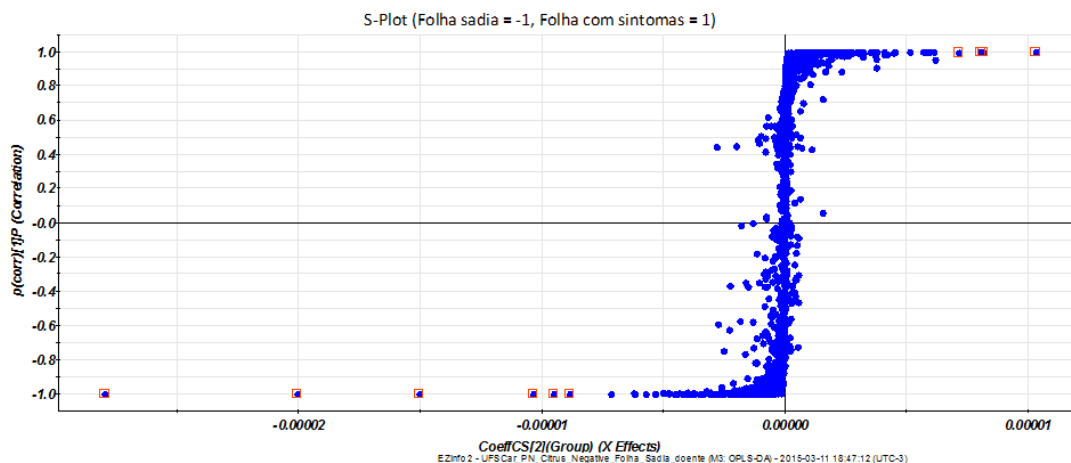


Figura 4-137: Gráfico *S-Plot* das raízes dos enxertossadios e infectados no modo negativode ionização.

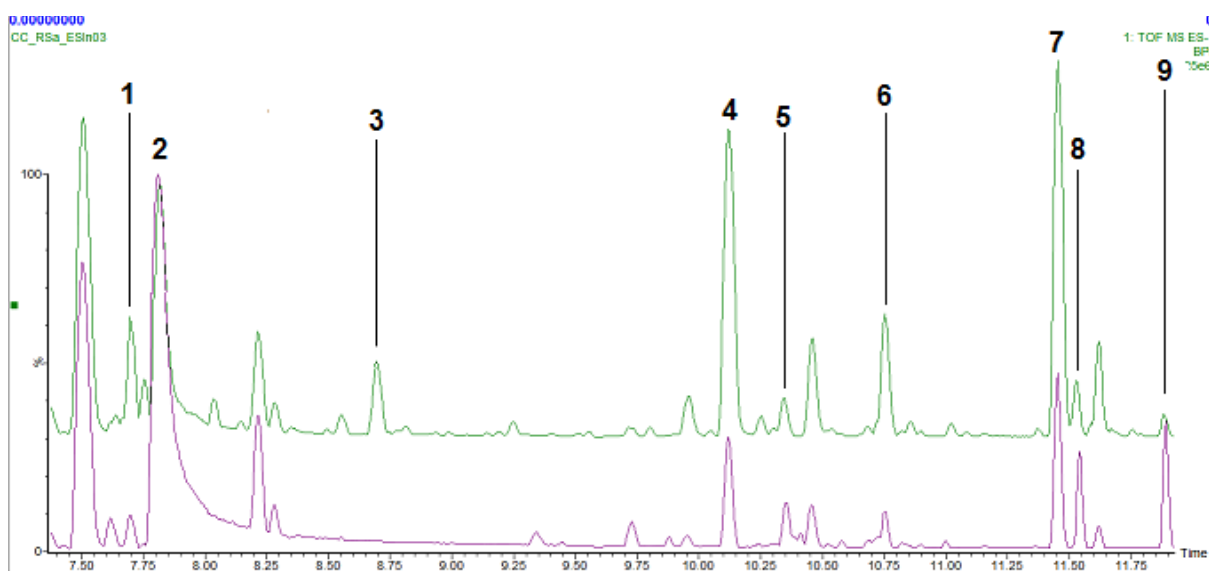


Figura 4-138: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes das raízes dos enxertos.

A análise da banda cromatográfica 1 de t_r de 7,70min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 229,0862, o qual mostrou uma diferença de massa de 0,1 mDa para as cumarinas preniladas 7-Demethoxisuberosina e Ostenol (**Figura 4-67**). Essas duas cumarinas foram à banda 3, sugerindo tratar aqui de outro isômero. No espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-139**) foi observado as mesmas fragmentações discutidas (**Esquema 4-22**). Essas perdas são comuns para as duas cumarinas e não foi constatado fragmento algum que pudesse diferenciá-las, como também não foi encontrado na literatura dados de fragmentação dessas cumarinas por *ESI* no modo negativo, sendo assim a banda 1 e 3 não puderam ser devidamente identificada, a cumarina da banda 1 foi 3,83

vezes menor nas raízes infectadas e a **3** não foi sequer detectada após o processo de infecção do enxerto (**Tabela 4-14**).

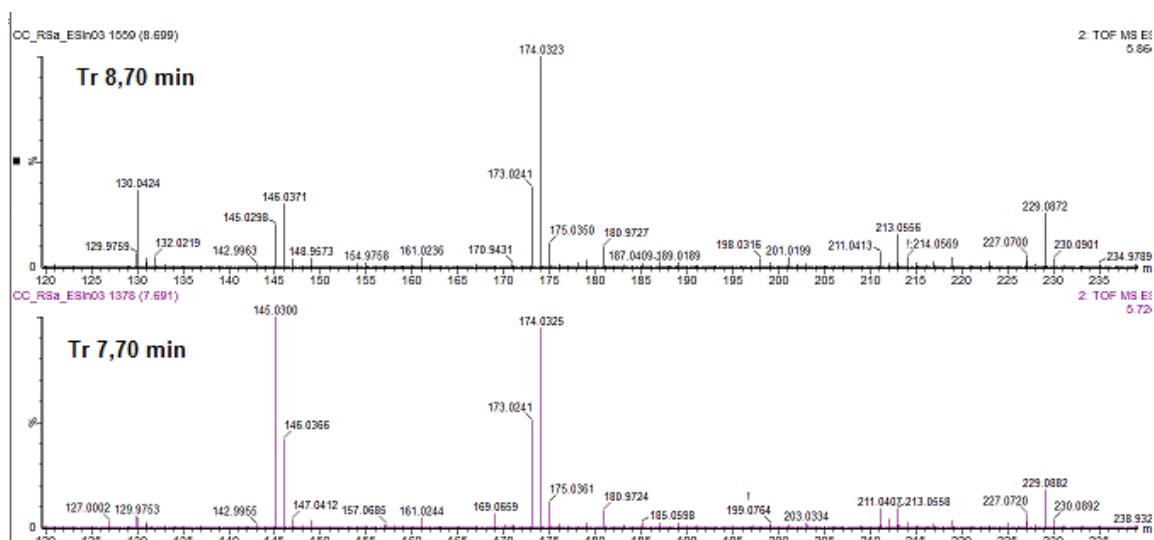


Figura 4-139: Espectro de massas para o íon $m/z229$ encontrado nos t_r de 7,70min. e t_r de 8,70encontrado nas raízes dos enxertos infectados (*ESI*, modo negativo).

As bandas de 5, 8 e 9 que apresentaram baixa diferença de massa entre a teórica e a experimental e eram ácidos graxos de baixa polaridade, não sendo cabível de detecção nesse estudo devido ao fato dos extratos trabalhados nesse trabalho serem hidroalcolóicos e a fonte de ionização de *ESI* não ser eficiente na ionização de compostos com baixo grau de polaridade.

Tabela 4-14: Prováveis metabólitos secundários das raízes dos enxertos sadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S-plot* (*ESI* negativo).

Banda	t_r (min)	$[M-H]^+$	Substância	Maior Produção	Varição
1	7,70	229,0863	Ostenol ou 7-Demetoxisuberosina	Sadia	3,83
2	7,81	988,2899	Desconhecida	Infectada	2,00
3	8,70	229,0867	Ostenol ou 7-Demetoxisuberosina	Sadia	DUE*
4	10,15	311,1291	Nordentatina	Sadia	4,02
5	10,35	295,2275	Desconhecida	Infectada	1,16
6	10,75	407,1866	Lanchocarpol A	Sadia	4,36
7	11,47	379,1911	Clausarina	Sadia	3,69
8	11,55	277,2172	Desconhecida	Infectada	1,58
9	11,89	279,2328	Desconhecida	Infectada	5,82

*DUE – Detectado em um Único Enxerto

4.3.11.2 Análises dos caules inferiores dos enxertos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s-plot* (Figura 4-140) no modo negativo de ionização dos caules inferiores dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 8 bandas cromatográficas (Figura 4-141). As bandas cromatográficas 1 – 4 e 6 – 8 são as mesmo encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 e 4.3.6 (página 65 e 103) cujos metabólitos secundários encontram-sena Tabela 4-15 Tabela 4-10.

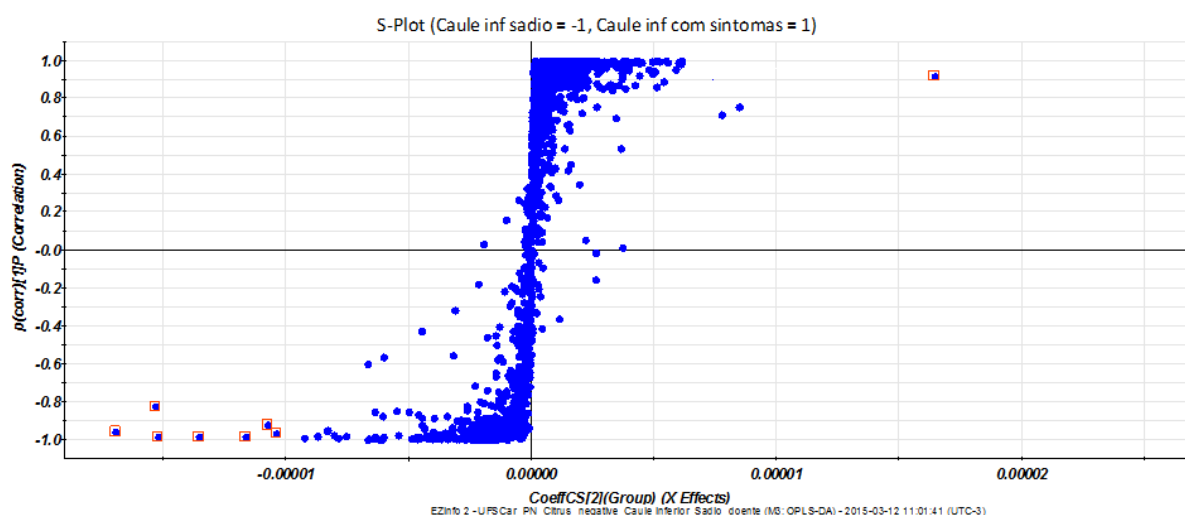


Figura 4-140: Gráfico *S-Plot* dos caules inferiores dos enxertos sadios e infectados no modo negativo de ionização.

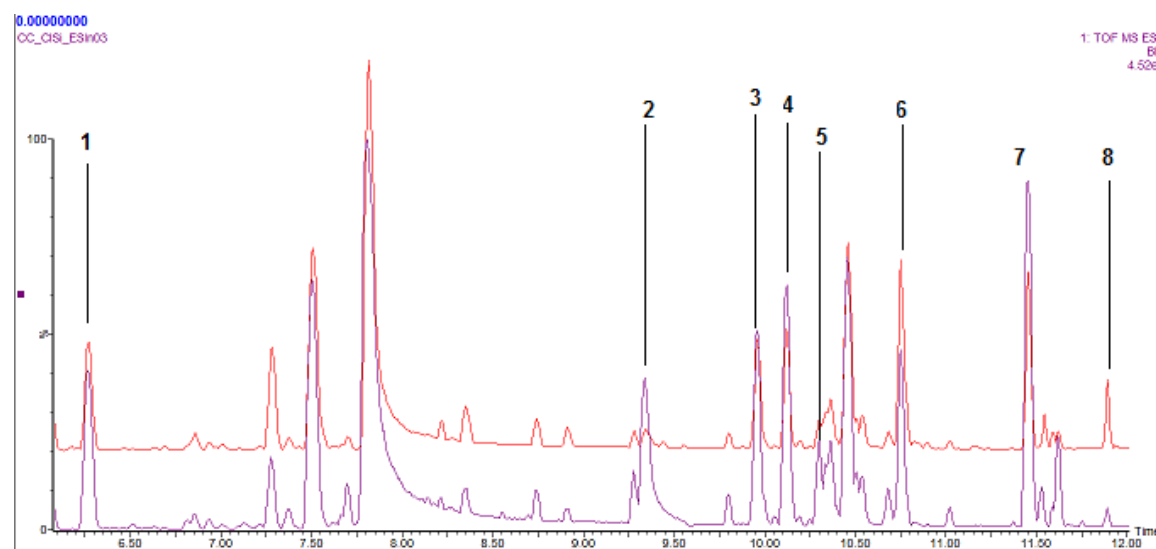
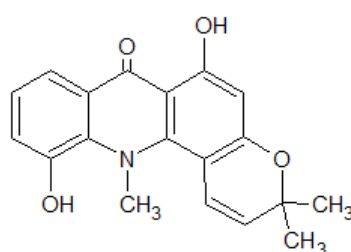


Figura 4-141: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes dos caules inferiores dos enxertos

A análise da banda cromatográfica **5** de t_r de 10,30min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 322,1081 que apresentou uma diferença de massa de 0,53mDa para um único alcaloide acridônico: 5-Hidróxinoracronicina (**Figura 4-142**). O espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-143**) foi observado o pico base m/z 307 que é oriundo da perda do radical CH_3 , também foi constatado a perda de 29 Da que é proveniente da perda de HCNH_2 (comumente observado esse tipo de perda nos alcaloides N-metilado) **Esquema 4-44** reforçando a proposta do alcaloide 5-Hidróxinoracronicina, na qual foi 5,36 vezes mais produzido nos caules inferiores infectados.



5-Hidróxinoracronicina

Figura 4-142: Estrutura do alcaloide acridônico de massa neutra 323,1157Da referente a m/z 322,1081.

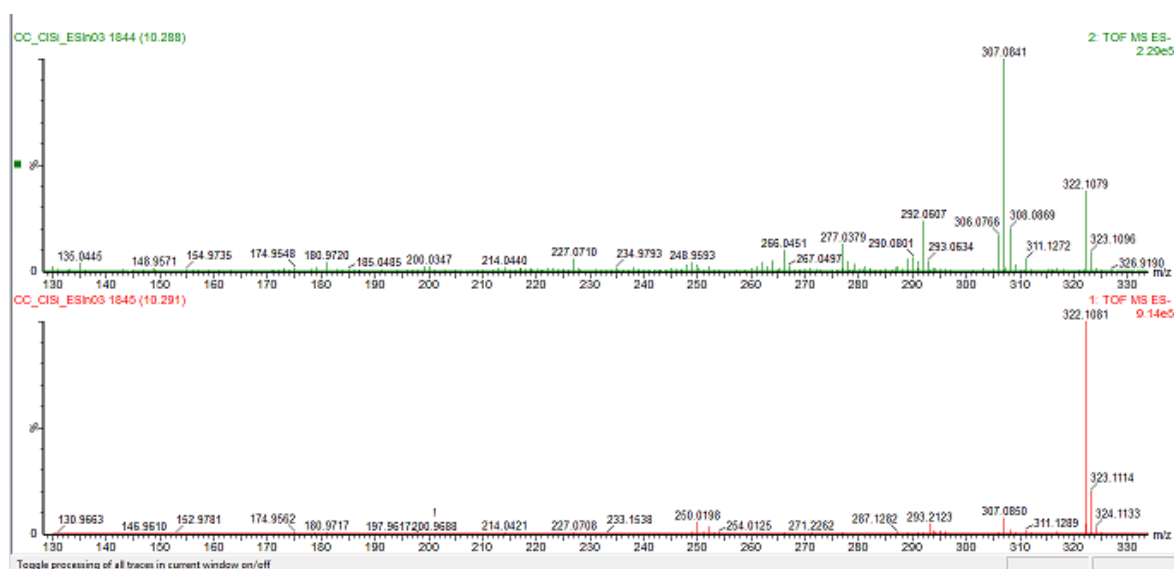
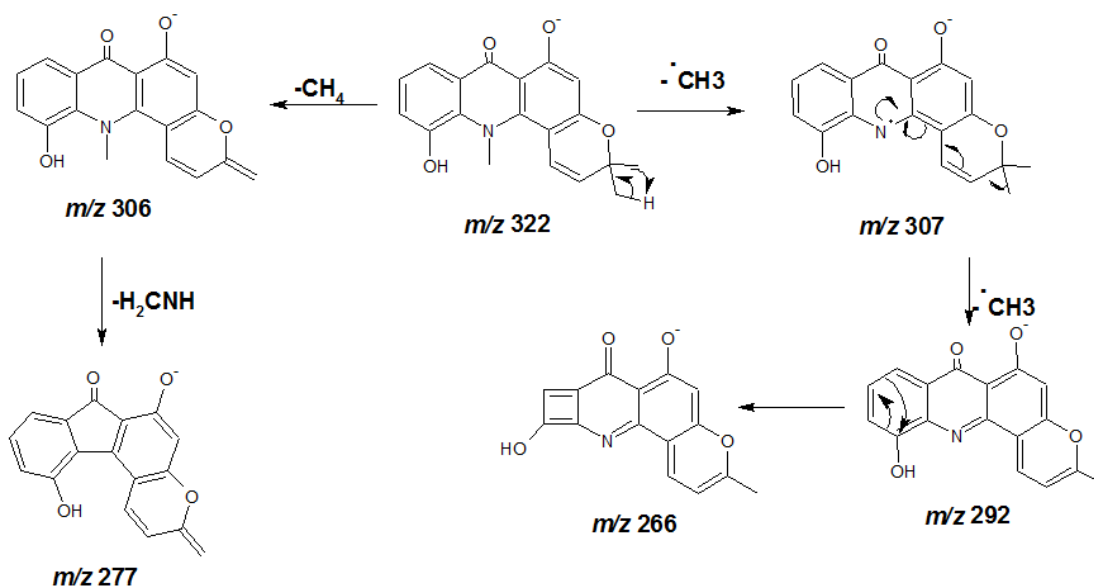


Figura 4-143: Espectro de massas para o íon m/z 322,1081 de t_r de 10,30 min. encontrado nos caules inferiores dos enxertos infectados (ESI, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-44: Proposta de fragmentação para o 5-Hidróxinoracronicina (ESI, modo negativo)

As bandas de 3 e 8 que apresentaram baixa diferença de massa entre a teórica e a experimental eram ácidos graxos de baixa polaridade assim como nos outros órgãos.

Tabela 4-15: Prováveis metabólitos secundários dos caules inferiores dos enxertos e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (ESI negativo).

Banda	t_r (min)	$[M-H]^-$	Substância	Maior Produção	Varição
1	6,27	245,0819	7-Demetilisotamarina	Infectada	2,55
2	9,34	338,1035	Álcool 5-hidróxinoracrinocina	Infectada	9,80
3	9,96	293,2118	Desconhecida	Infectada	3,87
4	10,15	311,1291	Nordentatina	Infectada	4,25
5	10,30	323,1157	5-Hidróxinoracronicina	Infectada	5,36
6	10,75	407,1866	Lanchocarpol A	Infectada	1,70
7	11,47	379,1911	Clausarina	Infectada	4,34
8	11,89	279,2328	Desconhecida	Sadia	2,05

4.3.11.3 Análises dos caules superiores dos enxertos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-144) no modo negativo de ionização dos caules superiores dos enxertos foi possível evidenciar

como mais significativas 7 bandas cromatográficas (**Figura 4-145**). As bandas cromatográficas 2 – 5 e 7 são as mesmo encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 e 4.3.6 (página 65 e 103) sugeridos os seguintes metabólitos secundários que se encontram na **Tabela 4-16**Tabela 4-10.

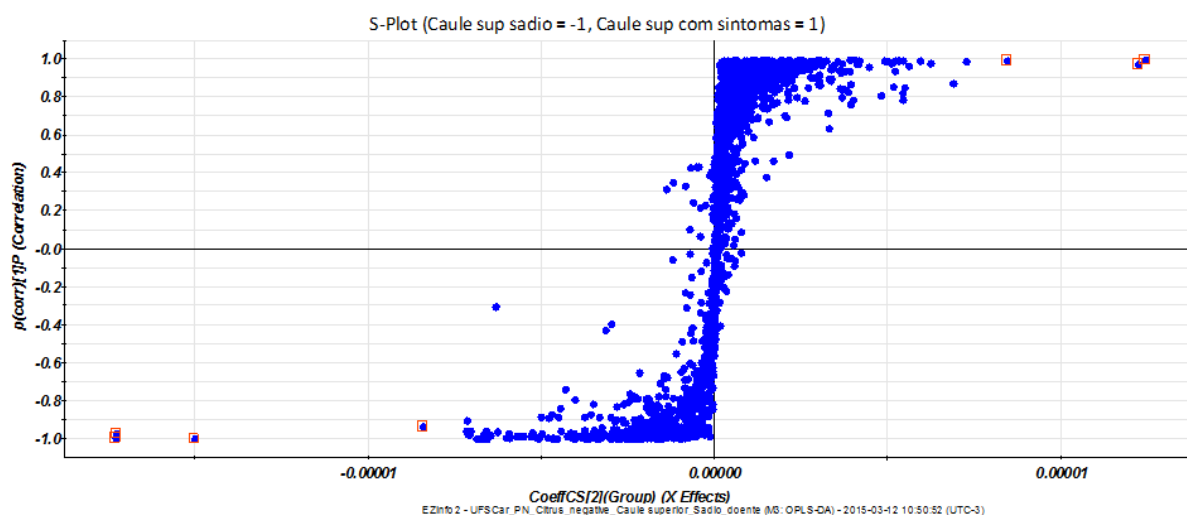


Figura 4-144: Gráfico *S-Plot* dos caules superiores dos enxertossadios e infectados no modo negativo de ionização.

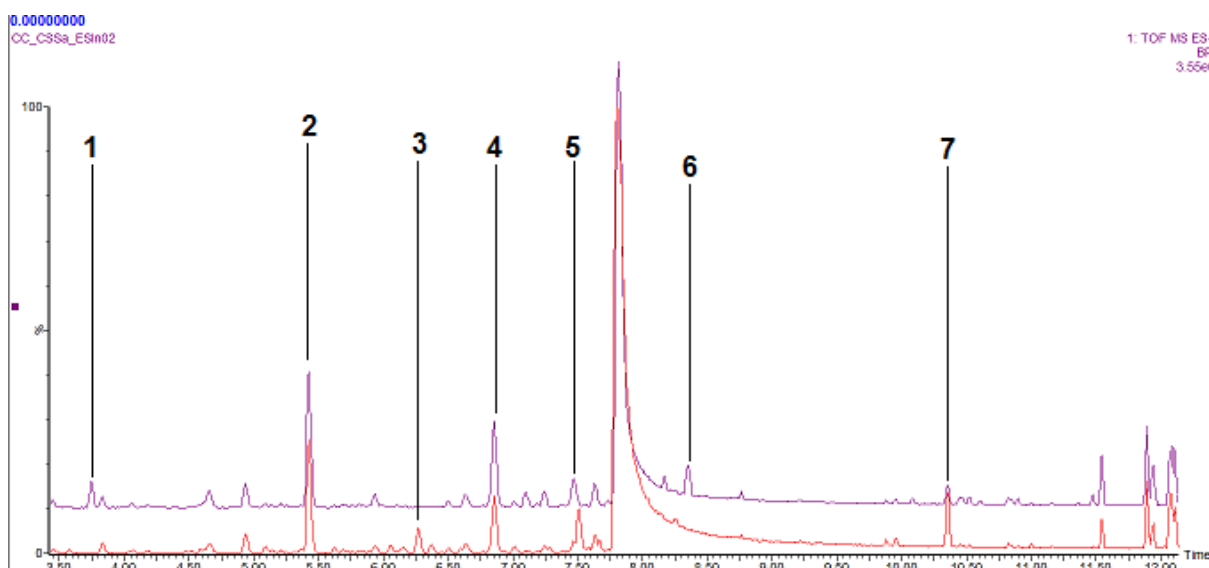


Figura 4-145:Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes dos caules superiores dos enxertos

As bandas de 3 6 e 8 que apresentaram baixa diferença de massa entre a teórica e a experimental eram ácidos graxos de baixa polaridade assim como nos outros órgãos.

Tabela 4-16: Prováveis metabólitos secundários dos caules superiores dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (*ESI* negativo).

Banda	t_r (min)	[M-H] ⁺	Substância	Maior Produção	Varição
1	3,75	487.1959	Desconhecida	Sadia	DUE*
2	5,42	609,1816	FOG**	Infectada	1.14
3	6,27	245,0819	7-Demetilisotamarina	Infectada	DUE*
4	6,86	469,1865	Limonina	Sadia	1.06
5	7,47	726,3823	Citrusina III ou Citrusina XI	Sadia	2.23
6	8,35	778.4239	Desconhecida	Sadia	DUE*
7	10,35	295.2275	Desconhecida	Infectada	2.87

*DUE – Detectado em um Único Enxerto

**FOG (Flavonoide O-Glicosilado)- Homoeridictiol-7-O-neohesperidose, Homoeridictiol-7-O-rutinose, Neohesperidina ou Hesperidina

4.3.11.4 Análises das folhas dos enxertos no modo negativo de ionização

No tratamento quimiométrico via *s*-plot (Figura 4-146) no modo negativo de ionização das folhs dos enxertos foi possível evidenciar como mais significativas 6 bandas cromatográficas (Figura 4-147). As bandas cromatográficas 3, 5 e 6 são as mesmo encontradas nas análises feitas entre os pés francos discutidos na seção 4.3.5 e 4.3.6 (página 65 e 103) sugeridos os seguintes metabólitos secundários que se encontram na Tabela 4-17 Tabela 4-10.

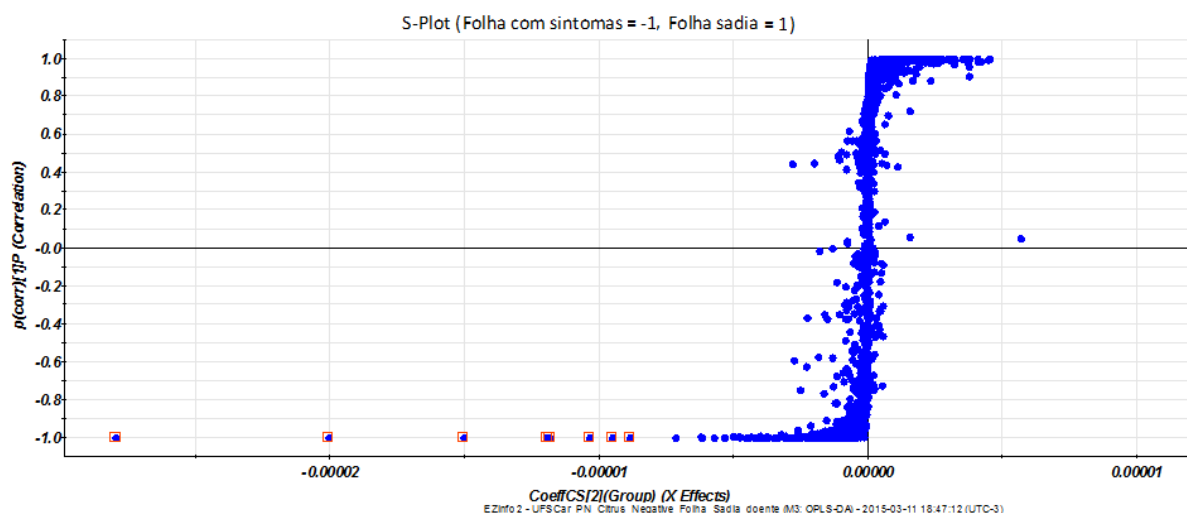


Figura 4-146: Gráfico *S*-Plot das folhas dos enxertossadios e infectados no modo negativo de ionização.

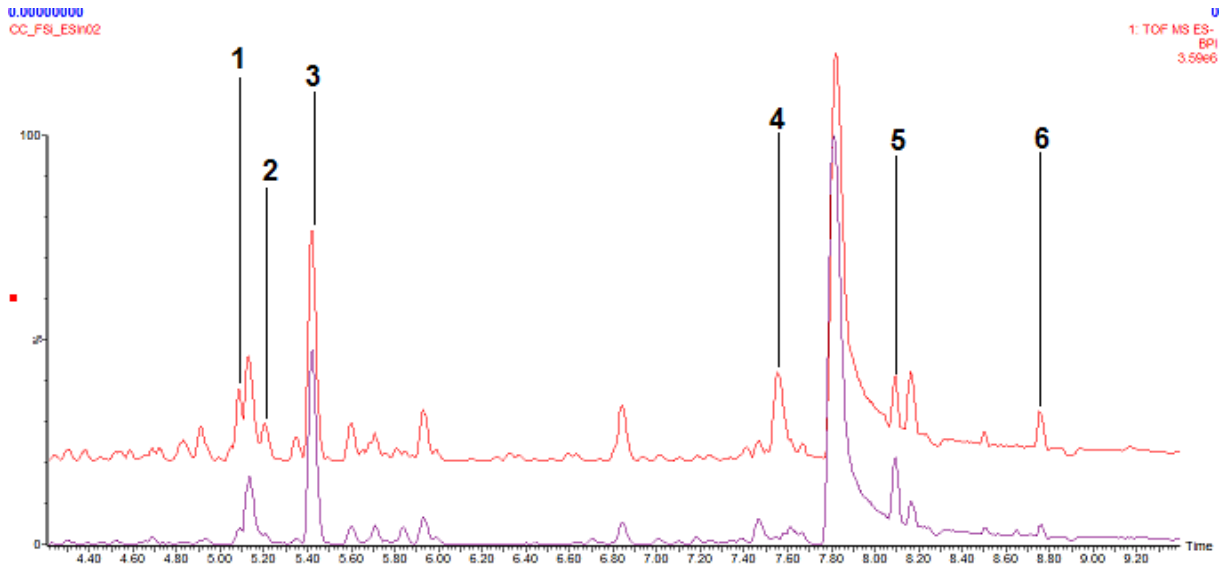


Figura 4-147: Bandas cromatográficas evidenciadas pelo gráfico *S-plot* nas matrizes das folhas dos enxertos

A análise da banda cromatográfica 1 de t_r de 5,08min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 461,1088 que na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado esse pico com flavonoides C-glicosilados Diosmina-8-C-glucosídeo e Diosmina-6-C-glucosídeo que apresentaram uma diferença de massa de 0,5 mDa entre a massa experimental observada e a massa teórica calculada (**Figura 4-148**). Tanto no espectro do íon molecular quanto no espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-149**) foi observado perdas de 120 e 90 Da (**Esquema 4-45**) que condizem com a proposta de flavonoides. De acordo com Cuyckens(2004), é muito comum perdas de água, tanto no modo positivo quanto no negativo de ionização, nos flavonoides 6-C-glicosilados devido a proximidade da 2''-hidroxila da açúcar com as hidroxilas nas posições 5 e 7 do flavonoide que favorecem duas vezes mais essa perda (**Figura 4-150**), enquanto que para flavonoides 8-C-glicosilados essa perda é menor ou ausente devido a proximidade da hidroxilada da unidade do açúcar estar próximo apenas de um grupo hidroxílico do flavonoide. Como não foi observado o pico m/z 443, referente a perda de água, em uma intensidade intensa sugere-se que o flavonoide em questão seja a Diosmina-8-C-glucosídeo, onde este foi 3,48 vezes maior nas folhas infectadas

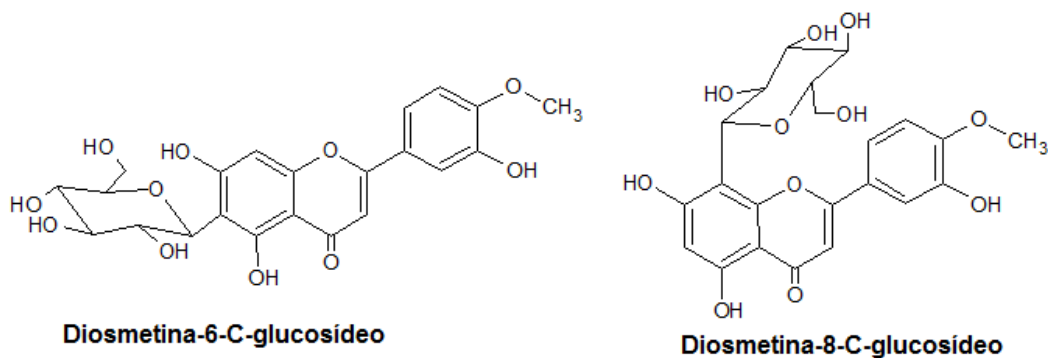


Figura 4-148 Estrutura dos flavonoides glicosilados de massa neutra 462,1162Da referente ao m/z 461,1088.

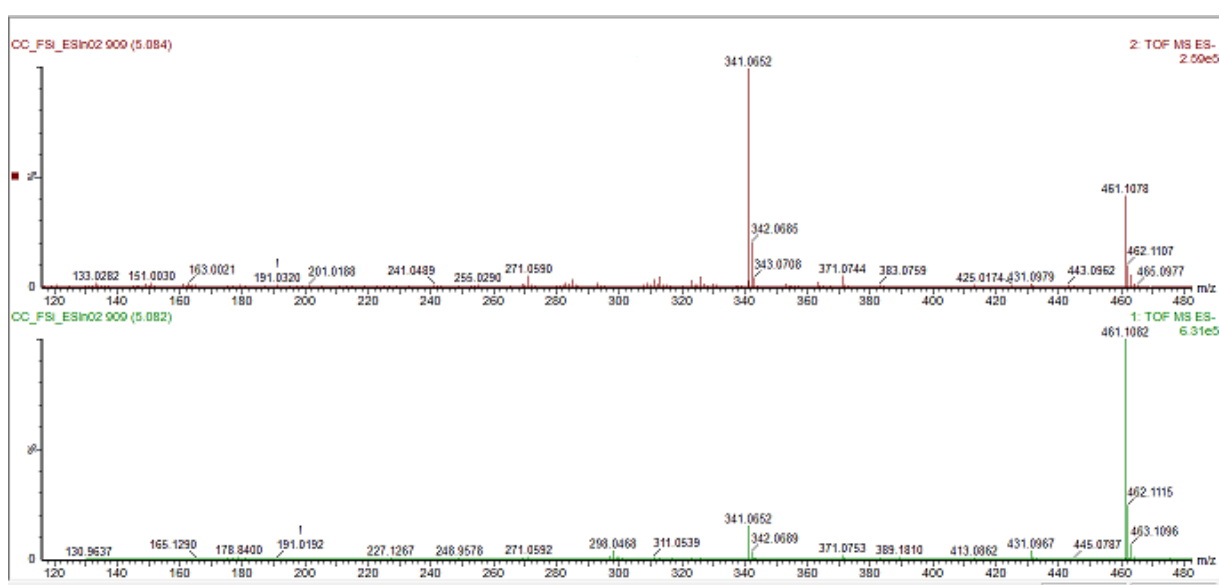
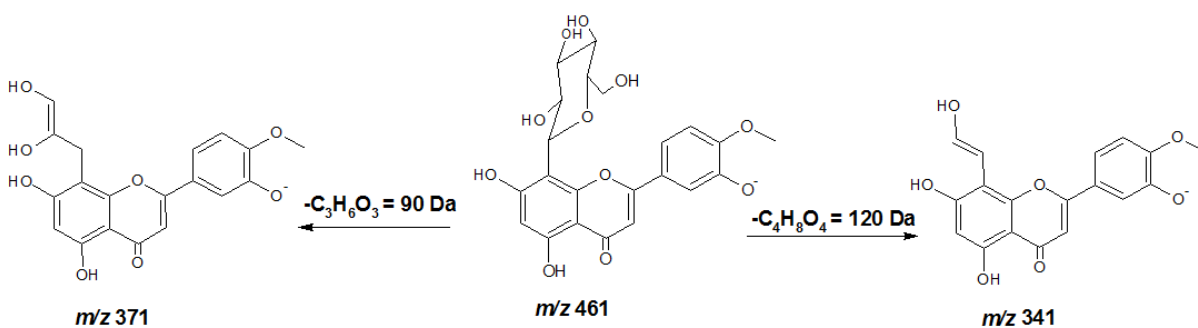


Figura 4-149 Espectro de massas para o íon m/z 461,1088 de t_r de 5,08min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (*ESI*, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-45 Proposta de fragmentação para a Diosmina-8-C-glucosídeo (*ESI*, modo negativo).

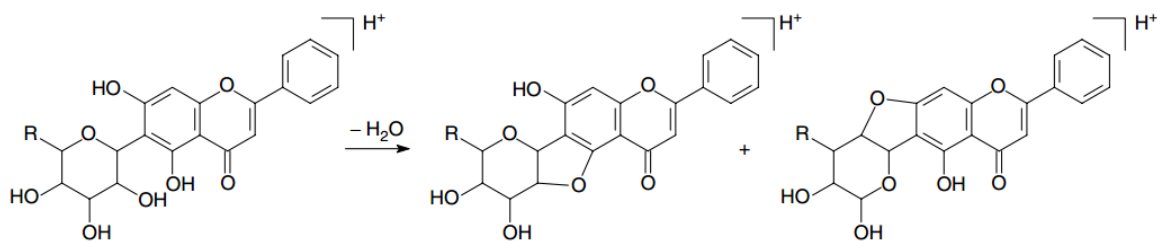


Figura 4-150 Perda de água observada em flavonoides 6-C-glicosilados envolvendo o grupo 2''-hidroxílico do resíduo de açúcar com os grupos hidroxílicos 5 ou 7 do flavonoide (CUYCKENS; CLAEYS, 2004).

A análise da banda cromatográfica **2** de t_r de 5,21min. mostrou o íon pseudomolecular m/z 609,1459 que na busca no banco de dados feito para esse trabalho foi relacionado esse pico com flavonoides glicosiladas Lucenina-2; Quercetina-7-O-rutinosídeo, Rutina e Luteolína-7-O-sophorosídeo que apresentaram uma diferença de massa de 0,5 mDa entre a massa experimental observada e a massa teórica calculada (**Figura 4-151**). Tanto no espectro do íon molecular quanto no espectro de massas de íons produtos (**Figura 4-152**) foi observado perda de 308 Da (**Esquema 4-46**) que são perdas típicas de flavonoides O-diglicosilados, eliminando assim a possibilidade de ser o flavonoide C-glicosilado Lucenina-2 que como foi abordado anteriormente esse tipo de flavonoide possui fragmentações diferentes para suas unidades glicosídicas. A perda de 308 Da permitiu também eliminar a flavona Luteolína-7-O-sophorosídeo como sendo referente à banda **2**, pois a perda de sua unidade glicosídica seria de 324 Da, já que seu diglicosídeo é formado por duas unidades de glucose, diferentemente do fragmento perdido (308 Da) que normalmente em *Citrus* representa um rutinosídeo ou neohesperidosídeo que são formados por uma unidade de glucose e outra de rhamnose. O fragmento m/z 463 corroborou com essa proposição já que ele representa a perda do fragmento de rhamnose. O pico base de m/z 300 é referente a uma fragmentação homolítica e de acordo com Cuyckens (2004), o favorecimento dessa clivagem em detrimento da clivagem heterolítica indica flavonoides 3-O-glicosilados, onde a formação do radical formado parece ser estabilizado pela ligação dupla do anel C vizinha ao grupo carbonila, e que o inverso ocorre com os flavonoides 7-O-glicosilados, onde a clivagem heterolítica é favorecida. Baseado nesses dados propõe-se que a banda **2** seja o flavonoide Rutina que nas mudas infectadas teve um aumento de cerca de 2,69 vezes.

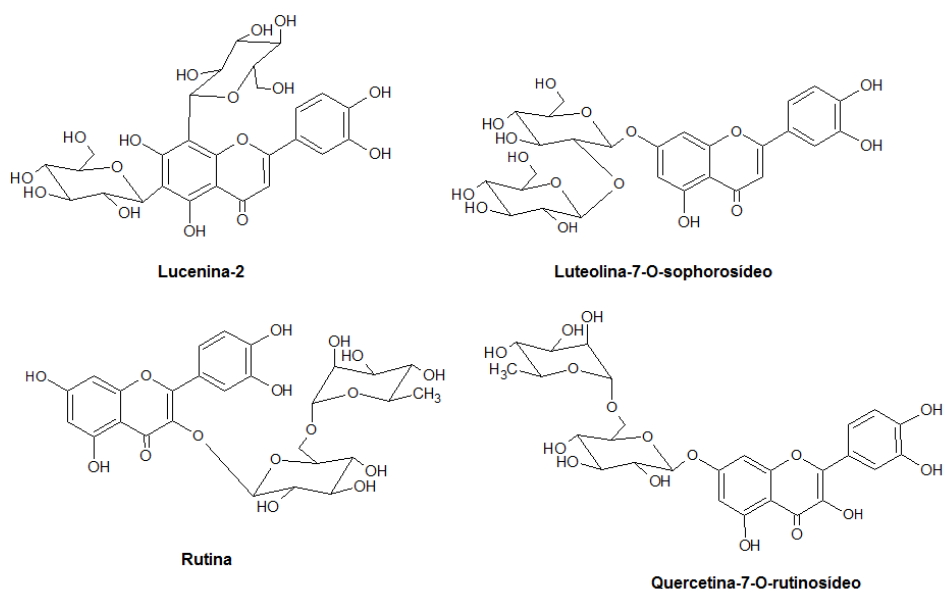


Figura 4-151 Estrutura dos flavonoides glicosilados de massa neutra 610,1533Da referente ao m/z 609,1459.

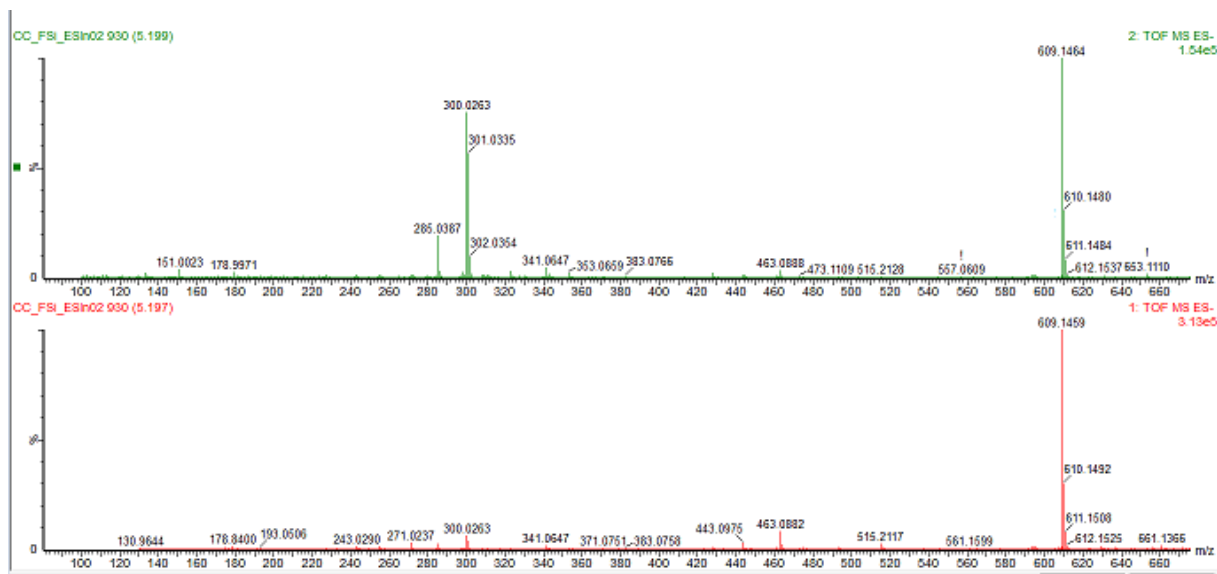
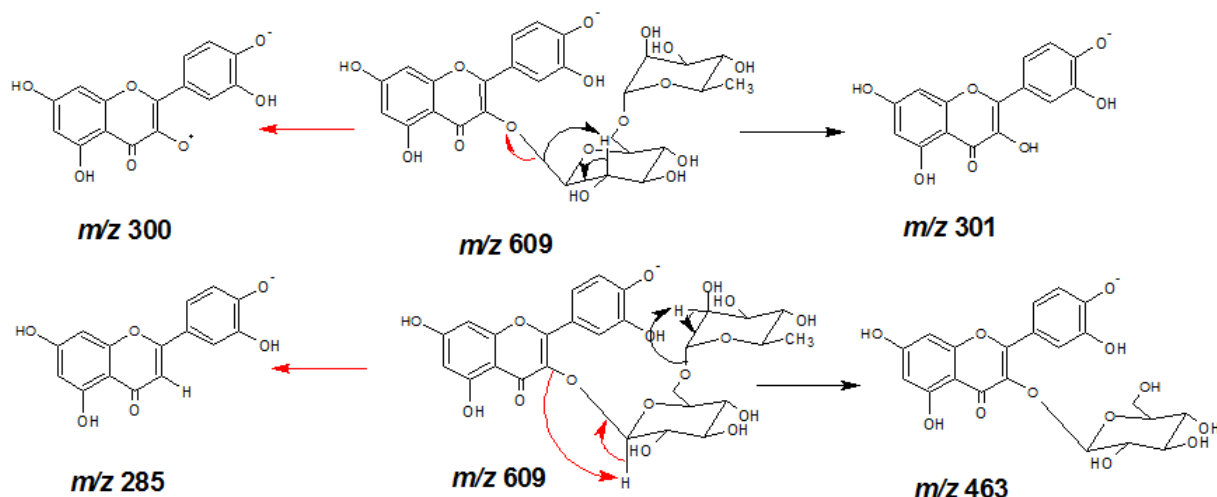


Figura 4-152 Espectro de massas para o íon m/z 609,1459 de t_r de 5,21 min. encontrado nas folhas dos enxertos infectados (*ESI*, modo negativo). Espectro de íons produtos (acima) e espectro do íon molecular (abaixo).



Esquema 4-46: Proposta de fragmentação para o Rutina (*ESI*, modo negativo)

A banda 4 não foi encontrado nada tanto no banco de dados feito nesse trabalho quanto no banco de dados online não sendo capaz de estimar pelo menos uma classe de metabolito para ela.

Tabela 4-17: Prováveis metabólitos secundários das folhas dos enxertossadios e infectados evidenciados pelo tratamento quimiométrico *S*-plot (*ESI* negativo).

Banda	t_r (min)	[M-H] ⁻	Substância	Maior Produção	Varição
1	5,08	461,1088	Diosmina-8-C-glucosídeo	Infectada	3,48
2	5,21	609,1459	Rutina	Infectada	2,69
3	5,42	609,1816	FOG**	Infectada	1,12
4	7,56	214,0421	Desconhecida	Infectada	DUE*
5	8,09	313,0717	5,4'-Diidróxi-7,8-dimetoxiflavona	Infectada	1,26
6	8,76	373,0923	Isotymusina	Infectada	2,52

*DUE – Detectado em um Único Enxerto

**FOG (Flavonoide O-Glicosilado)- Homoeriodictiol-7-O-neohesperidose, Homoeriodictiol-7-O-rutinose, Neohesperidina ou Hesperidina

4.3.12 Aspectos metabólicos em resposta ao processo de infecção da *X. fastidiosa*

De acordo com os metabólitos que foram putativamente identificados nas raízes (**Figura 4-153**), caules inferiores (**Figura 4-154**), caules superiores (**Figura 4-155**) e folhas (**Figura 4-156**) dos pés francos percebe-se que a via metabólica dominante como resposta ao processo de infecção da bactéria *X. fastidiosa* se dar pela rota do Chiquimato (**Figura 4-101**), onde os principais metabólitos evidenciados pelo gráfico de *s*-plot nas análises via CLUE nos modos

de ionização positivo e negativo foram as cumarinas, flavonoides e alcaloides acridônicos.

Diferentemente do que foi discutido nos aspectos metabólicos dos pés francos, onde a discussão se baseava no processo de infecção natural do hospedeiro pelas cigarrinhas que se alimentam da seiva das folhas, logo o processo de inoculação da bactéria na planta e as respostas iniciais observáveis seriam nela, o que levou a fazer as proposições discutidas naquele tópico quase que exclusivamente em relação às folhas. Entretanto esta parte do trabalho envolve já a planta totalmente infectada e com sintomas expressos, ou seja, com a bactéria já instalada com sucesso no hospedeiro, o que leva a avaliar como todos os órgãos do enxerto responderam a esse processo infeccioso na tentativa de contê-lo ou combatê-lo.

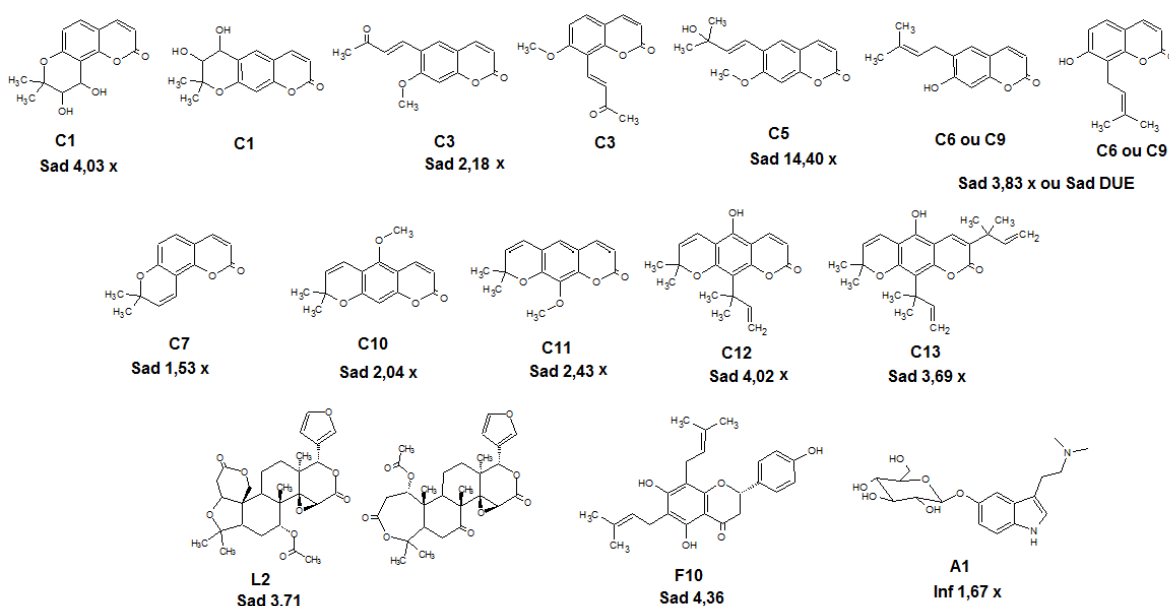


Figura 4-153: Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nas raízes dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **A** = alcaloide, **L**= limonoide, **F**= flavonoide. Espécies **Sad**= Sadia, **Inf**= Infectado. **DUE** = Detectado em uma única espécie.

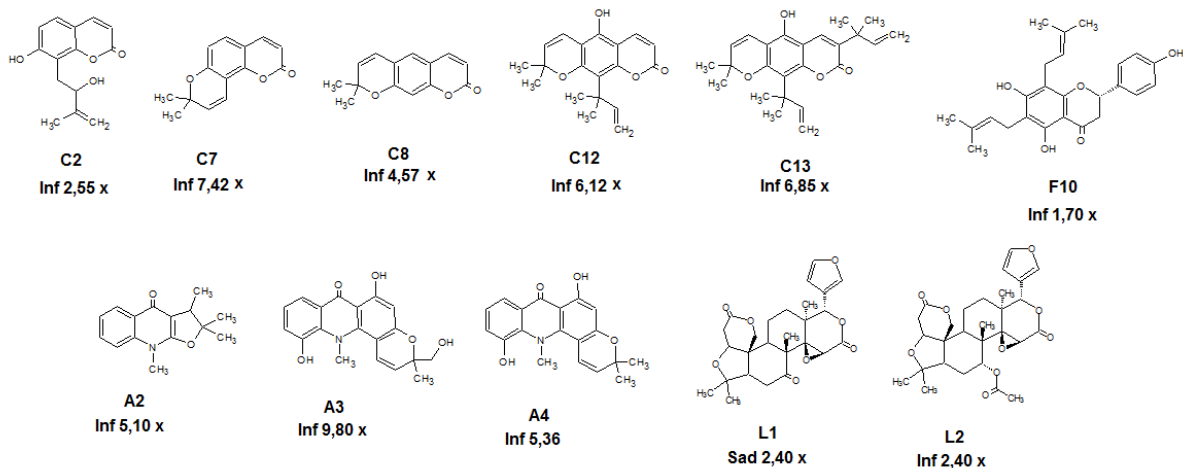


Figura 4-154 Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nos caules inferiores dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **A** = alcaloide, **L**= limonoide, **F**= flavonoide. Espécies **Sad**= Sadia, **Inf**= Infectado.

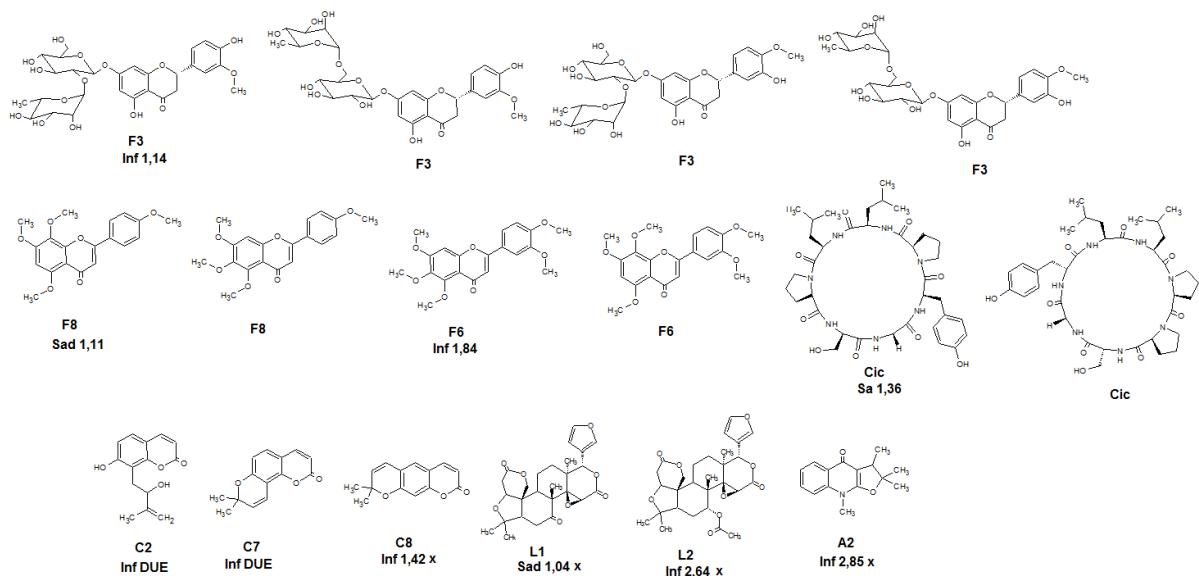


Figura 4-155 Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nos caules superiores dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **A** = alcaloide, **L**= limonoide, **F**= flavonoide, **Cic**= ciclopeptídeo. Espécies **Sad**= Sadia, **Inf**= Infectado. **DUE** = Detectado em uma única espécie.

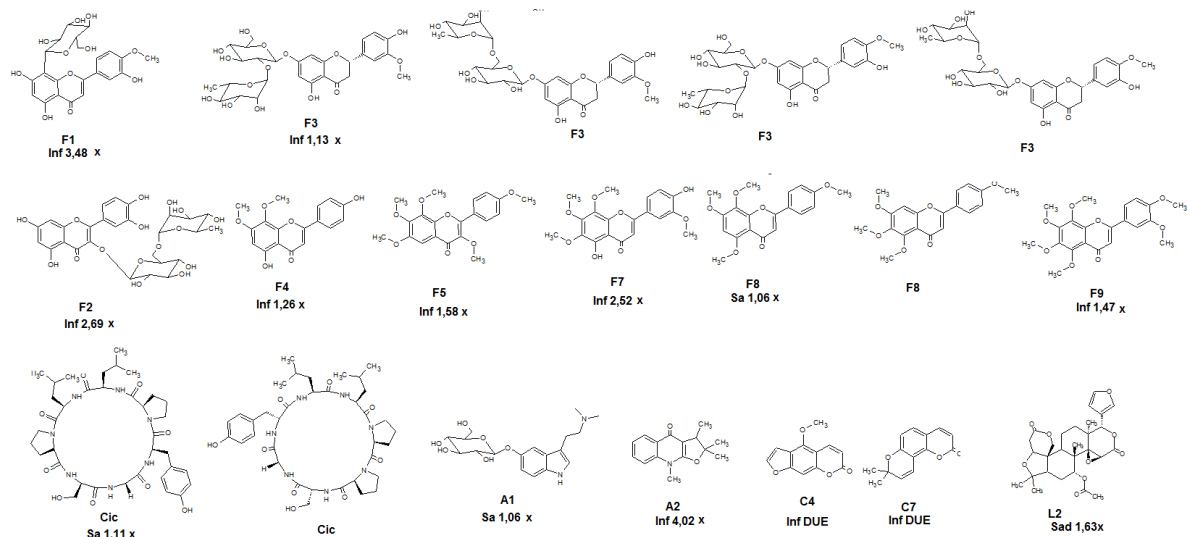


Figura 4-156 Substâncias putativamente identificadas (*ESI* + e *ESI* -) nas folhas dos enxertos com seus respectivos códigos de identificação, enxerto em que foi mais produzida e classe. Classes: **C** = cumarina, **A** = alcaloide, **L**= limonoide, **F**= flavonoide, **Cic**= ciclopeptídeo. Espécies **Sad**= Sadia, **Inf**= Infectado. **DUE** = Detectado em uma única espécie.

As observações iniciais nas análises quimiométricas de HCA (4.3.9 página 151) onde se constatou pelo dendrograma que as raízes sadias eram semelhantes aos caules inferiores infectados e devido a isso foi proposto que poderia estar havendo uma translocação dos metabolitos das raízes para as partes aéreas das plantas foram confirmadas nas análises da variação dos metabólitos evidenciados pelo tratamento quimiométrico de *s-plot*. Como pode ser visto nas **Figura 4-153** e **Figura 4-154** e no gráfico da **Figura 4-157**, as medias das áreas dos metabolitos encontrados na raiz sadia se assemelha ao dos caules inferiores infectados e quehá uma clara diferença na quantidade desses metabolitos quando se compra a raiz infectada com os caules infectados, onde fica claro que os metabolitos produzidos nas raízes estão sendo transcolados para os caules inferiores ou as raízes cessam a produção desses metabolitos para que os precursores sejam utilizados nos caules para a produção desses metabolitos secundários que aumentaram para que eles contemham ou combatam o processo infeccioso. O que estaria de acordo com as observações feitas por He e colaboradores (2000), no qual observou raros casos de *X. fastidiosa* sendo encontradas emporta-enxertos mais utilizados, como o limão Cravo (*C. limonia*) e o citrumelo Swingle, quando estavam sob laranjeiras doces com CVC, levando os autores a descartarem a transmissão da bactéria via enxertia natural pelas

raízes. Sendo assim esse aumento de metabolitos nos caules inferiores seria uma forma de conter o avanço da doença até as raízes como também uma forma enviá-los até a região de maior colonização da bactéria. Entretanto esses mesmos metabolitos que foram evidenciados nas raízes e caules (oriundos *C. limonia*) inferiores como os mais variantes entre os enxertos sadios e infectados não foram discriminados nos caules superiores e folhas que são órgãos oriundos do *C. sinensis*. O que leva a levantar questões do porquê esses metabolitos não terem sucesso em chegar até o foco infeccioso, já que pela observações dos perfis metabólicos dos órgãos realizados nesse trabalho e do levantamento bibliográfico para a criação do banco trabalho está claro que cumarinas e alcaloides são produzidos mais eficientemente nos órgãos inferiores e os flavonoides nas folhas e frutos.

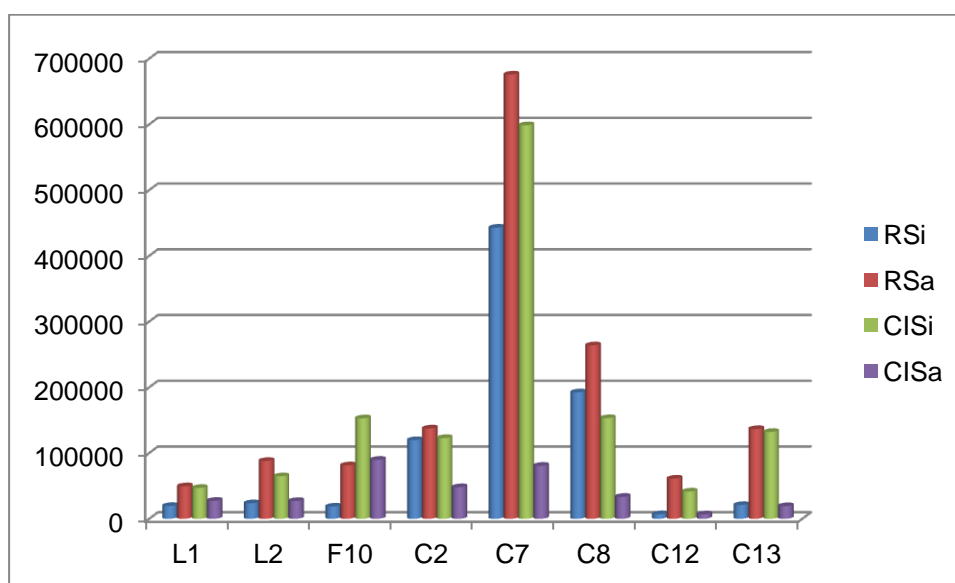


Figura 4-157 Variação dos metabolitos secundários (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos caules inferiores e raízes dos enxertos sadios e infectados(código de identificação dos metabolitos na **Tabela 4-18**)

Outro fato que foi averiguado foi a alta variação na produção de alcaloides (A2-A4) nos caules inferiores com variações que iam da faixa de 5 a 9,8 vezes entre os enxertos sadios e infectados (**Figura 4-158**) e que eles seguem o mesmo comportamento dos outros metabolitos discutidos no paragrafo anterior, o de provável transporte deles das raízes para os caules inferiores.

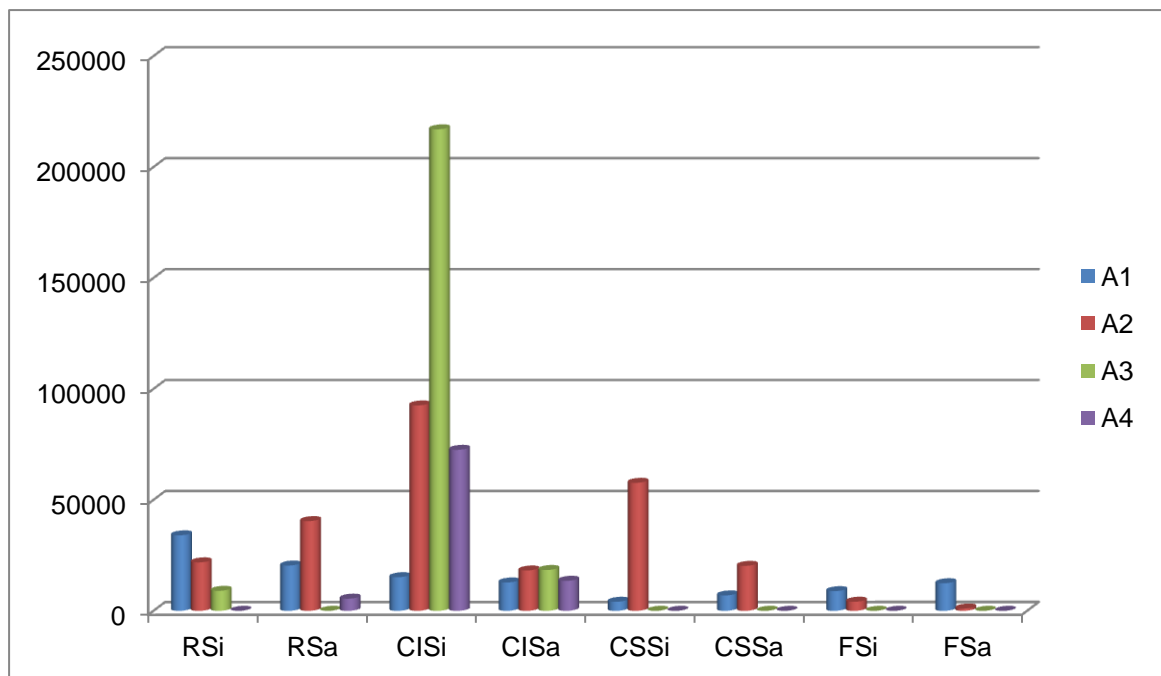


Figura 4-158 Variação dos alcaloides (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos órgãos dos enxertos sadios e infectados(código de identificação dos metabólitos na **Tabela 4-18**)

Apesar da gama de trabalhos publicados a respeito das diversas atividades biológicas dos diversos tipos de alcaloides, há poucos trabalhos avaliando a atividade de alcaloides acridônicos frente a culturas de bactérias. Foutosa e colaboradores (2013)(FOUOTSA et al., 2013), avaliou a inibição de crescimento de alguns alcaloides acridônicos *in vitro* frente a culturas de *E. coli*, *Enterobacter aerogenese* *Mycobacterium tuberculosis*, onde ele obteve os seguintes MIC's para os alcaloides Evoxantine - 1 (0,45µM para *E. coli*, *E. aerogenese* *M. tuberculosis*), Norevioxantine -2 (0,47µM para *E. coli* e 0,95µM para *E. aerogenese*), 1-Hidróxi-2,3-dimetóxi-10-metilacridona - 3 (0,22µM para *E. coli* e 0,45µM para *E. aerogenese* *M. tuberculosis*) e 1,3-dimetóxi-10-metilacridona - 4 (0,47µM para *E. coli* e 0,95µM para *E. aerogenese*) - **Figura 4-159**. O que leva a acreditar que esses alcaloides que tenham aumentando durante o processo infeccioso tenha algum papel no combate à *X. fastidiosa*, contudo parece que sua produção e transporte se restringe aos órgão oriundos do *C. limonia*, já que o único alcaloide que aumentou sua produção durante a instalação e desenvolvimento da bactéria no caule superior foi o alcaloide quinolínico Lunacrina (A2). O que sugere que as enzimas acridona sintetase são menos expressas nos órgão oriundo de *C. sinensis* durante o processo infeccioso, dando lugar para a expressão das enzimas

chalcona sintase o que explicaria o maior número de flavonoides evidenciados nos órgãos superiores (caule superior e folhas) (**Figura 4-155**e**Figura 4-156**) e porque só o alcaloide A2 é produzido, já que sua produção parece não ser dependente destas enzimas.

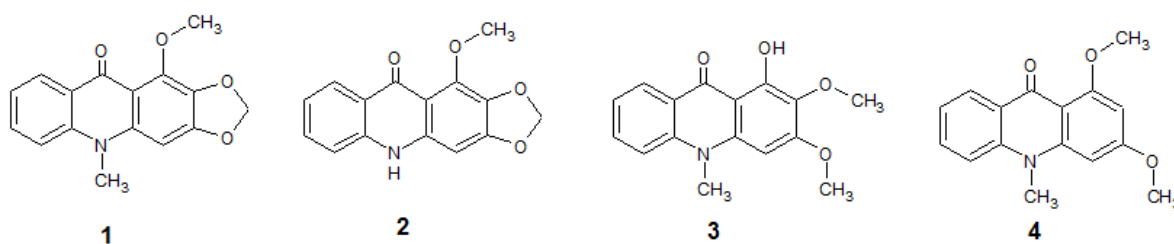


Figura 4-159: Alcaloides acridônicos avaliados no trabalho de Foutosa e colaboradores (2013) (FOUOTSA et al., 2013), frente a diferentes espécies de bactérias.

Como foi discutido nos pés francos, os flavonoides parecem desempenhar um papel importante no combate ao desenvolvimento da *X. fastidiosa* nos vasos xilemáticos, já que das 14 bandas cromatográficas que foram evidenciadas no tratamento *s-plot* das folhas, oito eram flavonoides e sete deles tiveram sua concentração aumentada durante a infecção, entretanto apenas dois deles tiveram sua atividade frente a bactéria avaliada, a hesperidina (provavelmente o flavonoide F3) e a rutina (F2). Até o dado momento não foi encontrado relatos da atividade biológica de flavonoides polimetoxilados e C-glicosilados frente ao desenvolvimento do biofilme ou do crescimento da *X. fastidiosa*. O que se sabe até o dado momento é que eles parecem ter um papel importante no combate a invasão de qualquer organismo nocivo onde nos trabalhos realizados pelo grupo de PN da UFSCar eles foram os metabólitos que mais variaram nas folhas de plantas infectadas por bactérias *Candidatus Liberibacter* (BELLETE, 2014) e *X. fastidiosa* (SOARES, 2011; SOARES et al., 2014) e fungo *Alternaria alternata*. Além de agir como fitoalexinas eles podem também estar associado como mecanismo de defesa das plantas devido às suas propriedades antioxidantes contra os peróxidos e superóxidos que são ativados pela própria planta durante o processo de infecção na tentativa de combater os microrganismos invasores.

As cumarinas seselina (C7) e xantiletina (C8) ao que parece tem sua produção diminuída durante o processo de enxertia (**Figura 4-160**), onde suas concentrações são menores que nos pés francos de *C. limonia*, estando em

concordância com a proposição de que as cumarinas parecem representar um papel importante na inibição do desenvolvimento inicial do biofilme que garante ao primeiro instante a adesão das bactérias nos vasos xilemáticos que é o primeiro passo para o sucesso da colonização. Como pode ser visto na o aumento da produção desta não representa nem 50% do que é produzido nos pés francos de *C. limonia*.

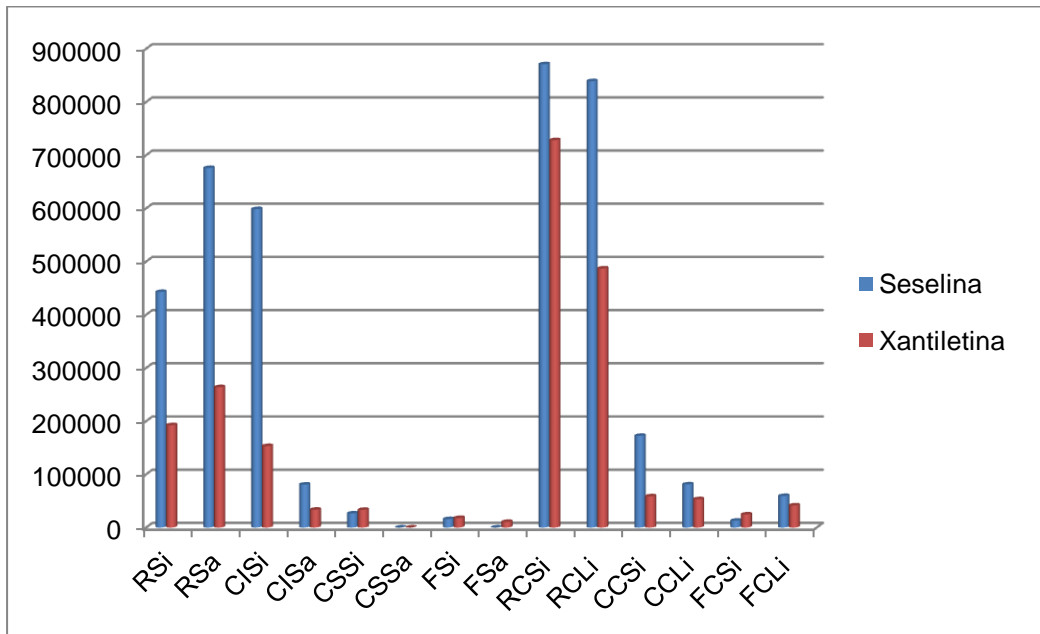


Figura 4-160 Variação das cumarinas seselina e xantiletina (médias das áreas das bancas cromatográficas) nos órgãos dos enxertos sadios e infectados e nos pés francos de *C. limonia* e *C. sinensis*

Tabela 4-18 Todas as substâncias discriminadas pela ferramenta *S-plot* nos enxertos

T _r	Substância	Órgão Vegetal				Modo de ionização		Classe	Código de identificação
		Raiz	Caule inferior	Caule superior	Folha	ESI (+)	ESI (-)		
1,15	Bufotenina O-glucosídeo	+	-	-	+	+	-	Alcaloide	A1
3,75	Desconhecida	-	-	+	-	-	+	Desconhecida	D1
3,38	Lunacrina	-	+	+	+	+	-	Alcaloide	A2
5,08	Diosmina-8-C-glucosídeo	-	-	-	+	-	+	Flavonoide	F1
5,21	Rutina	-	-	-	+	-	+	Flavonoide	F2
5,42	Homoeridictiol-7-O-neohesperidose ou Homoeridictiol-7-O-rutinose ou Neohesperidina ou Hesperidina	-	-	+	+	+	+	Flavonoide	F3
5,53	Kelactona ou Decursinol	+	-	-	-	+	-	Cumarina	C1
6,27	7-Demetilisotamarina	-	+	+	-	-	+	Cumarina	C2
6,57	Ostenona ou Suberenona	+	-	-	-	+	-	Cumarina	C3
6,86	Limonina	-	+	+	-	+	+	Limonoide	L1
7,00	Bergapteno	-	-	-	+	+	-	Cumarina	C4
7,11	Suberenol	+	-	-	-	+	-	Cumarina	C5
7,47	Citrusina III ou Citrusina XI	-	-	+	+	+	+	Ciclopeptideo	Cicm
7,56	Desconhecida	-	-	-	+	-	+	Desconhecida	D2
7,60	Acetato de limonila	+	+	+	+	+	-	Limonoide	L2

7,70	Ostenol ou 7-Demetoxisuberosina	+	-	-	-	-	+	Cumarina	C6
7,81	Desconhecida	+	-	-	-	-	+	Desconhecida	D3
8,09	5,4'-Diidróxi-7,8-dimetoxiflavona	-	-	-	+	-	+	Flavonoide	F4
8,10	Aurantenina	-	-	-	+	+	-	Flavonoide	F5
8,15	Seselina	+	+	+	+	+	-	Cumarina	C7
8,29	6-Demetoxinobiletina ou Sinensetina	-	-	+	-	+	-	Flavonoide	F6
8,35	Desconhecida	-	-	+	-	-	+	Desconhecida	D4
8,35	Xantiletina	-	+	+	-	+	-	Cumarina	C8
8,70	Ostenol ou 7-Demetoxisuberosina	+	-	-	-	-	+	Cumarina	C9
8,72	Xantoxiletina	+	-	-	-	+	-	Cumarina	C10
8,76	Isotymusina	-	-	-	+	-	+	Flavonoide	F7
8,79	6-Demetoxitangeretina ou 5,6,7,4'-Tetrametoxiflavona	-	-	+	+	+	-	Flavonoide	F8
8,91	Nobiletina	-	-	-	+	+	-	Flavonoide	F9
8,94	Desconhecida	+	-	+	-	+	-	Desconhecida	D5
8,99	Desconhecida	+	-	-	-	+	-	Desconhecida	D6
9,16	Luvangetina	+	-	-	-	+	-	Cumarina	C11
9,34	Álcool 5-hidróxinoracrinocina	-	+	-	-	-	+	Alcaloide	A3
9,96	Desconhecida	-	+	-	-	-	+	Desconhecida	D7
10,15	Nordentatina	+	+	-	-	+	+	Cumarina	C12
10,30	5-Hidróxinoracronicina		+	-	-	-	+	Alcaloide	A4
10,35	Desconhecida	+	-	+	-	-	+	Desconhecida	D8
10,75	Lanchocarpol A	+	+	-	-	-	+	Flavonoide	F10

10,80	Desconhecida	+	-	-	-	+	-	Desconhecida	D9
11,47	Clausarina	+	+	-	-	+	+	Cumarina	C13
11,55	Desconhecida	+	-	-	-	-	+	Desconhecida	D10
11,89	Desconhecida	+	+	-	-	-	+	Desconhecida	D11

5 CONCLUSÕES

A aplicação de ferramentas quimiométricas aos dados obtidos via CLUE-ESI-QTOF permitiu de modo rápido, simples e eficiente, a separação das amostras de acordo as suas similaridades e diferenças indicando que esta técnica poder ser aplicada para o estudo de diferenciação dos extratos analisados, apresentando resultados confiáveis e reprodutíveis. As análises de HCA através dos agrupamentos de similaridade permitiu prever que poderia estar havendo a translocação dos metabolitos secundários das raízes para os caules inferiores durante o processo de infecção, sendo confirmado através da identificação dos metabolitos evidenciados pelo *s-plot*. Nos gráficos de PCA onde foi realizada a análise das diferentes partes do citros separadamente tanto para os pés francos de *C. sinensis* e *C. limonia* quanto para os enxertos sadios e infectados, verificou-se em todos os casos sempre 2 há o agrupamento de dois grupos – órgãos oriundos de *C. sinensis* e órgãos oriundos de *C. limonia*, podendo ser uma ferramenta utilizada para diferenciar diferentes tipos de porta enxertos desconhecidos sob copas *C. sinensis*. A ferramenta quimiométrica *S-plot* se mostrou uma técnica extremamente eficiente em discriminar as bandas cromatográficas de diferentes tratamentos e a caracterizar as que mais contribuem para essa diferenciação com um alto grau de confiabilidade, poupando tempo em ter que discriminá-los de forma visual, além de auxiliar na identificação de prováveis biomarcadores.

A criação do banco de dados de *Citrus* foi uma ótima aliada na identificação dos compostos que foram evidenciados pela ferramenta *s-plot*, onde através dela foi possível determinar putativamente a identidade de 33 composto nos pés francos e 28 compostos nos enxertos, tendo apenas 4 composto sendo encontrado nos bancos de dados *online* (Lunacrina, Bufotenina-O-glicosídeo, Lemobilina e Cafeato de prenila), sendo todos eles com um erro menor que 1,0mDa.

O uso de CLUE-ESI-TOF mostrou ser um equipamento de extrema eficiência provendo análises rápidas e com a detecção de massas de alta acuidade o que permitiu a identificação dos compostos com mais segurança, apesar deles

não terem sido 100% confirmados. Sendo importante ressaltar que as análises em ambos os modos de ionização (*ESI-* e *ESI+*) se mostraram um requisito importante em estudos metabonômicos não-direcionados, já que como pode ser visto na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** foram detectados 19 composto somente no *ESI +* e 28 somente no *ESI -* para os pés francos e 18 *ESI-* e 19 *ESI +* para os enxertos (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), não sendo um tempo de máquina mal dispendido nesses tipos de trabalhos.

As análises dos aspectos metabólicos em ambas os tratamentos (pés francos e enxertos) indicaram uma alta expressão de enzimas do tipo acridona sintase nas raízes e caules o que indicaria o alto número de alcaloides acridônicos detectados nessas matrizes biológicas e uma alta expressão das enzimas chalcona sintase nas folhas o que explicaria o grande número de flavonoides detectados em tais matrizes. O que se averiguou também é que a rota do chiquimato é altamente favorecida nas espécies de *Citrus* independente do tratamento já que a grande maioria dos metabolitos putativamente identificados provem do Ácido Chiquímico.

Em relação aos aspectos químicos relacionados à resistência do *C. limonia* o que parece é que a alta concentração das cumarinas xantiletina e seselina nas folhas, órgão de inóculo inicial, desempenham este papel de resistência ao atuarem como inibidores da formação do biofilme das bactérias impedindo a sua adesão inicial que é o aspecto fundamental para o sucesso da colonização das bactérias no hospedeiros e os flavonoides como a hesperidina desempenham a atividade antimicrobiana frente as bactérias.

No caso dos enxertos percebe-se que nas folhas há um aumento na produção das cumarinas seselina e bergapteno, indicando que esses metabolitos possam fazer parte no combate do processo infeccioso, entretanto sua pequena produção não chegar ser a mínima necessária para surtir algum efeito. O que se nota é que é as enzimas da família policetideo sintase são altamente expressas, onde a chalcona sintase é mais expressa nas folhas aumentando a produção de flavonoides e a acridona sintase nos caules tendo um aumento muito grande, o que leva a propôs a criação de mutantes que pudessem expressar mais essas enzimas responsáveis pela biossíntese desses alcaloides nas folhas a fim de avaliar o aumento a resistência a esse fitopatógeno. Ou mutante que produzisse mais seselina, 7-Demetilisotamarina e bergapteno nas folhas, já que esses foram ou

únicos detectados nos tratamentos doentes, podendo ser biomarcadores de combate ao processo infeccioso.

As perspectivas a respeito desse trabalho é fazer análises no CLAE-QTOF do Prof Dr Massuo Kato da USP São Paulo a fim de obter os devido tempos de retenção dos compostos que não tiveram suas identidade confirmadas ou não foram identificados e tentar isolá-los nos CLAE-RMN do Departamento de Química da UFSCar, como também tentar isolar ou comprar padrões desses compostos para serem testados frente *Xylella fastidiosa*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELNUR, P. V. **Estudo fitoquímico de citrus : resistência a *Xylella fastidiosa* e interação com *Oncometopia facialis***. 2006. 275 f. São Carlos, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2006.
- ABECITROS [ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA EXPORTADORES DE CITROS]. Disponível em: <www.abecitrus.com.br>. Acesso em: 15 jan. 2011.
- AGRIANUAL. Anuário da agricultura brasileira. **São Paulo: Agra FNP. Pesquisas**, p. 520, 2010.
- ALVES, E. ***Xylella fastidiosa* –adesão e colonização em vasos do xilema de laranja doce, cafeeiro, ameixeira, fumo e espécies de cigarrinhas vetoras e formação de biofilme sobre película de poliestireno**. 2003. 122 f. Piracicaba, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2003.
- ALVES, E.; LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F.; ISHIDA, M. L.; ANDERSEN, P. C. *Citrus sinensis* leaf petiole and blade colonization by *Xylella fastidiosa*: details of xylem vessel occlusion. **Scientia Agricola**, v. 66, n. April, p. 218–224, 2009.
- ANDRADE, P. F. D. S. **Fruticultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2012_13.pdf>. Acesso em: 8 abr. 2015.
- APG III. ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105–121, 2009.
- AVULA, B.; SAGI, S.; WANG, Y.-H.; WANG, M.; GAFNER, S.; MANTHEY, J. A.; KHAN, I. A. Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry Analysis of Limonoids and Flavonoids in Seeds of Grapefruits , Other *Citrus* Species , and Dietary Supplements. **Planta medica**, v. 82, n. 8, p. 650–662, 2016.
- BAKER, R.; BRAGARD, C.; CAFFIER, D.; CANDRESSE, T.; GILIOLI, G.; GRÉGOIRE, J.-C.; HOLB, I.; JEGER, M. J.; KARADJOVA, O. E.; MAGNUSSON, C.; MAKOWSKI, D.; MANCEAU, C.; NAVAJAS, M.; RAFOSS, T.; ROSSI, V.; SCHANS, J.; SCHRADER, G.; UREK, G.; VLOUTOGLOU, I.; WINTER, S.; VAN DER WERF, W. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the {EU} territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. **EFSA Journal**, v. 13, n. 1, p. 1–262, 2015.
- BARKER, M.; RAYENS, W. Partial Least Square for Discrimination. **Journal of Chemometrics**, v. 17, p. 166–173, 2003.
- BAYER, R. J.; MABBERLEY, D. J.; MORTON, C.; MILLER, C. H.; SHARMA, I. K.; PFEIL, B. E.; RICH, S.; HITCHCOCK, R. A MOLECULAR PHYLOGENY OF THE ORANGE SUBFAMILY (RUTACEAE: AURANTIOIDEAE) USING NINE CPDNA SEQUENCES. v. 96, n. 3, p. 668–685, 2009.

BELLETE, B. S. **Estudo da variação do perfil químico de citros com hlb e sadios , buscando informações sobre mecanismo de defesa.** 2014. 188 f. São Carlos, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2014.

BERETTA, M. J. G. .; BARTHE, G. A. .; CECCARDI, T. L. .; LEE, R. F. .; DERRICK, K. . A survey for strains of *Xylella fastidiosa* in citrus affected by Citrus Variegated Chlorosis and Citrus Blight in Brazil. **Plant Disease**, v. 81, n. 10, p. 1196–1198, 1997.

BERHOW, M. A.; HASEGAWA, S.; MANNERS, D. G. Citrus Limonoids - Functional Chemicals. In: BERHOW, M. A.; HASEGAWA, S. (Ed.). **Agriculture and Food**. Washington DC: American Chemical Society, 2000.

BINO, R. J.; HALL, R. D.; FIEHN, O.; KOPKA, J.; SAITO, K.; DRAPER, J.; NIKOLAU, B. J.; MENDES, P.; ROESSNER-TUNALI, U.; BEALE, M. H.; TRETHERWEY, H. N.; LANGE, B. M.; WURTELE, E. S.; SUMNER, L. W. Potential of metabolomics as a functional genomics tool. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 9, p. 418–425, 2004.

BOVÉ, J. .; AYRES, A. J. Etiology of three recent diseases of citrus in São Paulo State: sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. **IUBMB Life**, v. 59, n. 4-5, p. 346–254, 2007.

BRANDA, S. S. .; VIK, A. .; FRIEDMAN, L. .; KOLTER, R. Biofilms: the matrix revisited. **Trends Microbiol.**, v. 13, p. 20–26, 2005.

BRLANSKY, R. H. .; DAVIS, C. L. .; TIMMER, L. W. .; HOWD, D. S. .; CONTRERA, J. Xylem-limited bacteria in citrus from Argentina with symptoms of citrus variegated chlorosis. **Phytopathology**, v. 8, p. 1212, 1991.

CARLOS, E. F.; CABRITA, J. R. M.; RODAS, V. Z.; GARCIA JR, A.; AYRES, A. J. Uso de podas em pomares com CVC. In: DONADIO, L. C. .; MOREIRA, C. S. (Ed.). **Clorose variegada dos citros**. Bebedouro: Estação Experimental de Citricultura, 1997. p. 113–122.

CARVALHO, P. E. . Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **Brasília: EMBRAPA**, p. 640, 1994.

CAVALCANTI, L. . **Papel da celulase xf-0818 na interação xylella fastidiosa x citros**. 2005. Piracicaba, Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2005.

CÉSAR, H. P. **Manual prático do enxertador**. 215. ed. São Paulo: Nobel, 1996.

CEVALLOS-CEVALLOS, J. M.; ETXEBERRIA, E.; DANYLUK, M. D.; RODRICK, G. E. Metabolomic analysis in food science : a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 11-12, p. 557–566, 2009.

CEVALLOS-CEVALLOS, J.; ROUSEFF, R.; REYES-DE-CORCUERA, J. Untargeted metabolite analysis of healthy and Huanglongbing infected orange leaves by CE-DAD. **Electrophoresis**, v. 30, n. 7, p. 1240–1248, 2009.

CHAGAS, C. M. .; ROSSETI, V. .; BERETTA, M. J. G. Electronmicroscopy studies of a xylem-limited bacterium in sweet orange affected with citrus variegated chlorosis disease in Brazil. **J. Phytopathol**, v. 134, p. 306–312, 1992.

CHAN, Y.-Y.; LI, C.-H.; SHEN, Y.-C.; WU, T.-S. Anti-inflammatory Principles from the Stem and Root Barks of *Citrus medica*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, n. 1, p. 61–65, 2010.

CHASE, M. W.; MORTON, C. M.; KALLUNLI, J. . Phylogenetic relationships of Rutaceae: cladistics analysis of the subfamilies using evidence from rbcL and aptB sequence variation. **American Journal of Botany**, v. 8, n. 9, p. 1191–1199, 1999.

CITRUS BR. **Produção de laranja e suco**. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/exportadores-citricos/setor/producao-192415-1.asp>>. Acesso em: 7 nov. 2015.

COLETTA-FILHO, H. D.; BORGES, K. M.; MACHADO, M. . Ocorrência de *Xylella fastidiosa* em plantas candidatas a matrizes de laranja doce, e transmissão por borbulhas contaminadas. **Laranja**, v. 21, p. 335–343, 2000.

COLETTA-FILHO HD PEREIRA EO, SOUZA AA, TAKITA MA, CRISTOFANI-YALE M, M. M. Analysis of resistance to *Xylella fastidiosa* within a hybrid population of Pera sweet orange x Murcott tangor. **Plant Pathology**, v. 56, p. 661–668, 2007.

COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. . L.; S. Microbial Biofilms. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 49, p. 711–745, 1995.

CRAWFORD, D. J.; GIANNASI, D. E. Plant Chemosystematics. **BioScience**, v. 32, n. 2, p. 114–118, 1982.

CRUZ, a. G.; CADENA, R. S.; ALVARO, M. B. V. B.; SANT'ANA, a. S.; OLIVEIRA, C. a F.; FARIA, J. a F.; BOLINI, H. M. a; FERREIRA, M. M. C. Assessing the use of different chemometric techniques to discriminate low-fat and full-fat yogurts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 210–214, 2013.

CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 39, p. 1–15, 2004.

DA SILVA, D. F. **Investigação da ação bactericida de produtos naturais sobre a bactéria *Xylella fastidiosa***. 2013. 77 f. São Carlos, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2013.

DA SILVA, F. R.; VETTORE, A. L.; KEMPER, E. L.; LEITE, A.; ARRUDA, P. Fastidian gum: the *Xylella fastidiosa* exopolysaccharide possibly involved in bacterial pathogenicity. **Microbiol Lett**, v. 203, p. 165–71, 2001.

DALKE, K. **New strains of fruit and nut pathogen yield their genomes**. Disponível em: <http://www.genomenetwork.org/articles/09_02/xylella.shtml>. Acesso em: 31 mar. 2016.

DALLA PRIA JR, W. .; LACAVAL, P. M. .; LI, W. .; MIRANDA, V. S. .; COSTA, P. I. .; FARIAS, P. R. S. .; HARTUNG, J. S. .; PEREIRA, E.O.; FRANCISCHINI, F. J. *Xylella fastidiosa* em frutos e sementes de laranja-doce afetados pela clorose variegada dos citros. **Laranja**, v. 23, n. 1, p. 183–202, 2002.

DAVIS, M.; PURCELL, A.; THOMSON, S. Pierce's disease of grapevines: Isolation of the causal bacterium. **Science**, v. 199, n. 4324, p. 75–77, 1978.

DE MIRANDA, M.P.; FELIPPE, M.R.; GARCIA, R.B.; YAMAMOTO, P.T. & LOPES, J. R. . Effect of insecticides and mineral oil on probing behavior of *Diaphorinacitri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. In: Proceedings of the 2nd International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. **Anais...** Orlando: 2001.

DE NEGRI, J. D. . Clorose variegada dos citros: nova anomalia afetando pomares em São Paulo e Minas Gerais. **Comunicado Técnico, Campinas: CATI**, v. 82, p. 6, 1990.

DE SENA, M. M.; POPPI, R. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. Evaluation of the use of chemometric methods in soil analysis. **Quím. Nova**, v. 23, p. 547–556, 2000.

DE VOS, R. C. H.; MOCO, S.; LOMMEN, A.; KEURENTJES, B., J. J.; BINO, R. J.; HALL, R. D. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Nature Protocols**, v. 2, p. 778–791, 2007.

DIMENT, J. A.; RITCHIE, E.; TAYLOR, W. C. A re-examination of *Evodia alata* F. Muell. The structure and synthesis of evoprenine, a new acridone alkaloid. **Australian Journal of Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 1719–1727, 1967.

DUDLEY, E.; YOUSEF, M.; WANG, Y.; GRIFFITHS, W. J. Targeted metabolomics and mass spectrometry. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, v. 80, p. 45 – 83, 2010.

DUNN, W. B.; ELLIS, D. I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 285–294, 2005.

EMBRAPA. “**Sistema para produção de citros para o nordeste**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/variedades.htm>>. Acesso em: 5 jun. 2012.

EMBRAPA. **Clorose variegada dos citros: Ameaça a citricultura do recôncavo sul**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/variedades.htm>>. Acesso em: 25 out. 2012.

FAO [FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES]. **No**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 19 jan. 2011.

FDA, F. and D. A. Guidance on Pharmacogenomic Data Submissions. **FDA**, v. 1-11, n. March, 2005.

FIEHN, O. Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes. **Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 155–171, 2002.

FIEHN, O.; KOPKA, J.; DORMANN, P.; ALTMANN, T.; TRETHER-EY, R. N.; WILLMITZER, L. Metabolite profiling for plant functional genomics. **Nature Biotechnology**, New York, v. 18, p. 1157–1161, 2000.

FOUOTSA, H.; MBAVENG, A. T.; MBAZOA, C. D.; NKENGFAK, A. E.; FARZANA, S.; IQBAL, C. M.; MEYER, J. J. M.; LALL, N.; KUETE, V. Antibacterial constituents of three Cameroonian medicinal plants : *Garcinia nobilis* , *Oricia suaveolens* and *Balsamocitrus camerunensis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 81, p. 1–10, 2013.

FRENCH, W. J.; KITAJIMA, E. W. Ocorrence of plum leaf scald in Brasil and Paraguay. **Plant Dis. Repr**, v. 63, p. 1035–1038, 1978.

FRY, S. M.; MILHOLLAND, R. D. Multiplication and translocation of *Xylella fastidiosain* petioles and stems of grapevines resistant, tolerant, and susceptible to Pierce's disease. **Phytopathology**, v. 80, n. 1, p. 61– 65, 1990.

FUNDECITRUS. **Manual de CVC -como obter sucesso no manejo da doença**. [s.l: s.n.].

FUNDECITRUS. **DOENÇAS E PRAGAS: CVC**. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/doencas/cvc/9>>. Acesso em: 29 set. 2015.

FUNDECITRUS. ***Xylella fastidiosa***. Disponível em: <http://www.centrodecitricultura.br/index.php?pag=xylella_fastidiosa>. Acesso em: 31 mar. 2016.

GARCIA, C. . **Estudo comparativo de pés-francos e enxertos do gênero citrus: correlação entre seus metabólitos e o processo de enxertia**. 2005. São Carlos, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2005.

GARDNER, M.; HEWITT, W. **Pierce's disease of the grapevine: the anaheim disease and the california vine disease**. California: Berkeley and Davis, 1974. 225 p.

GATTUSO, G.; BARRECA, D.; GARGIULLI, C.; LEUZZI, U.; CARISTI, C.; ORGANICA, C.; MESSINA, U.; SPERONE, S. Flavonoid Composition of Citrus Juices. **Molecules**, v. 12, p. 1641–1673, 2007.

GOHEEN, A. C.; NYLAND, G.; LOWE, S. . Association of frickettsialike organism with Pierce's disease of grapevines and alfafa dwarf and heat therapy of the disease in grapevine. **Phytopathology**, v. 63, n. 3, p. 341–345, 1973.

GOMES, L. A. L. **Investigação metabolômica da toxicidade da cocaína em ratos submetidos à privação de sono , utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas**. 2013. 148 f. São Paulo, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2013.

GRAY, A. I.; WATERMAN, P. G. Coumarins in the Rutaceae. **Phytochemistry**, v. 17, n. 1976, p. 845–864, 1978.

HABERMANN, G.; MACHADO, E. C.; RODRIGUES, J. D.; MEDINA, C. L. CO₂ assimilation, photosynthetic light response curves, and water relations of “Pêra” sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 79–87, 2003.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Phytologist**, v. 169, n. 453-468, 2006.

HAMMER, B. K.; BASSLER, B. L. Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae*. **Mol. Microbiol**, v. 50, p. 101–114, 2003.

HE CX, LI W B, AYRES AJ, HARTUNG JS, M. V. & DC, T. Distribution of *Xylella fastidiosa* in citrus rootstocks and transmission of citrus variegated chlorosis between sweet orange plants through natural root grafts. **Plant Disease**, v. 84, p. 622–626, 2000.

HERNANDEZ-MARTINEZ, R.; DE LA CERDA, K. A.; COSTA, H. S.; COOKSEY, D. A. .; WONG, F. P. Phylogenetic relationships of *Xylella fastidiosa* strains isolated from landscape ornamentals in Southern California. **Phytopathology**, v. 97, p. 857–864, 2007.

HEWITT, W. The probable home of Pierce’s disease virus. **Plant Disease Reporter**, v. 15, 1958.

HEWITT, W.; FRAZIER, N.; FREITAG, J.; WINKLER, A. Pierce’s disease investigations. **Hilgardia**, v. 19, n. 7, p. 207–264, 1949.

HOPKINS, D. . *Xylella fastidiosa*. In: SINGH, U. S.; SINGH, R. P.; KOHMOTO, K. (Ed.). **Pathogenesis and host specificity in plant diseases**. Great Britain: Elsevier Science Ltda, 1995. p. 185–197.

HOPKINS, D. L. Effects of plant growth regulators on development of Pierce’s disease symptoms in grapevine. **Phytopathology**, v. 69, n. 11, p. 944–946, 1985.

HOPKINS, D. L. *Xylella fastidiosa* xylem-limited bacterial pathogen of plants. **Annu Rev Phytopathol**, v. 27, p. 271–290, 1989.

HOPKINS, D. L.; MORTENSEN, J. A. Suppression of Pierce’s disease symptoms by tetracycline antibiotics. **Plant Dis. Reprtr**, v. 55, p. 610–612, 1971.

IKEDA, T.; KANAYA, S.; YONETANI, T.; KOBAYASHI, A.; FUKUSAKI, E. Prediction of Japanese Green Tea Ranking by Fourier Transform Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. **J. Agric. Food Chem**, v. 55, p. 9908–9912, 2007.

ISIDORO, M. M. **Estudo da variação do perfil químico de laranja pêra e tangerina tangor murcott após a inoculação do fungo *Alternaria alternata***. 2013. 175 f. São Carlos, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2013.

JANSE, J. D.; OBRADOVIC, A. *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. **Journal of Plant Pathology**, v. 92, p. S1.35– S1.48, 2010.

JORGE, L. A. D. C. **Aeromodelo da Embrapa ajuda mapear Morte Súbita dos Citros no Triângulo Mineiro e São Paulo**. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/artigo/aeromodelo-da-embrapa-ajuda-mapear-morte-subita-dos-citros-no-triangulo-mineiro-e-sao-paulo>>. Acesso em: 25 mar. 2015.

KEMSLEY, E. K.; LE GALL, G.; DAINY, J. R.; WATSON, A. D.; HARVEY, L. J.; TAPP, H. S.; COLQUHOUN, I. J. Multivariate techniques and their application in nutrition: a metabolomics case study. **The British journal of nutrition**, v. 98, p. 1–14, 2007.

KITAJIMA, E. ***Xylella fastidiosa***. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/old/imagens/especial-inovacao/imagens-projeto-genoma/xylela4.jpg/view>>. Acesso em: 31 mar. 2016.

KITAJIMA, E. W.; BAKARCIC, M.; FERNANDES-VALIEGA, M. . Association of rickettsia like bacteria with plum leaf scald disease. **Phytopathology**, v. 65, p. 476–479, 1975.

KOWALSKI, B.; WANG, Y.; VELTKAMP, D. J. Multivariate Instrument Standardization. **Anal. Chem.**, v. 63, p. 2750–2756, 1991.

KUBITZKI, K.; KALLUNKI, J. A.; DURETTO, M. Rutaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants: Vol. 10: Flowering Plants: Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. Berlin: Springer, 2011. p. 276–356.

KUBITZKI, K.; KALLUNKI, J. A.; DURETTO, M.; WILSON, P. G. Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). **The families and genera of vascular plants: Volume X - Flowering plants: Eudicots - Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. Berlin: Springer, 2011. p. 276–356.

KUROYANAGI, M.; ISHII, H.; KAWAHARA, N.; SUGIMOTO, H.; YAMADA, H.; OKIHARA, K.; SHIROTA, O. Flavonoid glycosides and limonoids from *Citrus molasses*. **Journal of natural medicines**, v. 62, p. 107–111, jan. 2008.

LABORDE, C. M.; MOURINO-ALVAREZ, L.; AKERSTROM, F.; PADIAL, L. R.; VIVANCO, F.; GIL-DONES, F.; BARDERAS, M. G. Potential blood biomarkers for stroke. **Expert Rev Proteomics**, v. 9, n. 4, p. 437–449, 2012.

LARANJEIRA, F. . **Epidemiologia da clorose variegada dos citros no estado de são paulo**. 2002. 158 f. Piracicaba, Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2002.

LARANJEIRA, F. .; PALAZZO, D. Determinação preliminary dos efeitos da clorose cariegada dos citros em características físico-químicas de frutos de laranja Natal. **Fitopatologia Brasileira**, v. 9, p. 309, 1994.

LARANJEIRA, F. F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; COLETTA FILHO, H. . Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e FUNDAG, 2005. p. 536.

LARANJEIRA, F. F.; PALAZZO, D. Danos qualitativos à produção de laranja “Natal” causados pela clorose variegada dos citros. **Laranja**, v. 20, n. 1, p. 77–91, 1999.

LARANJEIRA, F. F.; POMPEU JUNIOR, J.; HARAKAVA, R. Seleção de variedades e/ou tolerantes á Clorose Variegada dos Citros. (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 324, 1995.

LEE, J.; KIM, Y.; SEOB, H.; YONG, S.; HWAN, M.; LEE, J. Coumarins reduce biofilm formation and the virulence of *Escherichia coli* O157:H7. **Phytomedicine**, v. 35, p. 6–11, 2014.

LEE, R. F.; BERETTA, M. J. G.; HARTUNG, J. H.; HOOKER, M. E.; DERRICK, K. S. Citrus variegated chlorosis: confirmation of *Xylella fastidiosa* as the causal agent. **Summa Phytopathologica**, v. 19, n. 2, p. 123–125., 1993.

LEE, R. F.; RAJU, B. C.; NYLAND, G.; GOHEEN, A. . Phytotoxin(s) produced in culture by the pierces disease bacterium. **Phytopathology**, v. 72, n. 7, p. 886–888, 1982.

LEITE, B.; ISHIDA, M. L.; ALVES, E.; CARRER, H.; PASCHOLATI, S. F.; KITAJIMA, E. W. Genomics and X-ray microanalysis indicate that Ca^{2+} and thiols mediate the aggregation and adhesion of *Xylella fastidiosa*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 6, p. 645–650, 2002.

LEITE, B.; PASCHOLATE, S. F.; KITAJIMA, E. W.; ISHIDA, M. I. Mecanismos de adesão de bactérias e fungos às plantas hospedeiras. **RAPP**, v. 9, p. 1–41, 2001.

LI, W. . **Avaliação do comportamento de variedades de copas e porta-enxertos à clorose variegada dos citros**. 1997. 55 f. Jaboticabal, Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, 1997.

LI, W. B.; PRIA, JR, W. D.; LACAVAL, P. M.; HARTUNG, J. . Presence of *Xylella fastidiosa* in sweet orange fruit and seeds and its transmission to seedlings. **Phytopathol**, v. 93, n. 8, p. 953–958, 2003.

LONGNECKER, K.; FUTRELLE, J.; COBURN, E.; KIDO SOULE, M. C.; KUJAWINSKI, E. B. Environmental metabolomics: Databases and tools for data analysis. **Marine Chemistry**, v. 177, p. 366–373, 2015.

LOPES, J. R. S.; BERETTA, M. J. G.; HARAKAVA, R.; ALMEIDA, R. P. P.; KRÜGNER, R.; GARCIA JUNIOR, A. Confirmação da transmissão por cigarrinhas do agente causal da clorose variegada dos citros, *Xylella fastidiosa*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 343, 1996.

LOPES, J. R. S.; GIUSTOLIN, T. A. Outros hospedeiros da cigarrinha. **Revista do Fundecitrus**, v. 14, p. 14, 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992. 351 p.

MA, Y.; ZHANG, P.; YANG, Y.; WANG, F.; QIN, H. Metabolomics in the fields of oncology: A review of recent research. **Molecular Biology Reports**, v. 39, p. 7505–7511, 2012.

MACHADO, E. C.; QUAGGIO, J. A.; LAGÔA, A. M. M. A.; TICELLI, M.; FURLANI, P. R. Trocas gasosas e relações hídricas em laranjeira com clorose variegada dos citros. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 6, p. 53–57, 1994.

MANNERS, G. D.; HASEGAWA, S. A New Normal Phase Liquid Chromatographic Method for the Analysis of Limonoids in *Citrus*. **Phytochemical analysis**, v. 10, p. 76–81, 1999.

MARIA-RESENDE, N.; CAMERON, L. C. **VOCÊ SABE O QUE É METABOLÔMICA?** Disponível em: <<http://www.proximus.com.br/news/node/211>>. Acesso em: 6 fev. 2016.

MARUCCI, R. C.; CAVICHIOLI, R. R.; ZUCCHI, R. A. Chave para as espécies de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae: Cicadellinae) vetoras da clorose variegada dos citros (CVC). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, n. 3, p. 439–446, 1999.

MATSUBARA, Y.; YUSA, T.; SAWABE, A.; IIZUKA, Y.; TAKEKUMA, S.; YOSHIDA, Y. Structures of New Cyclic Peptides in Young Unshiu (*Citrus unshiu* Marcov.), Orange (*Citrus sinensis* Osbeck.) and Amanatsu (*Citrus natsudaidai*) Peelings. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 55, n. 12, p. 2923–2929, 1991.

MCNAB, H.; FERREIRA, E. S. B.; HULME, A. N.; QUYE, A. Negative ion ESI-MS analysis of natural yellow dye flavonoids – an isotopic labelling study. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 284, p. 57–65, 2009.

MEDINA, C. L. **Fotossíntese, relações hídricas e alterações bioquímicas em laranjeira `pêra` com cvc submetida à deficiência hídrica**. 2002. 147 f. Campinas, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas., 2002.

MIRCETICH, S. M.; LOWE, S. K.; MOLLER, W. J.; NYLAND, G. Etiology of almond leaf scorch disease and transmission of the causal agent. **Phytopathology**, v. 66, p. 17–24, 1976.

MOLLENHAUER, H. H.; HOPKINS, D. L. Xylem morphology of Pierce's disease-infected grapevines with different levels of tolerance. **Physiology Plant Pathology**, v. 9, n. 1, p. 95–100, 1976.

MONTON, M. R. N.; SOGA, T. Metabolome analysis by capillary electrophoresis-mass spectrometry. **J. Chromatog. A**, v. 1168, p. 237–246, 2007.

MORALES, J. **Injerto en árboles**. Disponível em: <<http://articulos.infojardin.com/arboles/injertos-injerto-arboles.htm>>. Acesso em: 17 jun. 2014.

- MORITA, H.; ENOMOTO, M.; HIRASAWA, Y.; IIZUKA, T.; OGAWA, K.; KAWAHARA, N.; GODA, Y.; MATSUMOTO, T.; TAKEYA, K. Cyclonatsudamine A, a new vasodilator cyclic peptide from *Citrus natsudaidai*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 17, n. 19, p. 5410–3, 1, 2007.
- MORTON, C. M.; TELMER, C. New Subfamily Classification for the Rutaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 99, n. 4, p. 620–641, 2014.
- NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P. ; LOPES, F. F.; PEREIRA, F. C.; KALAKI, R. B. O. O retrato da citricultura brasileira. v. 1, p. 137, 2010.
- NEWMAN, K. L.; ALMEIDA, R. P. P.; PURCELL, A. H.; LINDOW, S. E. Cell-cell signaling controls *Xylella fastidiosa* interactions with both insects and plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, p. 1737–42, 2004.
- NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C.; HOLMES, C. E. Metabonomics: understanding the metabolic response of living systems to pathological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **Xenobiotica**, v. 29, p. 1181–1189, 1999.
- NIZA, B. **Transformação de *Xylella fastidiosa* com gfp, colonização em citros e implementação do sistema de dieta artificial para o inseto vetor: novas abordagens no estudo do patossistema cvc**. 2014. 100 f. Campinas, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 2014.
- NOH, H. J.; HWANG, D.; LEE, E. S.; HYUN, J. W.; YI, P. H.; KIM, G. S.; LEE, S. E.; PANG, C.; PARK, Y. J.; CHUNG, K. H.; KIM, G. Do; KIM, K. H. Anti-inflammatory activity of a new cyclic peptide, citrusin XI, isolated from the fruits of *Citrus unshiu*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 163, p. 106–112, 2015.
- NUNES, W. M. C. **Epidemiologia da clorose variegada dos citros (cvc) avaliada por sintoma e diagnóstico serológico e molecular de *xylella fastidiosa***. 1999. 144 f. Botucatu, Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, 1999.
- OHTA, T.; MIYAZAKI, T.; YAMAKAWA, T. Furoquinolines. XV III. Detection of Alkaloids in *Poneirus trifoliata* and Citrus Species by Paper Chromatography . . **The Japanese Society of Pharmacognosy**, v. 13, n. 2, p. 131–133, 1959.
- PAIVA, P. E. B.; SILVA, J. L.; GRAVENA, S.; YAMAMOTO, P. T. Cigarrinhas de xilema em pomares de laranja do Estado de São Paulo. **Laranja**, v. 17, n. 1, p. 41–54, 1996.
- PALAZZO, D. A.; CARVALHO, M. L. . Desenvolvimento e progresso da clorose variegada dos Citros (CVC) em pomares de Colina, SP. **Laranja**, v. 13, n. 2, p. 489–502, 1992.
- PARRA, J. R. .; LOPES, J. R. S.; ZUCCHI, R. A.; GUEDES, J. V. C. Biologia de insetos-praga e vetores. In: JR., D. M.; NEGRI, J. D. DE; PIO, R. M.; JR., J. P. (Ed.). **Citros**. 1. ed. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. p. 655–687.

PEARSON, R. C.; GOHEEN, A. . **Compendium of grape disease**. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society, 1988. 93 p.

PESQUISA FAPESP. *Xylella*. Disponível em:
<<http://www.brasil.gov.br/old/imagens/especial-inovacao/imagens-projeto-genoma/xylella1.jpg/view>>. Acesso em: 31 mar. 2016.

PIERCE, N. The California vine disease. **U.S. Dept. Agr. Div. Veg. Pathol., Bull.**, v. 2, p. 222, 1892.

PIRANI, J. . **Estudos taxonômicos em rutaceae: revisão de helietta e balfourodendron (pteleinae), análise cladística de pteleinae, sinopse de rutaceae do brasil**. 1999. São Paulo, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo., 1999.

PIRANI, J. R.; GROPPPO, M. **Rutaceae**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB212>>. Acesso em: 24 fev. 2016.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A. A. (Ed.). **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. p. 265–280.

POMPEU JÚNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, S. C. P.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. A. (Ed.). **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. p. 265–280.

PORTER, D. M.; ELIAS, T. . Flora of Panamá: Rutaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 66, p. 123–164, 1979.

PURCELL, A. H.; HOPKINS, D. . Fastidious Xylem-Limited Bacterial Plant Pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 131–151, 1996.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; PARADELA FILHO, O. Caracterização de estruturas anatômicas de citros infectados com *Xylella fastidiosa*. **Laranja**, v. 20, n. 1, p. 55–76, 1999.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; FAHL, I.; CARELLI, M. L. C.; PARADELA FILHO, O.; SUGIMORI, M. H.; GALLO, P. B. Relação entre os sintomas morfológicos externos de cafeeiro infectado pela *Xylella fastidiosa* e a porcentagem de obstrução dos vasos do xilema. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Belo Horizonte: 2000.

RAMAUTAR, R.; DEMIRCI, A.; JONG, G. J. Capillary electrophoresis in metabolomics. **Trends Anal. Chem.**, v. 25, n. 5, p. 455–466, 2006.

RANDALL, J. J.; GOLDBERG, N. P.; KEMP, J. D.; RADIONENKO, M.; FRENCH, J. M.; OLSEN, M. W.; HANSON, S. F. Genetic Analysis of a Novel *Xylella fastidiosa* Subspecies Found in the Southwestern United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 5631–5638, 2009.

RIBEIRO, A. B.; ABDELNUR, P. V.; GARCIA, C. F.; BELINI, A.; SEVERINO, V. G. P.; DA SILVA, M. F. D. G. F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; DE CARVALHO, S. A.; DE SOUZA, A. A.; MACHADO, M. A. Chemical Characterization of *Citrus sinensis* Grafted on *C. limonia* and the Effect of Some Isolated Compounds on the Growth of *Xylella fastidiosa*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, p. 7815–7822, 2008.

RIBEIRO, C. V. C.; KAPLAN, M. A. C. Tendências evolutivas de famílias produtoras de cumarinas em Angiospermae. **Quimica Nova**, v. 25, n. 4, p. 533–538, 2002.

RICHTER, H. G.; DALLWITZ, M. J. **Madeiras Comerciais: Descrições, Ilustrações, Identificação e Informação**. Disponível em: <<http://delta-intkey.com/wood/pt/index.htm>>. Acesso em: 15 dez. 2010.

ROBERTO, S. R.; COUTINHO, A.; O., L. J. E.; MIRANDA, V. S.; CARLOS, E. F. Transmissão de *Xylella fastidiosa* pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*, *Acrogonia terminalise* *Oncometopia facialis* em citros. **Fitopatol. Bras.**, v. 21, p. 517–518, 1996.

ROBERTO, S. R.; DALLA PRIA JR., W.; YAMAMOTO, P. T.; FELIPPE, M. R.; FREITAS, E. P. Espécie e flutuação populacional de cigarrinhas em viveiro de citros, em Gavião Peixoto (SP). **Laranja**, v. 21, n. 1, p. 65–79, 2000.

ROBERTSON, D. G. Metabonomics in toxicology: A review. **Toxicological Sciences**, v. 85, n. 2, p. 809–822, 2005.

ROCHFORT, S. Metabolomics reviewed: A new “Omics” platform technology for systems biology and implications for natural products research. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 1813–1820, 2005.

ROSSETTI, V.; DE NIGRI, J. D. Clorose variegada dos Citros: revisão. **Laranja**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 1990.

ROSSETTI, V.; GARNIER, M.; BOVE, J. M.; BERETTA, M. J. G.; TEIXEIRA, A. R. R. Présence de bactéries dans le xylème d’orangers atteints de chlorose variégé, une nouvelle maladie des agrumes au Bresil. **C. R. Acad. Sci.**, v. 310, p. 345–349, 1990.

SCHAAD, N. W.; POSTNIKOVA, E.; LACY, G.; FATMI, M.; CHANG, C.-J. *Xylella fastidiosa* subspecies: *Xylella fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. **System. Appl. Microbiol.**, v. 27, p. 290–300, 2004.

SCHAUER, N.; STEINHAUSER, D.; STRELKOV, S.; SCHOMBURG, D.; ALLISON, G.; MORITZ, T.; LUNDGREN, K.; ROESSNER-TUNALI, U.; FORBES, M. G.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R.; KOPKA, J. GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples. **FEBS Letters**, v. 579, p. 1332–1337, 2005.

SCHRIPSEMA, J. Application of NMR in plant metabolomics: Techniques, problems and prospects. **Phytochemical Analysis**, v. 21, n. November 2009, p. 14–21, 2010.

SCHUDOMA, C.; STEINFATH, M.; SPRENGER, H.; DONGEN, J. T. van; HINCHA, D.; ZUTHER, E.; GEIGENBERGER, P.; KOPKA, J.; KÖHL, K.; WALTHER, D. Conducting Molecular Biomarker Discovery Studies in Plants. In: NORMANLY, J. (Ed.). **High-Throughput Phenotyping in Plants: Methods Methods and Protocols**. Amherst, MA: Springer Science, 2009. 531p. 588.

SCHUENZEL, E. L.; SCALLY, M.; STOUTHAMER, R.; NUNNEY, L. A. Multigene Phylogenetic Study of Clonal Diversity and Divergence in North American Strains of the Plant Pathogen *Xylella fastidiosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 3832–3839, 2005.

SEIGLER, D. S. Alkaloids Derived from Anthranilic Acid. In: SEIGLER, D. S. (Ed.). **Plant Secondary Metabolism**. 1. ed. New York: Springer Science, 1998. p. 558–577.

SERIKAWA, R.H.; OKUMA, D.M.; BACKUS, E.A. & ROGERS, M. E. Effects of soil-applied and foliar-applied insecticides on Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) feeding behavior and their possible implication for HLB transmission. In: Proceedings of the 2nd International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. **Anais...** Orlando: 2011.

SILVA-STENICO, M. E.; PACHECO, F. T. H.; PEREIRA-FILHO, E. R.; RODRIGUES, J. L. M.; SOUZA, A. N.; ETCHEGARAY, A.; GOMES, J. E.; TSAI, S. M. Nutritional deficiency in citrus with symptoms of citrus variegated chlorosis disease. **Braz. J. Biol.**, v. 69, n. 3, p. 859–864, 2009.

SIMPSON, A. J.; REINACH, F. C.; ARRUDA, P.; ABREU, F. A.; ACENCIO, M.; ALVARENGA, R.; ALVES, L. M.; ARAYA, J. E.; BAIA, G. S.; BAPTISTA, C. S.; BARROS, M. H.; BONACCORSI, E. D.; BORDIN, S.; BOVE, J. M.; BRIONES, M. R.; BUENO, M. R.; CAMARGO, a a; CAMARGO, L. E.; CARRARO, D. M.; CARRER, H.; COLAUTO, N. B.; COLOMBO, C.; COSTA, F. F.; COSTA, M. C.; COSTA-NETO, C. M.; COUTINHO, L. L.; CRISTOFANI, M.; DIAS-NETO, E.; DOCENA, C.; EL-DORRY, H.; FACINCANI, a P.; FERREIRA, a J.; FERREIRA, V. C.; FERRO, J. a; FRAGA, J. S.; FRANCA, S. C.; FRANCO, M. C.; FROHME, M.; FURLAN, L. R.; GARNIER, M.; GOLDMAN, G. H.; GOLDMAN, M. H.; GOMES, S. L.; GRUBER, A.; HO, P. L.; HOHEISEL, J. D.; JUNQUEIRA, M. L.; KEMPER, E. L.; KITAJIMA, J. P.; KRIEGER, J. E.; KURAMAE, E. E.; LAIGRET, F.; LAMBAIS, M. R.; LEITE, L. C.; LEMOS, E. G.; LEMOS, M. V.; LOPES, S. a; LOPES, C. R.; MACHADO, J. a; MACHADO, M. a; MADEIRA, a M.; MADEIRA, H. M.; MARINO, C. L.; MARQUES, M. V; MARTINS, E. a; MARTINS, E. M.; MATSUKUMA, a Y.; MENCK, C. F.; MIRACCA, E. C.; MIYAKI, C. Y.; MONTERIRO-VITORELLO, C. B.; MOON, D. H.; NAGAI, M. a; NASCIMENTO, a L.; NETTO, L. E.; NHANI JR., A.; NOBREGA, F. G.; NUNES, L. R.; OLIVEIRA, M. a; DE OLIVEIRA, M. C.; DE OLIVEIRA, R. C.; PALMIERI, D. a; PARIS, A.; PEIXOTO, B. R.; PEREIRA, G. a; PEREIRA JR., H. a; PESQUERO, J. B.; QUAGGIO, R. B.; ROBERTO, P. G.; RODRIGUES, V.; DE, M. R. a J.; DE ROSA JR., V. E.; DE SA, R. G.; SANTELLI, R. V; SAWASAKI, H. E.; DA SILVA, a C.; DA SILVA, a M.; DA SILVA, F. R.; DA SILVA

JR., W. a; DA SILVEIRA, J. F.; SILVESTRI, M. L.; SIQUEIRA, W. J.; DE SOUZA, a a; DE SOUZA, a P.; TERENCEZI, M. F.; TRUFFI, D.; TSAI, S. M.; TSUHAKO, M. H.; VALLADA, H.; VAN SLUYS, M. a; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; VETTORE, A. L.; ZAGO, M. A.; ZATZ, M.; MEIDANIS, J.; SETUBAL, J. C. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. The *Xylella fastidiosa* Consortium of the Organization for Nucleotide Sequencing and Analysis. **Nature**, v. 406, p. 151–159, 2000.

SMITH, C. A.; O'MAILLE, G.; WANT, E. J.; QIN, C.; TRAUGER, S. A.; BRANDON, T. R.; CUSTODIO, D. E.; ABAGYAN, R.; SIUZDAK, G. **METLIN: a metabolite Mass spectral database** *Ther Drug Monit*, 2005. . Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16404815>>.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC method development**. 2. ed. New York: Wiley, 1997. 350–400 p.

SOARES, M. S. **Estudo da variação de citrus sinensis sobre citrus limonia após a inoculação de *Xylella fastidiosa***. 2011. São Carlos, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2011.

SOARES, M. S.; DA SILVA, D. F.; FORIM, M. R.; DA SILVA, M. F. D. G. F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, D. B.; LOPES, N. P.; DE CARVALHO, S. A.; DE SOUZA, A. A.; MACHADO, M. A. Quantification and localization of hesperidin and rutin in *Citrus sinensis* grafted on *C. limonia* after *Xylella fastidiosa* infection by HPLC-UV and MALDI imaging mass spectrometry. **Phytochemistry**, 2014.

SOUZA, A. . Frutas cítricas: singularidades do Mercado. **Preços Agrícolas**, p. 8–10, 2001.

SOUZA, L. C.; WULFF, N. A.; GAURIVAUD, P.; MARIANO, A. G.; VIRGILIO, A. C.; AZEVEDO, J. L.; MONTEIRO, P. B. Disruption of *Xylella fastidiosa* CVC gumB and gumF genes affects biofilm formation without a detectable influence on exopolysaccharide production. **FEMS Microbiol Lett**, v. 257, n. 2, p. 236–242, 2006.

SOUZA, L. H. B. **Citros doenças**. Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/danielmotaba/citros-doenas>>.

STOODLEY, L. H.; COSTERTON, J.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious disease. **Nat. Rev.**, v. 2, p. 95–108, 2004.

SUMNER, L. W.; MENDES, P.; DIXON, R. A. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era. **Phytochemistry**, v. 62, p. 817–836, 2003.

SWALLOW, W. H. Group testing for estimating infection rates and probabilities of disease transmission. **Phytopathology**, v. 75, n. 8, p. 882–889, 1985.

TAULER, R.; BARCELLO, D.; THURMAN, E. M. Multivariate correlation between concentrations of selected herbicides and derivatives in outflows from selected US midwestern reservoirs. **Environ. Sci Technol.**, v. 34, p. 3307–3314, 2000.

TECHNOLOGIES, B. A Novel Approach for Nontargeted Data Analysis for Metabolomics. Large-Scale Profiling of Tomato Fruit Volatiles. **Society**, v. 139, p. 1125–1137, 2005.

TRYGG, J.; LUNDSTEDT, T. Chemometrics techniques for metabonomics. *In*: C, L.; NICHOLSON, J. K.; HOLMES, E. (Ed.). **The handbook of metabonomics and metabolomics**. Oxford: Elsevier Science Ltda, 2007. p. 171–199.

TYSON, G. E.; ST OJANOVIC, B. J.; KUKLINSKI, R. F.; DIVITTORIA, T. J.; SULLIVAN, M. L. Scanning electron microscopy of Pierce's disease bacterium in petiolar xylem of grape leaves. **Phytopathology**, v. 75, n. 3, p. 264–269, 1985.

VEENSTRA, T. D. Metabolomics: the final frontier? **Genome medicine**, v. 4, p. 40–42, 2012.

VET, L. E. M.; LENTEREN, J. C. V.; HEYMANS, M.; MEELIS, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, v. 8, p. 97–106, 1983.

VILLAS-BÔAS, S. G.; MAS, S.; ÅKESSON, M.; SMEDSGAARD, J.; NIELSEN, J. Mass spectrometry in metabolome analysis. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 24, p. 613–646, 2005.

VUL'FSON, N. S.; GOLOVKINA, L. S. Mass Spectrometry of Chromen-2-ones (Coumarins) and of Furo- and Pyrano-chromenones Mass Spectrometry. **Russian Chemical Reviews**, v. 44, n. 7, p. 1308–1343, 1975.

WATENNAN, P. G. PHYTOCHEMICAL DIVERSITY IN THE ORDER RUTALES. *In*: DOWNUM, K. R.; ROMEO, J. T.; STAFFORD, H. A. (Ed.). **Recent advances in phytochemistry: Volume 27 - Phytochemical Potential of Tropical Plants**. New York: Plenum Press, 1993. p. 203–228.

WATERMAN, P. G. . The chemical systematic of alkaloids: a review emphasizing the contribution of Robert Hegnauer. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 26, p. 395, 1999.

WATERS, I. **An overview of the principles of MSE, the engine that drives MS performance**Waters Technical Note. [s.l: s.n.].

WELLS, J. M.; RAJU, B. C.; HUNG, H. Y.; WEINSBERG, W. G.; MANDELCO-PAUL, L.; BRENNER, D. . "*Xylella fastidiosa* gen. nov. sp. nov.: Gram-negative, xylem-limited fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 37, p. 136–143, 1987.

WEN-WEN, P.; MAO-BO, H.; WEI-WU, S.; NING-HUA, T. Cyclopeptides from Immature Fruits of *Citrus aurantium*. **Natural Products Research and Development**, v. 26, p. 1416–1420, 2014.

WISHART, D. S. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. **Trends Food Sci. Tech.**, v. 19, p. 482–493, 2008.

WOLD, S. Principal Component Analysis. **Chemom. Intell. Lab. Sys**, v. 2, p. 37–52, 1987.

WOLFENDER, J.; RUDAZ, S.; CHOI, Y. H.; KIM, H. K. Plant Metabolomics : From Holistic Data to Relevant Biomarkers. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 1056–1090, 2013.

YAMAMOTO, P. T.; DALLA PRIA JR., W.; ROBERTO, S. R.; FELIPPE, M. R.; DE FREITAS, E. P. Flutuação Populacional de cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae) em pomar cítrico em formação. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 175–177, 2001.

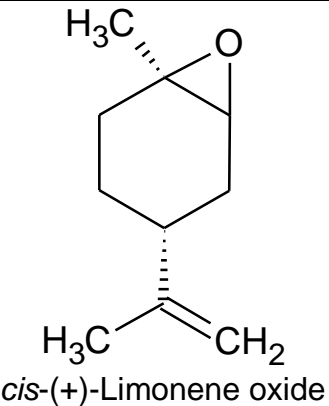
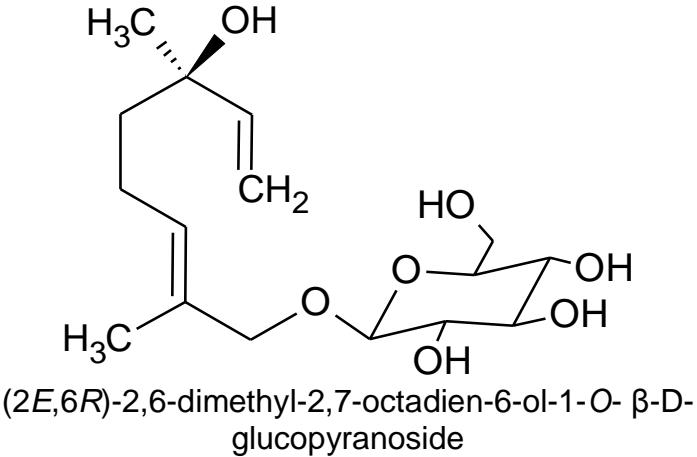
YAMAMOTO, P. T.; LOPES, J. R. S. Cigarrinhas na proliferação da clorose variegada dos citros. **Visão Agrícola**, v. 2, p. 60–63, 2004.

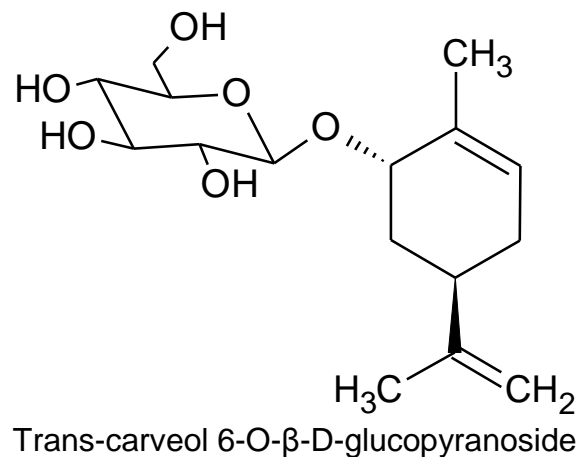
YANG, L.; DING, W.; XU, Y.; WU, D.; LI, S.; CHEN, J.; GUO, B. New Insights into the Antibacterial Activity of. **Molecules**, v. 21, p. 1–13, 2016.

ZUKAS, A. a; BREKSA, A. P.; MANNERS, G. D. Isolation and characterization of limonoate and nomilinoate A-ring lactones. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2705–9, out. 2004.

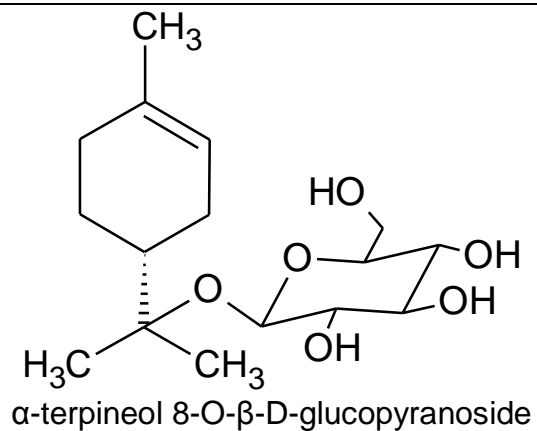
ANEXO

**Banco de Dados dos
Metabólitos Secundários
Isolados do Gênero *Citrus***

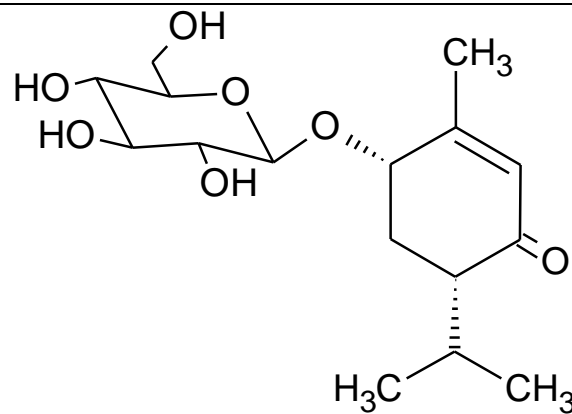
Estrutura/Nome	Espécie de <i>Citrus</i>	Extraído	Fórmula molecular	Massa monoisotópica
Monoterpenos				
 <p><i>cis</i>-(+)-Limonene oxide</p>	<i>C. grandis</i>	Pericarpo[1]	C ₁₀ H ₁₆ O	152,2334
 <p>(2<i>E</i>,6<i>R</i>)-2,6-dimethyl-2,7-octadien-6-ol-1-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2],[3]		
	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]		
	<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2],[3]	C ₁₆ H ₂₈ O ₇	332,3893
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2],[3]		



<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2],[3]		
<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]		
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2],[3]	$C_{16}H_{26}O_6$	314,3740
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2],[3]		



<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2],[3]	$C_{16}H_{28}O_6$	316,3899
--------------------	------------------------	-------------------	----------



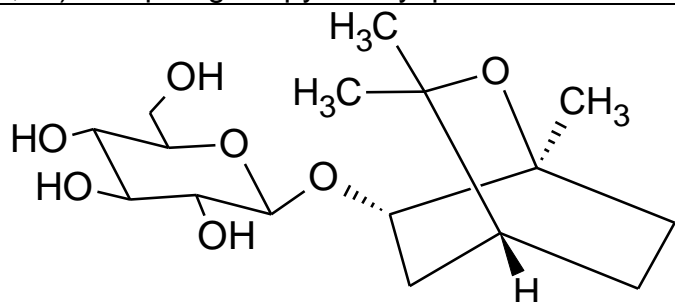
(4S,6S)-6-O-β-D-glucopyranosyl-p-menth-1-en-3-one

C. sudachi

Casca do fruto [2]

$C_{16}H_{26}O_7$

330,3734



(1S,4R,6S)-1,3,3-trimethyl-2-oxobicyclo [2.2.2] octan-6-O-β-D-glucopyranoside

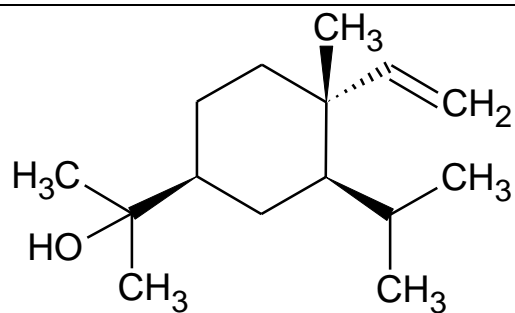
C. unshiu

Casca do fruto [2]

$C_{16}H_{28}O_7$

332,3893

Sesquiterpeno



Elemol

C. nobilis

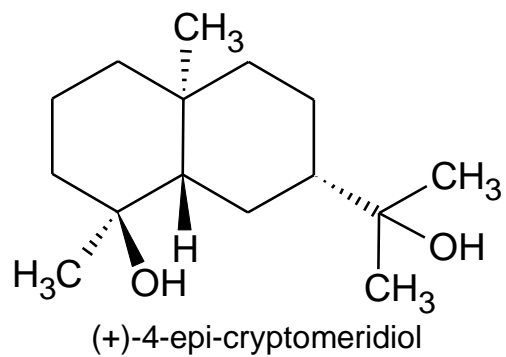
Casca da raíz [4]

$C_{15}H_{28}O$

224,3822

C. sinensis

Casca da raíz [5]



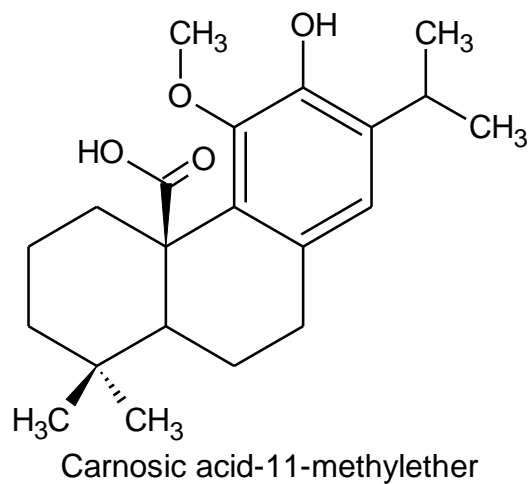
C. hystrix

Casca do fruto [6]

$C_{15}H_{28}O_2$

240,3816

Diterpeno



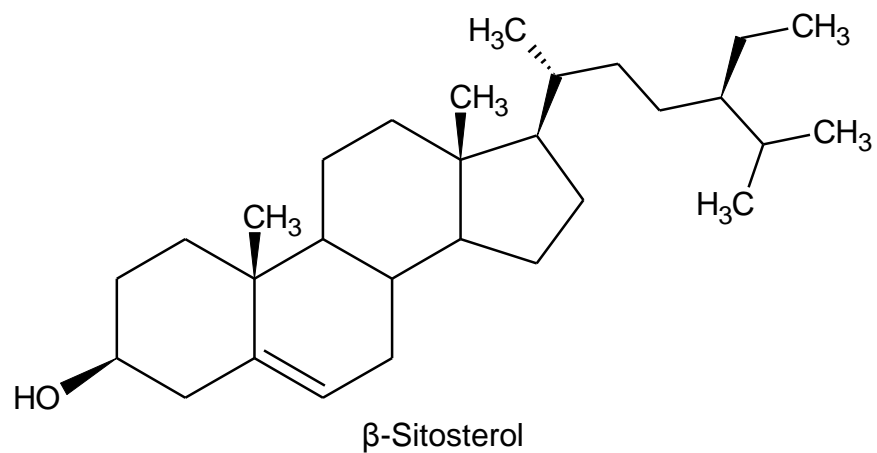
*C. sinensis x
Poncirus
trifoliata*

Raíz [7]

$C_{21}H_{30}O_4$

346,4605

Esteroides



C. sinensis Folhas [8],[9];
casca do fruto [10]
e óleo da casca do
fruto [11]

C. limonia Raíz [9]

C. medica Casca raíz e
casca do caule
[12]

C. paradisi Casca do fruto [13]
e óleo da casca do
fruto [11],[14]

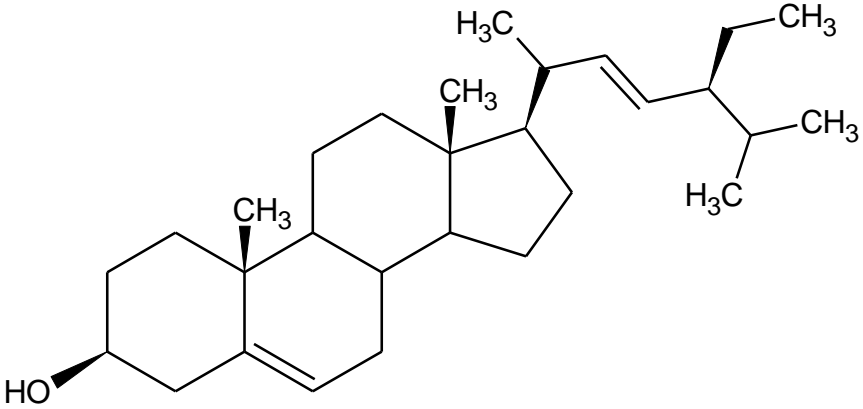
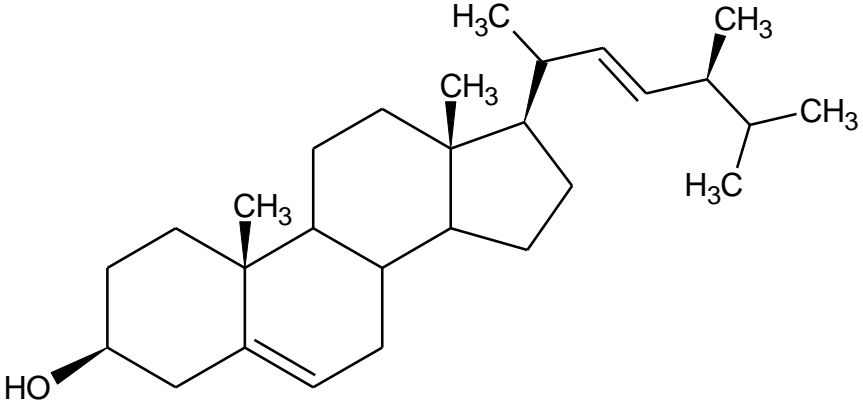
C. hystrix Folhas [6]

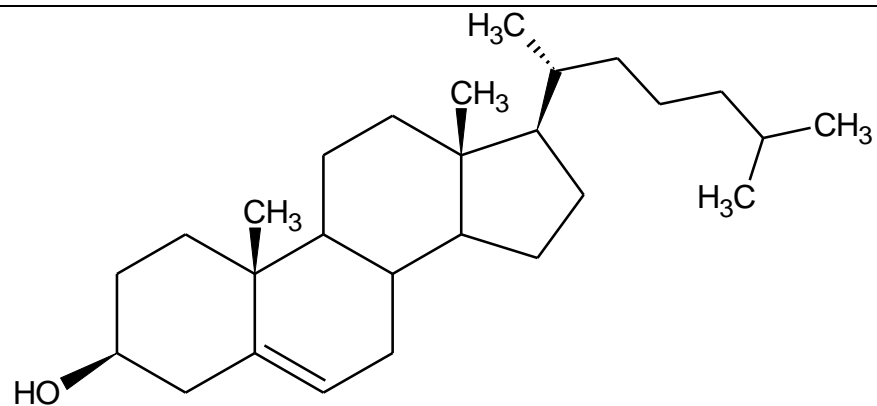
C. kinokuni Casca do fruto [15]

C. jambhiri Casca do fruto [16]

$C_{29}H_{50}O$ 414,7067

*C. sinensis x
Poncirus
trifoliata* Raíz [7]

 <p>Stigmasterol</p>	<i>C. sinensis</i>	Folhas [9] e casca do fruto [10]	C ₂₉ H ₄₈ O	412,6908
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. medica</i>	Casca raíz e casca do caule [12]		
	<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [13]		
	<i>C.jambhiri</i>	Casca do fruto [17]		
 <p>Campesterol</p>	<i>C. sinensis</i>	Folhas [9] e casca do fruto [10]	C ₂₈ H ₄₆ O	398,6642
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [13]		



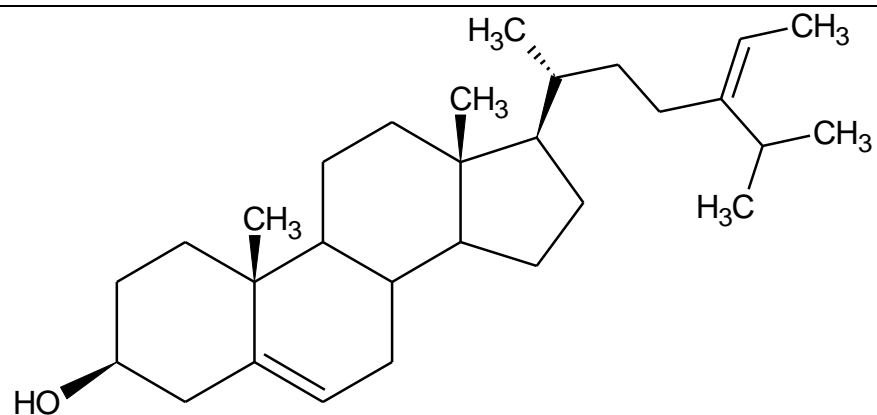
Cholesterol

C. sinensis

Casca do fruto [10]

C₂₇H₄₆O

386,6535



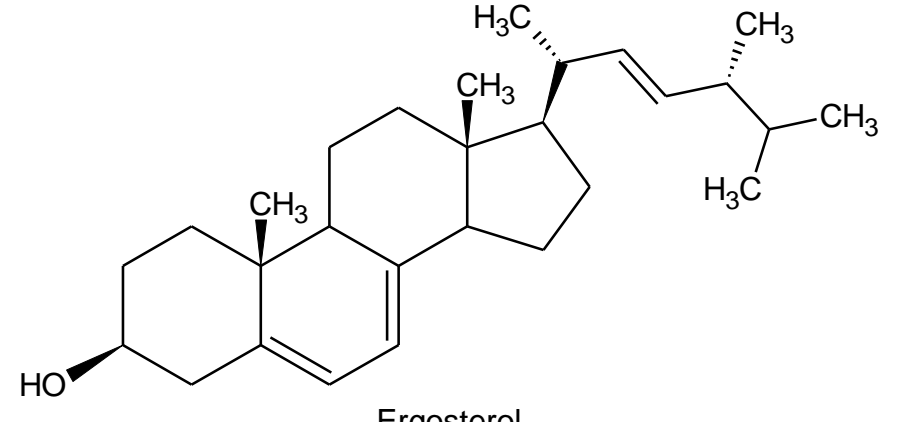
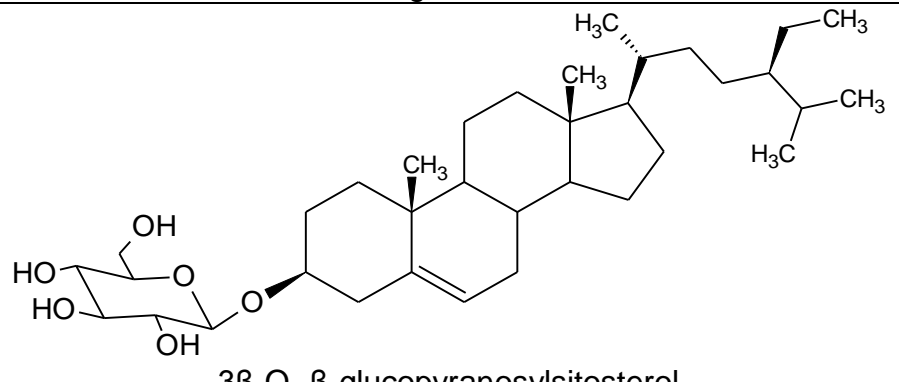
Isofucosterol

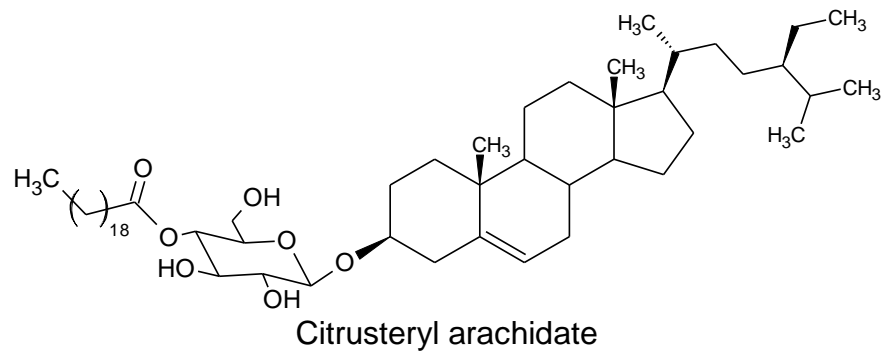
C. sinensis

Casca do fruto [10]

C₂₉H₄₈O

412,6908

 <p>Ergosterol</p>	<i>C. limonia</i>	Casca do fruto [18]	$C_{28}H_{44}O$	396,6483
 <p>3β-O-β-glucopyranosylsitosterol</p>	<i>C. sinensis</i>	Folha [8] e caule [9]	$C_{35}H_{60}O_6$	576,8473
	<i>C. hystrix</i>	Casca do fruto [6]		
	<i>C. nobilis</i>	Semente [19]		
	<i>C. pyriformis</i>	Casca do fruto [17]		



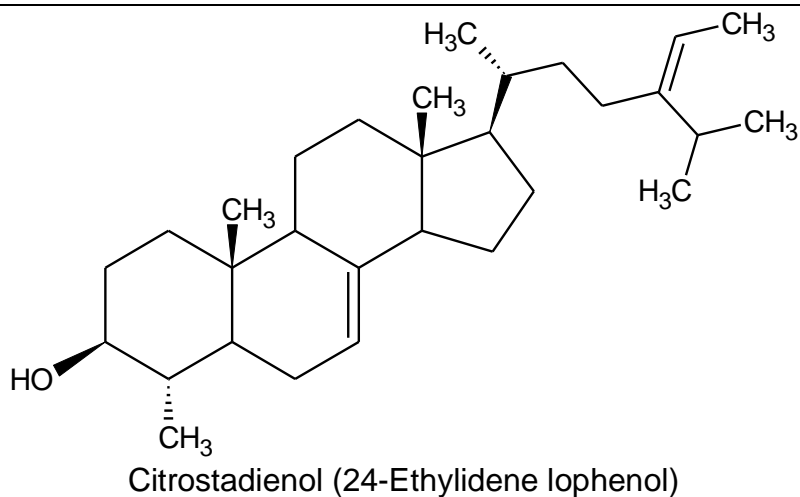
C. reticulata

Casca do fruto [20]

$C_{55}H_{98}O_7$

871,3624

Triterpenos



C. paradisi

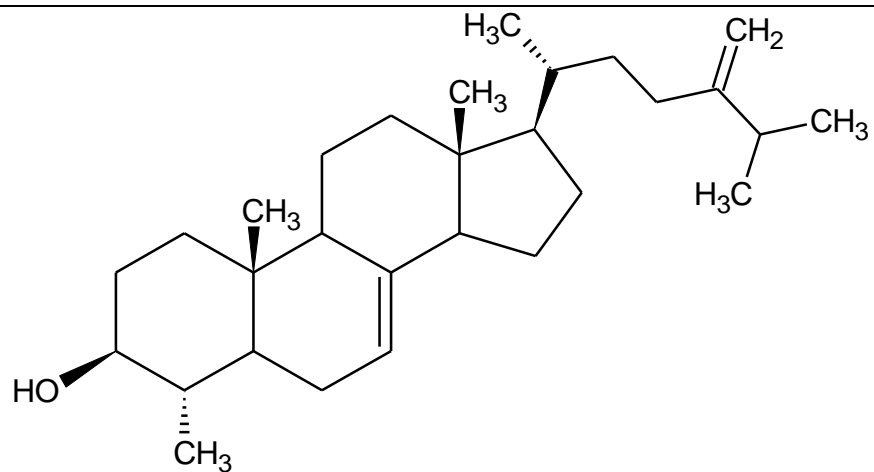
Casca do fruto [13]
e óleo da casca do
fruto [11]

$C_{30}H_{50}O$

426,7174

C. sinensis

Óleo da casca do
fruto [11]



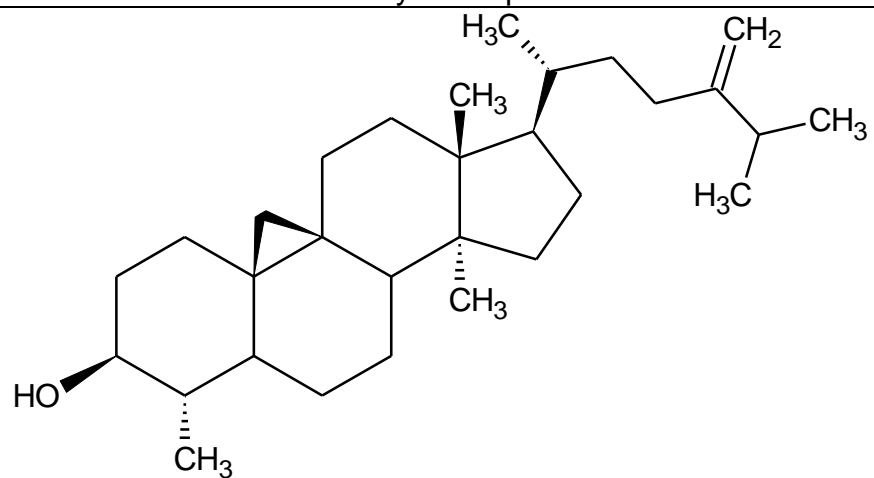
24-Methylene lophenol

C. paradisi

Casca do fruto [13]

C₂₉H₄₈O

412,6908



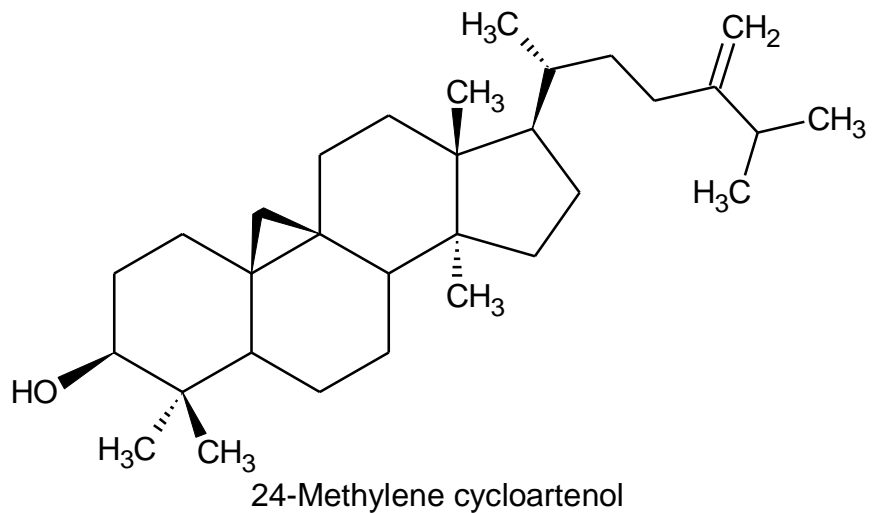
Cycloeucalenol

C. paradisi

Casca do fruto [13]

C₃₀H₅₀O

426,7174

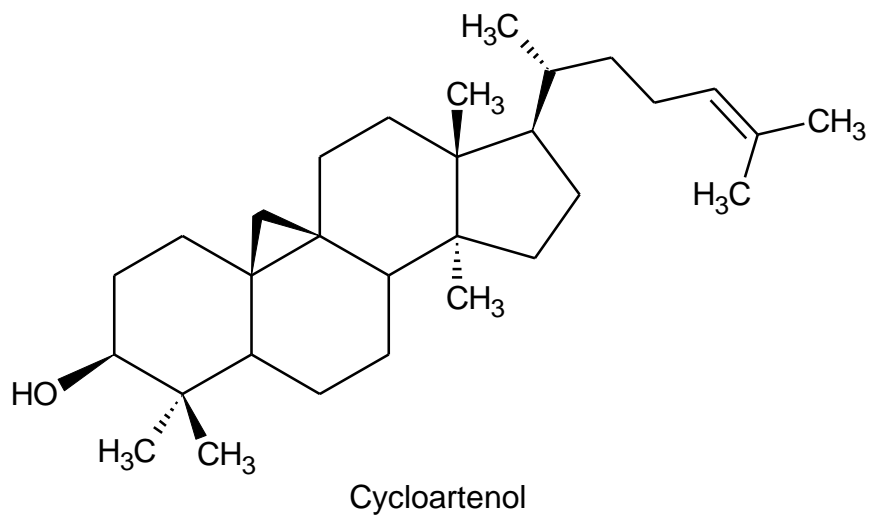


C. paradisi

Casca do fruto [13]

$C_{31}H_{52}O$

440,7439

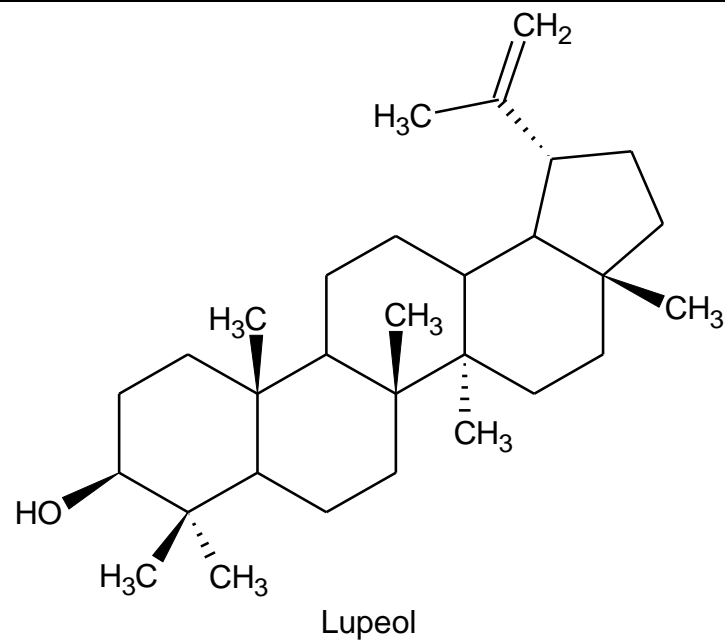


C. paradisi

Casca do fruto [13]

$C_{30}H_{50}O$

426,7174



C. medica

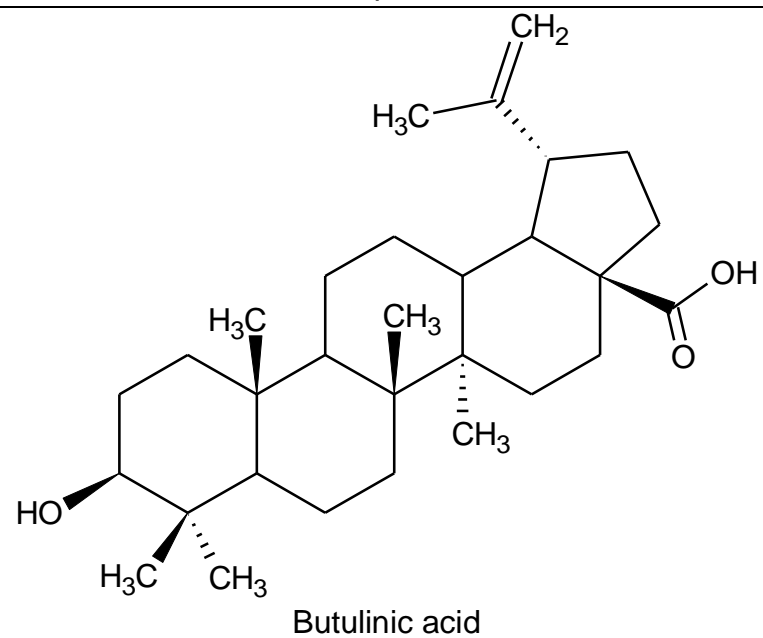
Casca do caule
[12]

$C_{30}H_{50}O$

426,7174

*C. sinensis x
Poncirus
trifoliata*

Raíz [7]

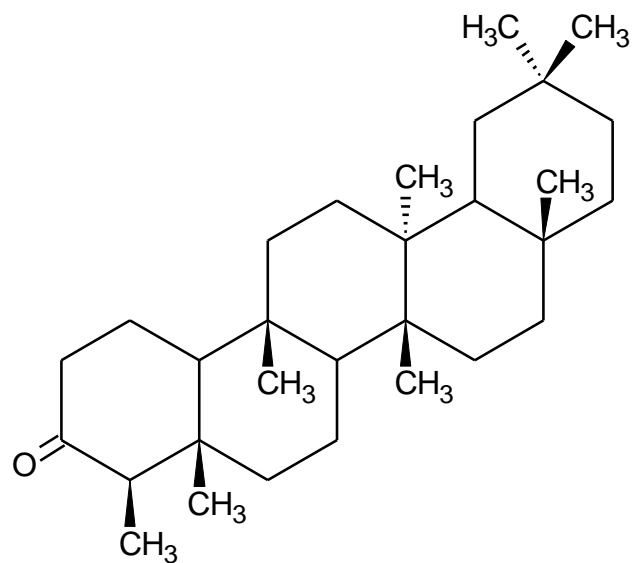


C. reticulata

Folha[21]

$C_{30}H_{48}O_3$

456,7003



Friedelin

C. sinensis

Caule [9] e Óleo da casca do fruto [11]

C. unshiu

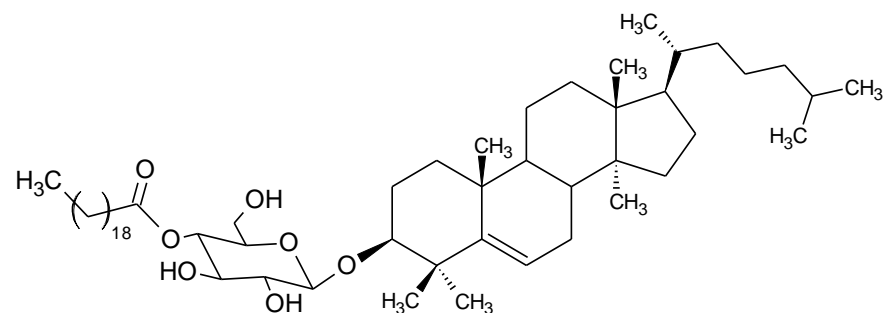
Folha [22]

$C_{30}H_{50}O$

426,7174

C. paradisi

Óleo da casca do fruto [14]



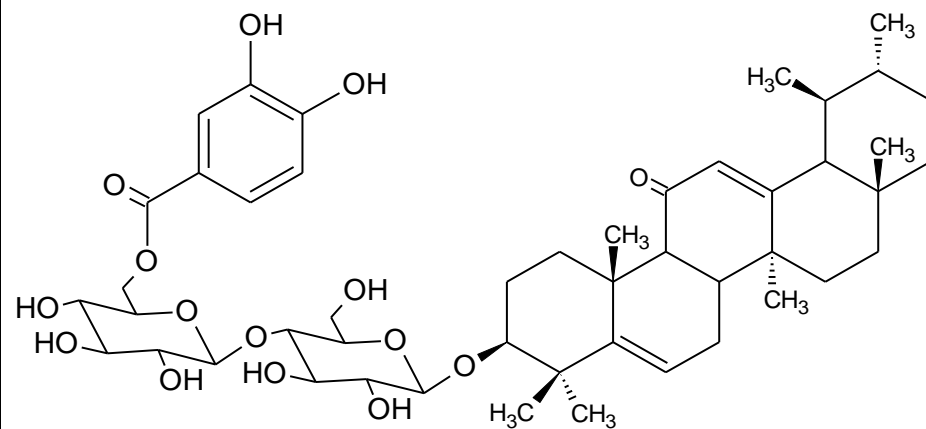
Citruslanosteroside

C. reticulata

Casca do fruto [20]

$C_{56}H_{100}O_7$

885,389



Reticulataursenoside

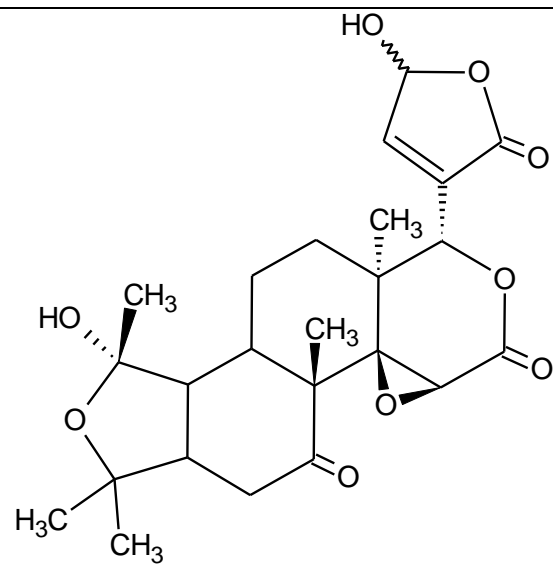
C. reticulata

Casca do fruto [20]

$C_{48}H_{68}O_{15}$

885,0445

Limonoides



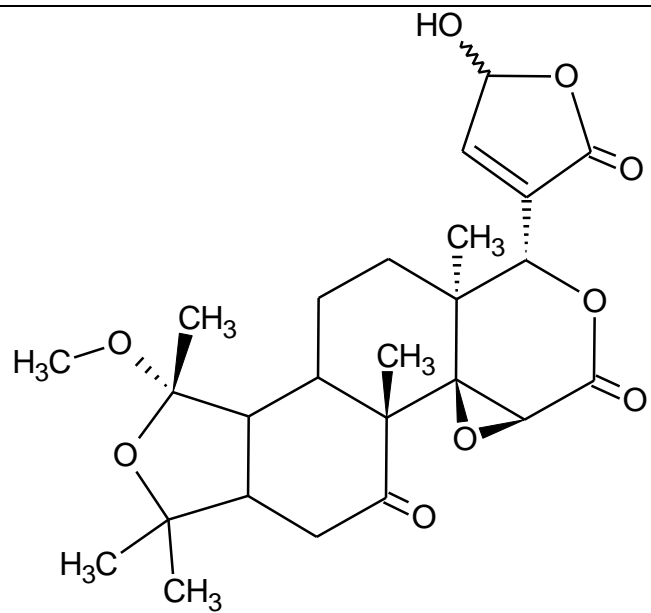
Sudachinoid B

C. sudachi

Sementes [23]

$C_{24}H_{30}O_9$

462,4896



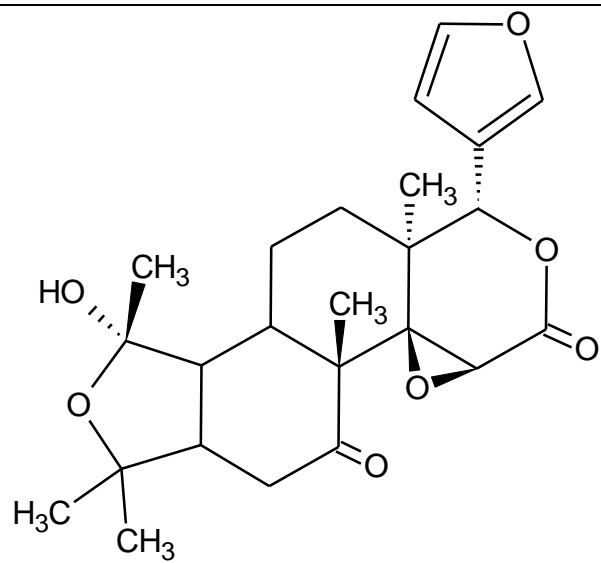
Sudachinoid A

C. sudachi

Sementes [23]

C₂₅H₃₂O₉

476,5161



Ichangensin

C. sudachi

Sementes
[23],[24]

C. junos

Sementes [24]

C. ichangensis

Sementes
[25],[26]

C₂₄H₃₀O₇

430,4908

C. bergamia

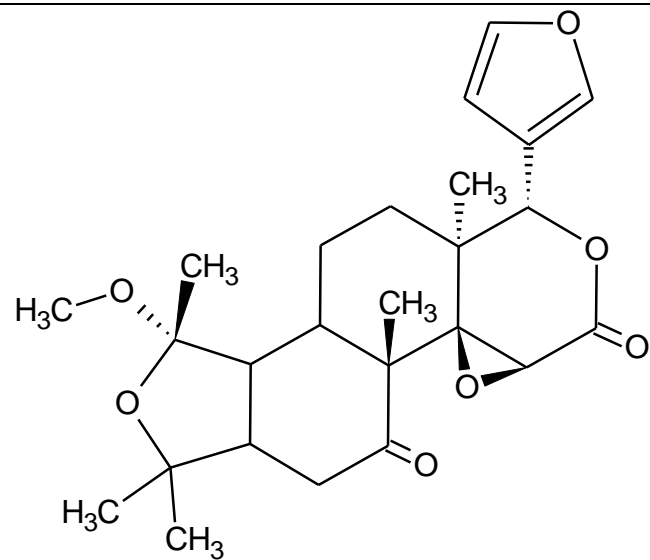
Sementes [27]

C. reticulata

Sementes [28]

C. sphaerocarpa

Sementes [24]



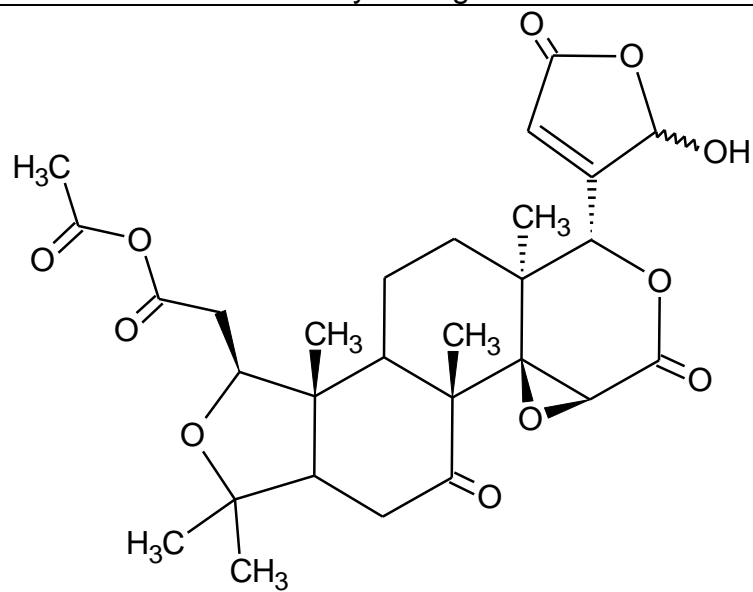
1-O-Methylchangsensin

C. sudachi

Sementes [23]

$C_{25}H_{32}O_7$

444,5173



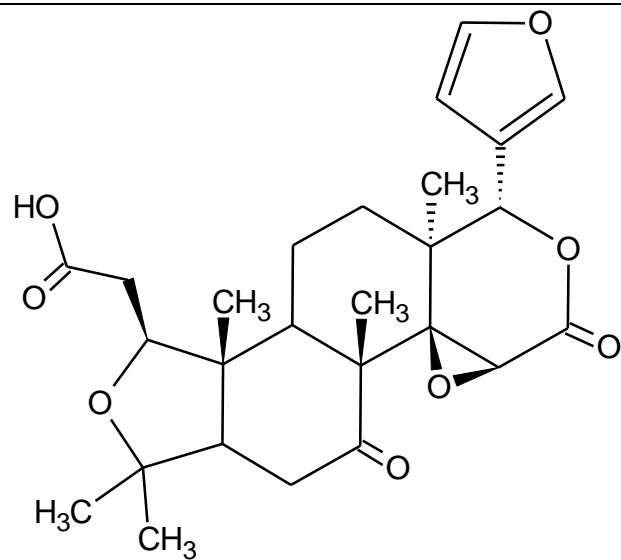
Citrobilin

C. nobilis

Sementes [19]

$C_{28}H_{34}O_{11}$

546,5629



Isobacunoic acid

C. ichangensis

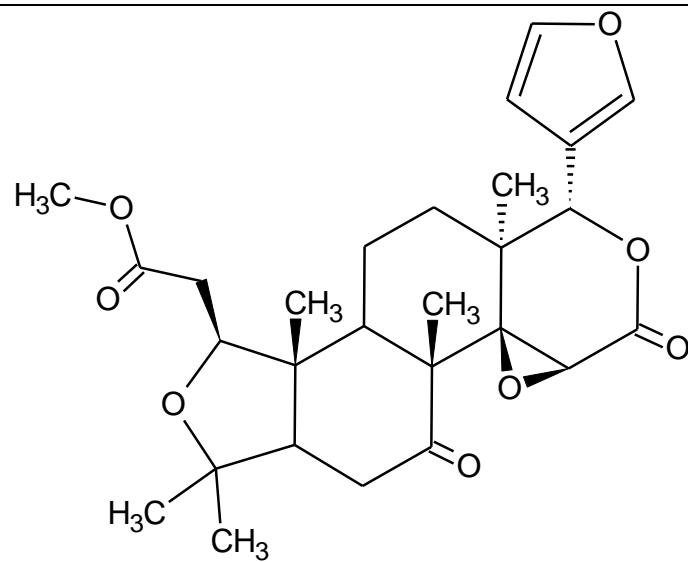
Sementes [25]

C₂₆H₃₂O₈

472,5274

C. sudachi

Casca do fruto
[29] e sementes
[23]



Methyl isobacunoate

C. bergamia

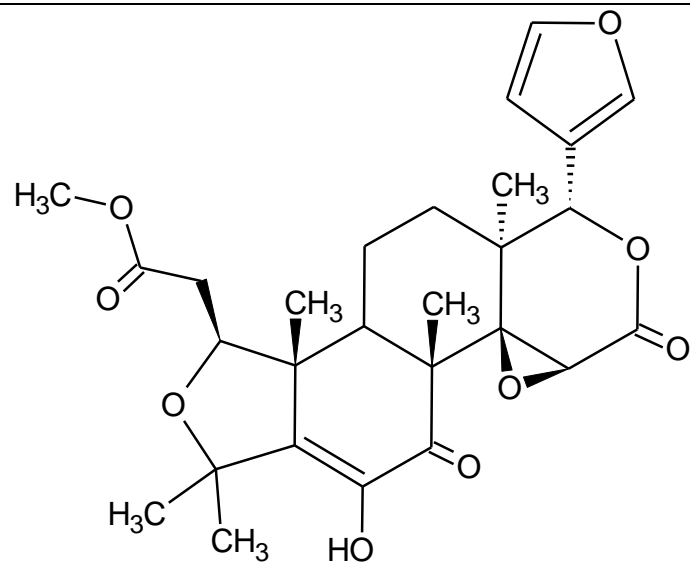
Sementes [27]

C₂₇H₃₄O₈

486,5540

C. reticulata

Sementes [28]



C. bergamia

Sementes [27]

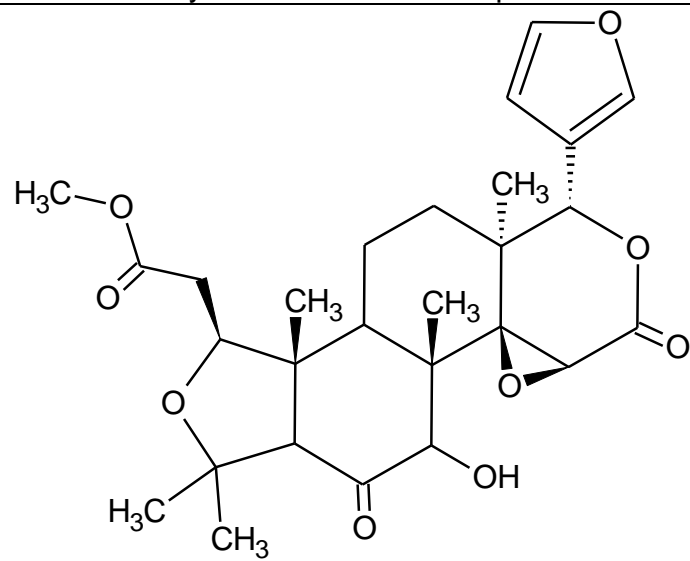
C₂₇H₃₂O₉

500,5375

C. reticulata

Sementes
[28],[30]

Methyl isoobacunoate diosphenol



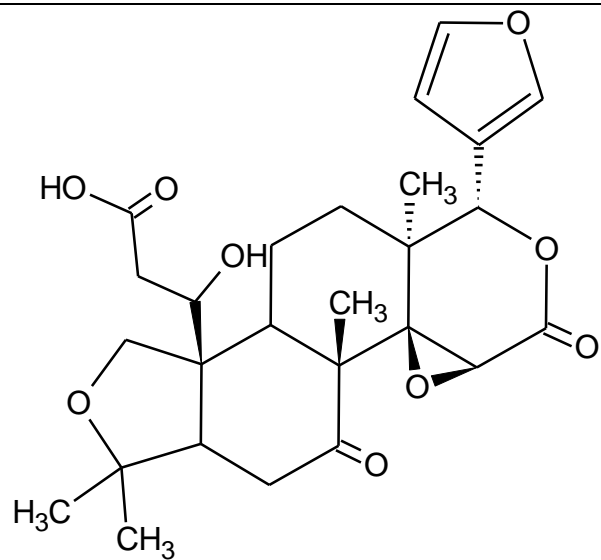
C. reticulata

Sementes [28]

C₂₇H₃₄O₉

502,5534

Cyclocalamin



Isolimonic acid

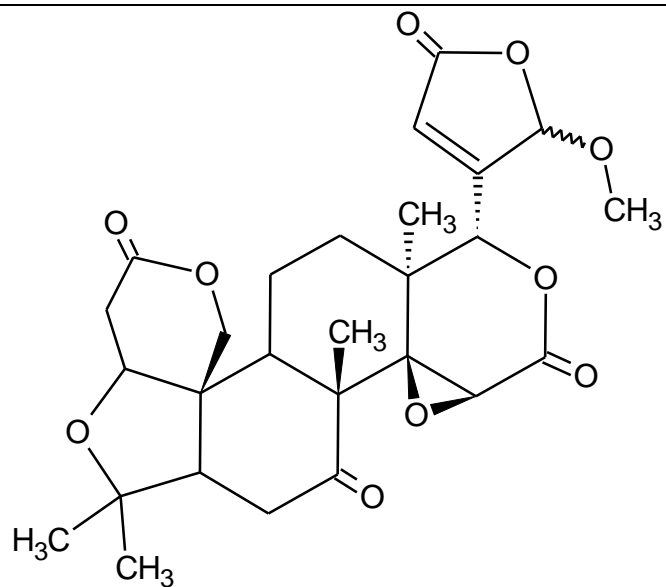
C. reticulata Sementes [31]

C. ichangensis Sementes [25]

$C_{26}H_{32}O_9$ 488,5268

C. aurantium Sementes [31],[32]

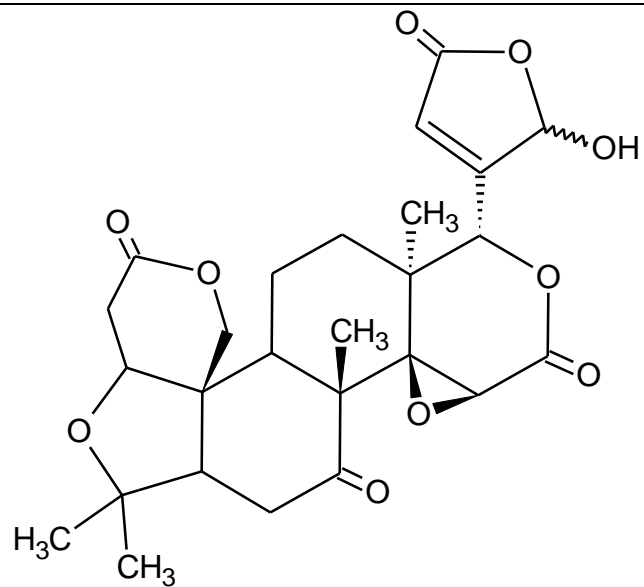
C. paradisi Sementes [31]



Isolimonexic acid methyl ester

C. reticulata Sementes [33]

$C_{27}H_{32}O_{10}$ 516,5369



Limonexin

C. grandis

Pericarpo [34]

C. hystrix

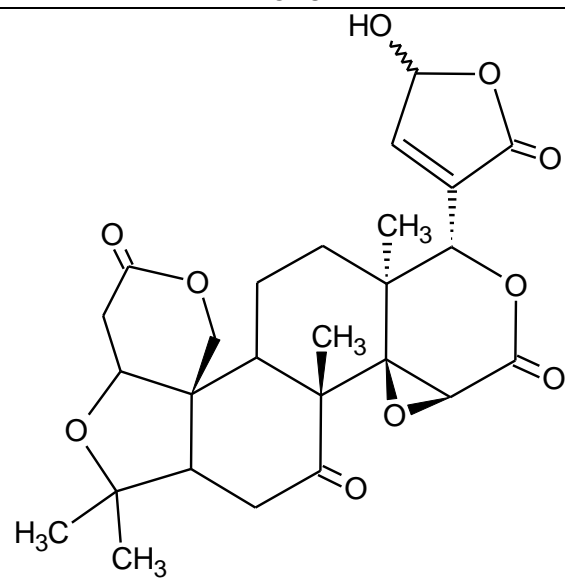
Raíz [35]

$C_{26}H_{30}O_{10}$

502,5104

C. nobilis

Sementes [19]



Limonexic acid

C. hystrix

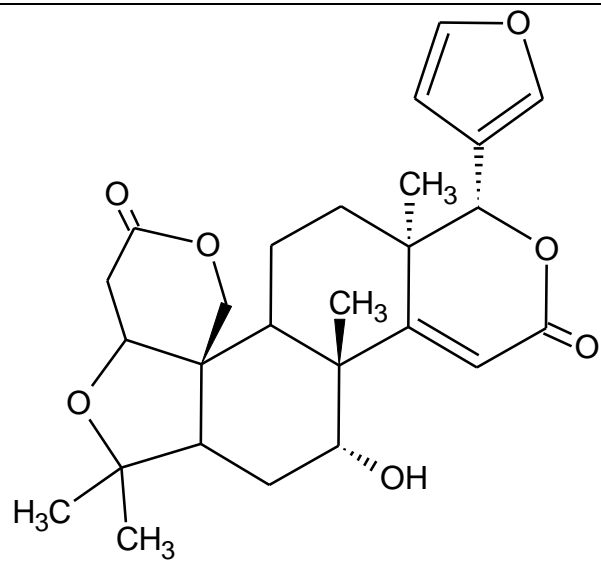
Raíz [35]

$C_{26}H_{30}O_{10}$

502,5104

C. medica

Casca do caule
[12]



Deoxylimonol

C. paradisi

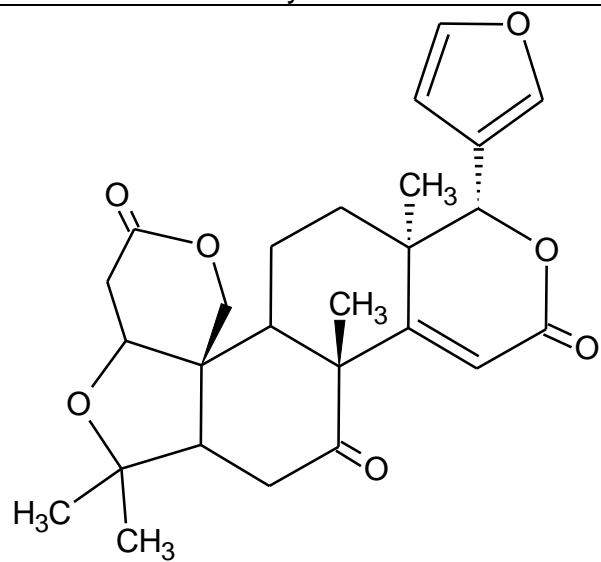
Sementes [36]

C₂₆H₃₂O₇

456,5280

C. reticulata

Sementes [28]



Deoxylimonin

C. paradisi

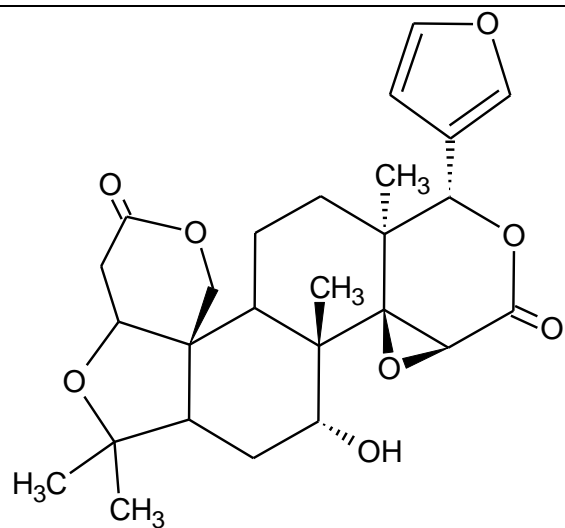
Sementes [36]

C₂₆H₃₀O₇

454,5122

C. reticulata

Sementes [28]



Limonol

C. paradisi

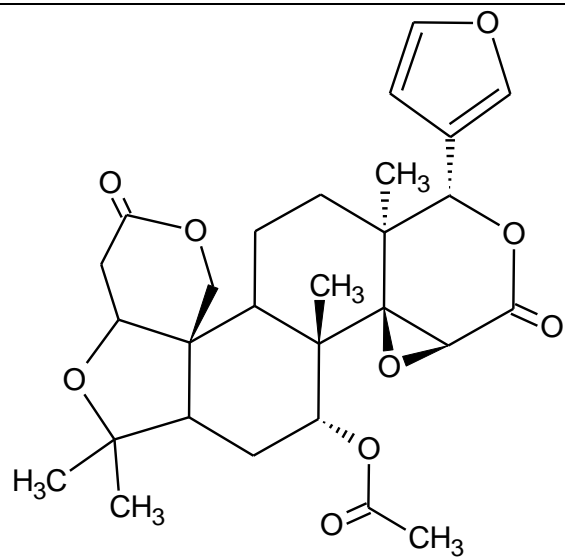
Sementes [36]

C₂₆H₃₂O₈

472,5274

C. reticulata

Sementes [28]



Limonol acetate

C. paradisi

Sementes [36]

C. reticulata

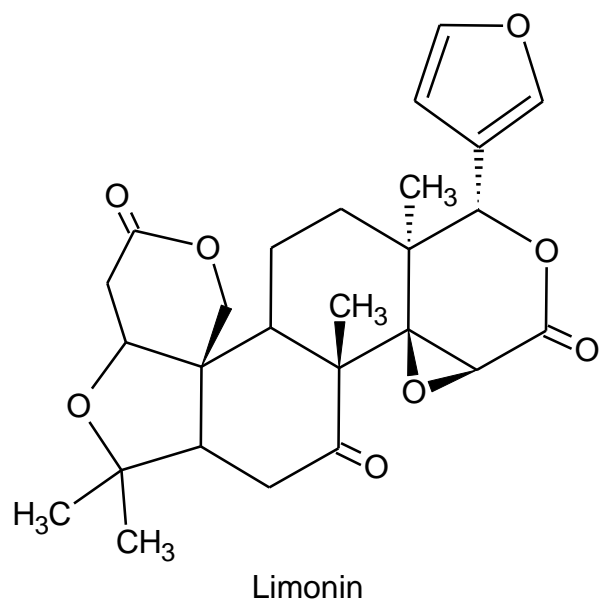
Sementes [28]

C₂₈H₃₄O₉

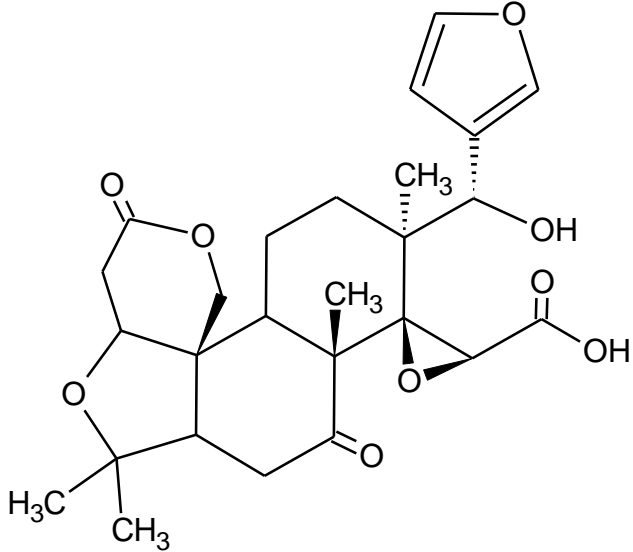
514,5641

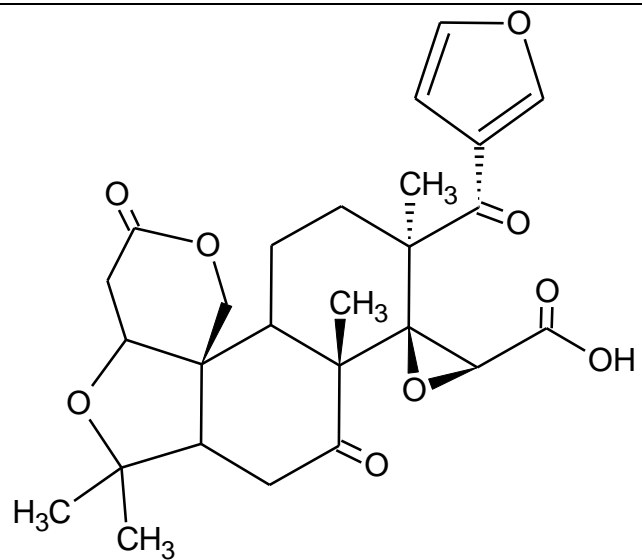
C. limonia

Raiz [9]



<i>C. reticulata</i>	Semente [28],[30],[33],[37]; folha [21]; tronco [38] e casca do galho [21]		
<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]		
<i>C. limon</i>	Semente [30],[37]		
<i>C. grandis</i>	Pericarpo [34], semente [37] e casca do tronco [39]		
<i>C. ichangensis</i>	Semente [25]		
<i>C. paradisi</i>	Semente [36],[37],[40]		
<i>C. medica</i>	Semente [37], casca do caule e casca da raíz [12]	$C_{26}H_{30}O_8$	470,5116
<i>C. limettioides</i>	Semente [37]		
<i>C. aurantium</i>	Semente [31],[37]		
<i>C. sinensis</i>	Semente [37] e folha [9]		
<i>C. bergamia</i>	Semente [27]		

	<i>C. unshiu</i>	Folhas [22] e melaço [41]		
	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29] e semente [23]		
	<i>C. pyriformis</i>	Casca do fruto [17]		
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. nobilis</i>	Semente [19]		
 <p>Limonoate A-ring lactone</p>	<i>C. grandis</i>	Muda [42]		
	<i>C. sinensis</i>	Fruto [43]	$C_{26}H_{32}O_9$	488,5268
	<i>C. paradisi</i>	Fruto [43]		



17-Dehydrolimonate A-ring lactone

C. sinensis

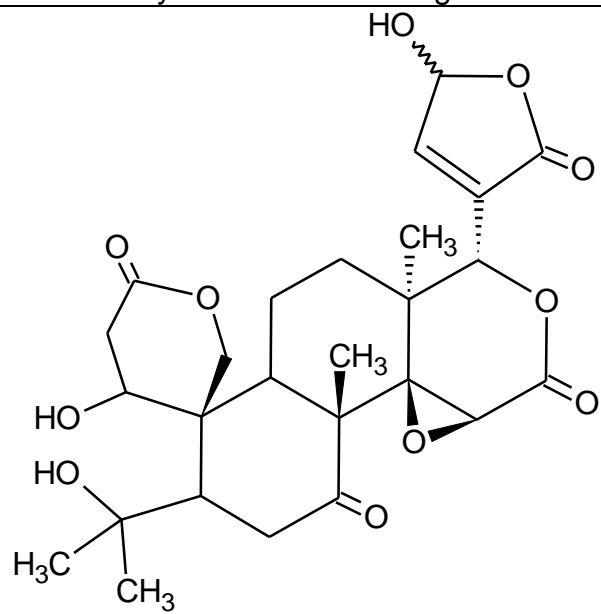
Casca do fruto
[28]

$C_{26}H_{30}O_9$

486,511

C. limonia

Semente [28]



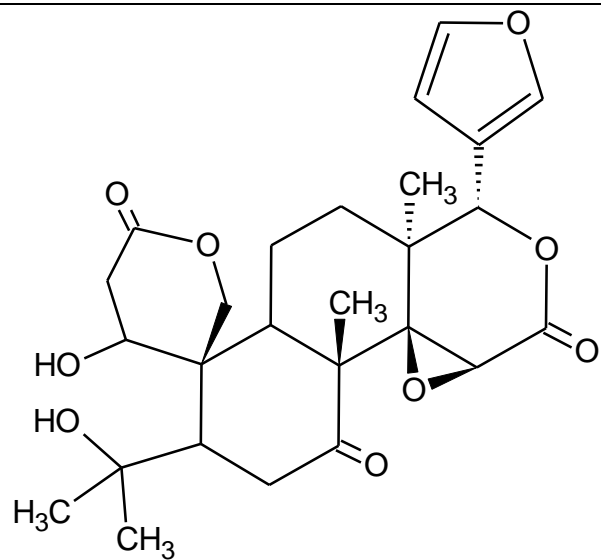
Ichanex acid

C. aurantium

Semente [32]

$C_{26}H_{32}O_{11}$

520,5256



Ichangin

C. ichangensis Semente [25]

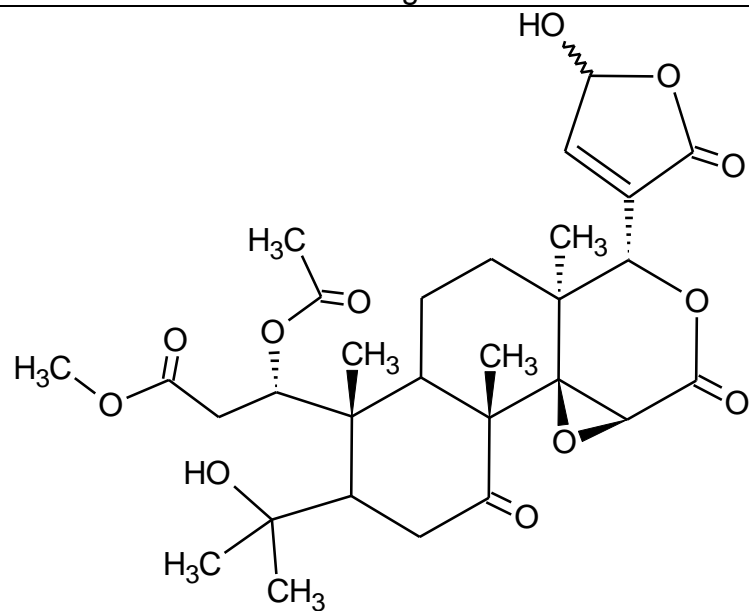
C. paradisi Semente [31],[36]

C. reticulata Semente [28],[33]

C₂₆H₃₂O₉ 488,5268

C. aurantium Semente [31]

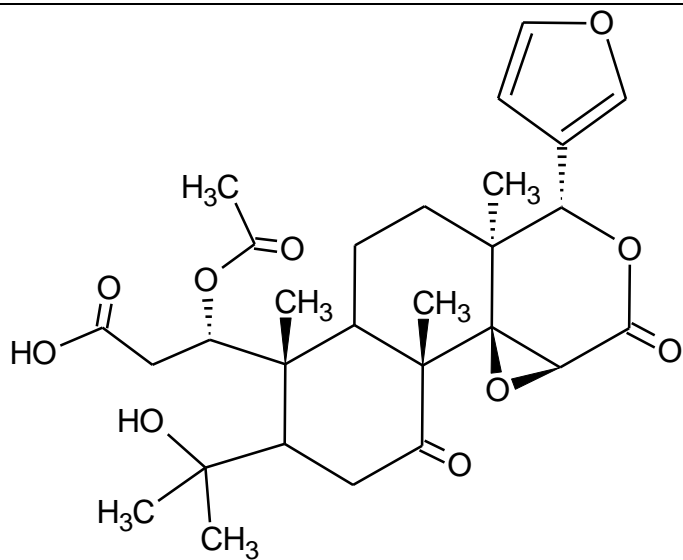
C. bergamia Semente [27]



3-O-methyl-21,23-dihydroxy-23-hydroxy-21-oxonomilic acid

C. sudachi Casca do fruto [29]

C₂₉H₃₈O₁₂ 578,6048



Nomilic acid

C. ichangensis

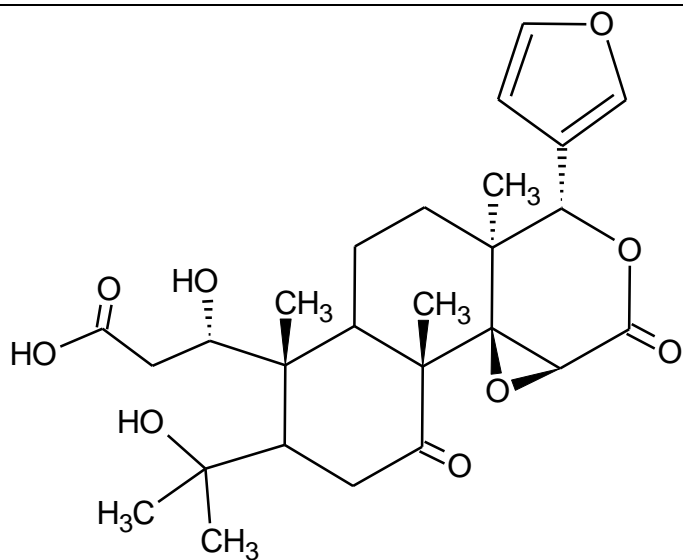
Semente [25]

C₂₈H₃₆O₁₀

532,5794

C. sudachi

Casca do fruto
[29]



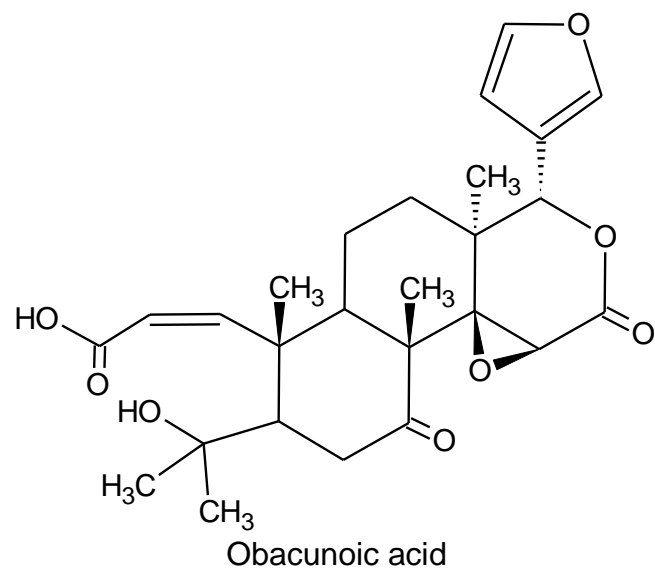
Deacetylnomilinic acid

C. ichangensis

Semente [25]

C₂₆H₃₄O₉

490,5427

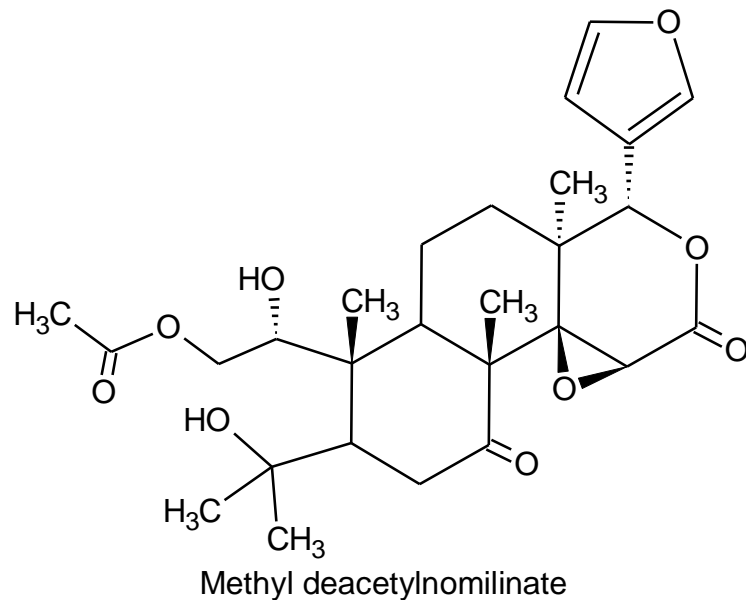


C. ichangensis

Semente [25]

$C_{26}H_{32}O_8$

472,5274



C. bergamia

Sementes [27]

C. reticulata

Sementes
[28],[30]

$C_{27}H_{36}O_9$

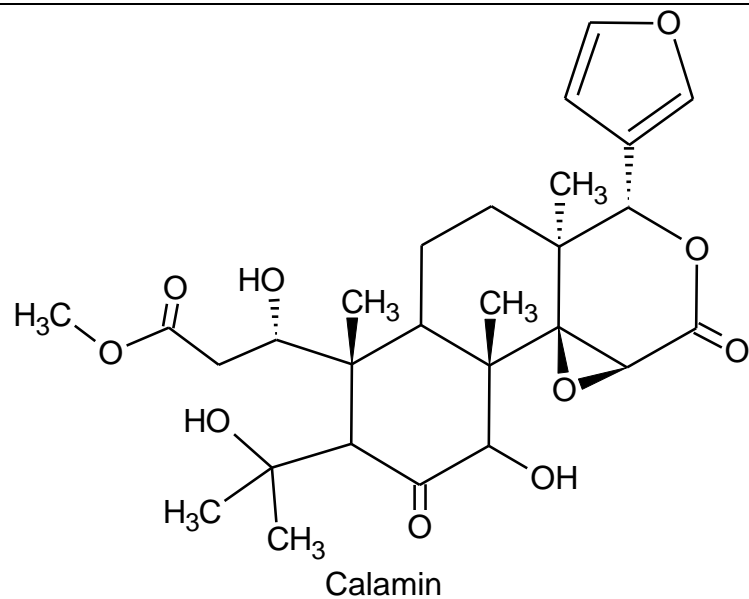
504,5693

C. limon

Sementes [30]

C. sudachi

Casca do fruto
[29]



C. bergamia

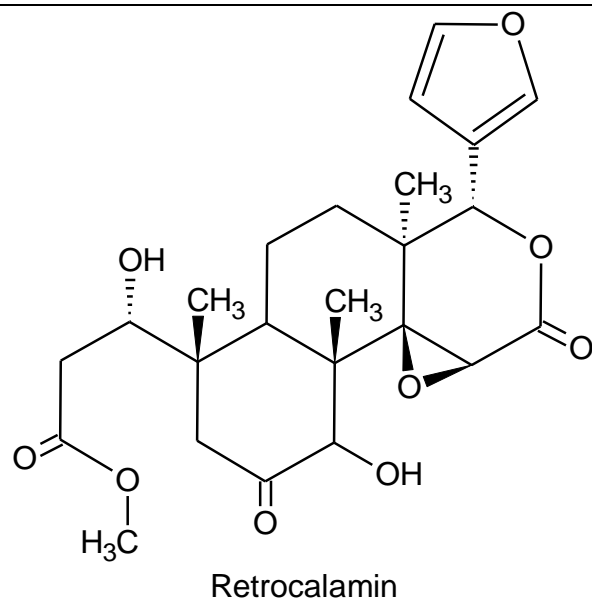
Sementes [27]

C₂₇H₃₆O₁₀

520,5687

C. reticulata

Sementes
[28],[30]

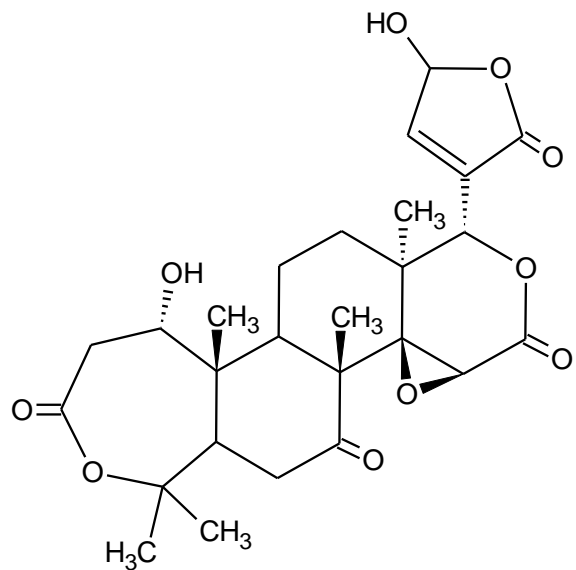


C. reticulata

Sementes
[28],[30]

C₂₄H₃₀O₉

462,4896



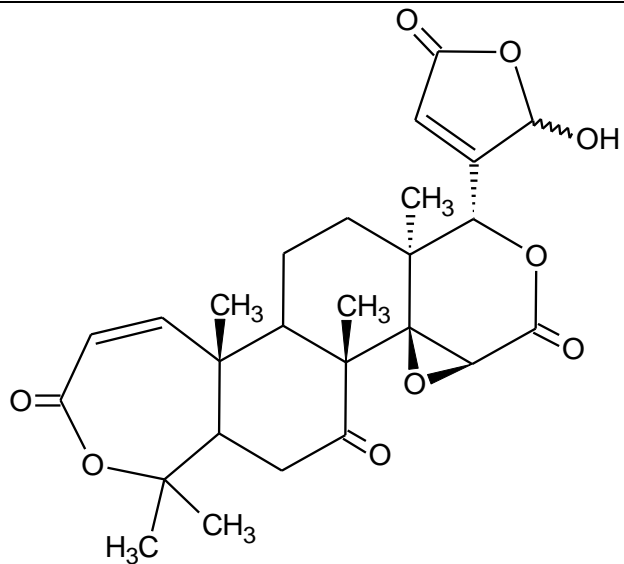
21,23-dihydro-23-hydroxy-21-oxodeacetylномilin

C. sudachi

Casca do fruto
[29]

$C_{26}H_{32}O_{10}$

504,5262



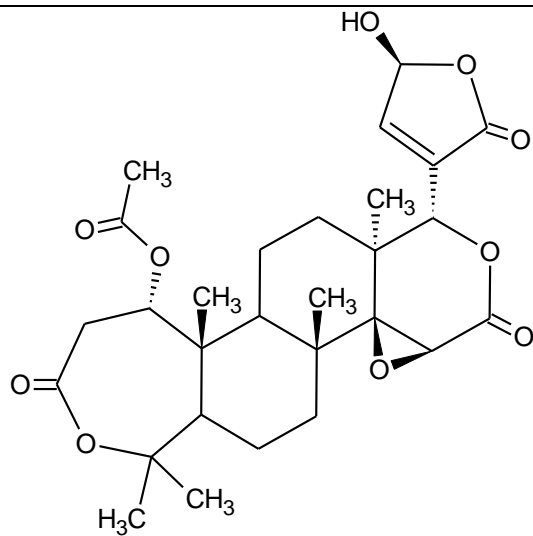
Sudachinoid C

C. sudachi

Semente [23]

$C_{26}H_{30}O_9$

486,511



Ctrusin

C. grandis

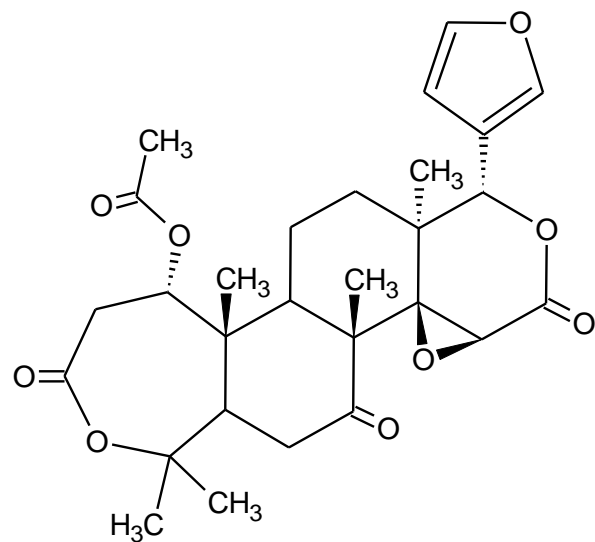
Pericarpo [34]

C₂₈H₃₆O₁₀

532,5794

C. medica

Casca do caule
[12]



Nomilin

C. bergamia

Semente [27]

C. ichangensis

Semente [25]

Poncirus trifoliata
x (*C. sinensis* x
C. paradisi)

Fruto [36]

C. medica

Semente [37];
casca da raiz e
casca do caule
[12]

C₂₈H₃₄O₉

514,5641

C. limon

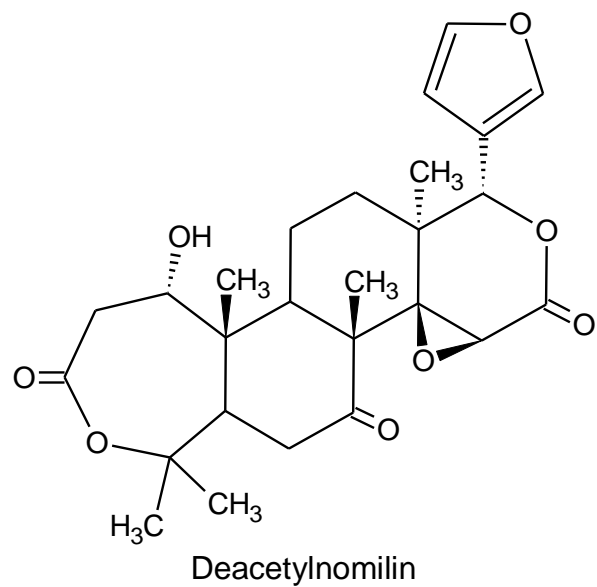
Semente
[30],[37],[44]

C. limettioides

Semente [37]

C. aurantium

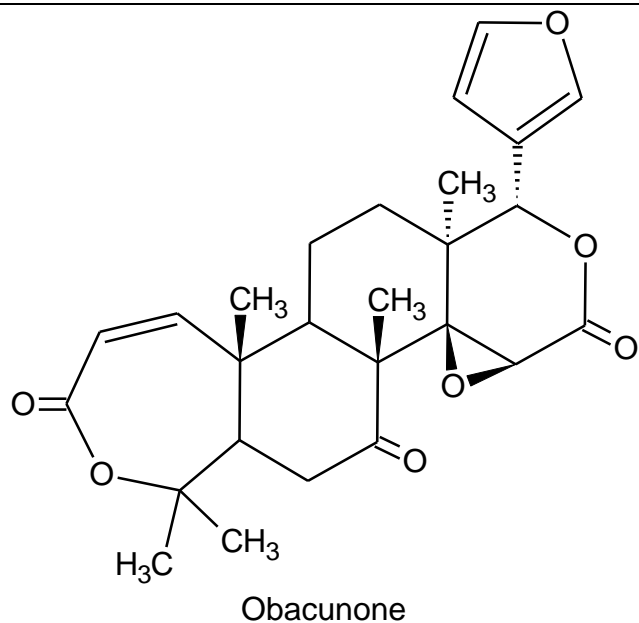
Semente [37]



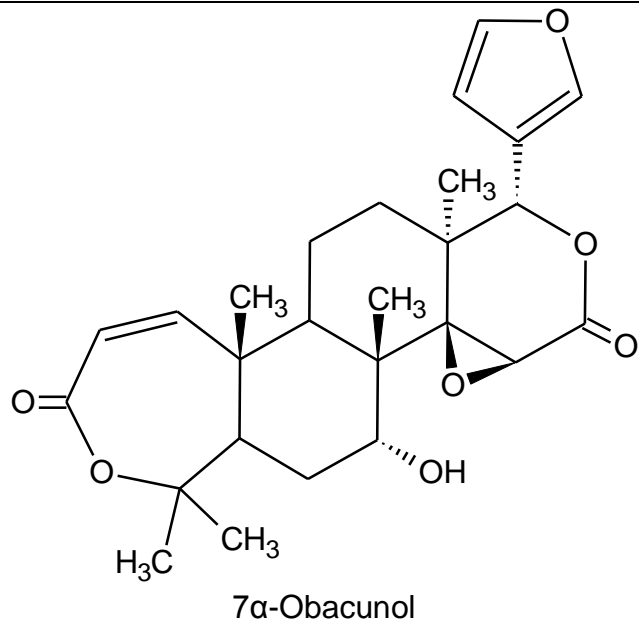
<i>C. sinensis</i>	Semente [37]		
<i>C. reticulata</i>	Semente [28],[30],[37]		
<i>C. grandis</i>	Semente [37]		
<i>C. paradisi</i>	Semente [37],[40]		
<i>C. nobilis</i>	Semente [19]		
<i>C. unshiu</i>	Melaço [41]		
<i>C. medica</i>	Semente [37]		
<i>C. limon</i>	Semente [37]		
<i>C. limettioides</i>	Semente [37]		
<i>C. aurantium</i>	Semente [37],[31]		
<i>C. sinensis</i>	Semente [37]		
<i>C. reticulata</i>	Semente [28],[30],[33],[37]		
<i>C. grandis</i>	Semente [37]		
<i>C. paradisi</i>	Semente [36],[37],[40]		
<i>C. nobilis</i>	Semente [19]		
<i>C. ichangensis</i>	Semente [25]		
<i>C. bergamia</i>	Semente [27]		
<i>C. pyriformis</i>	Casca do fruto [17]		

C₂₆H₃₂O₈

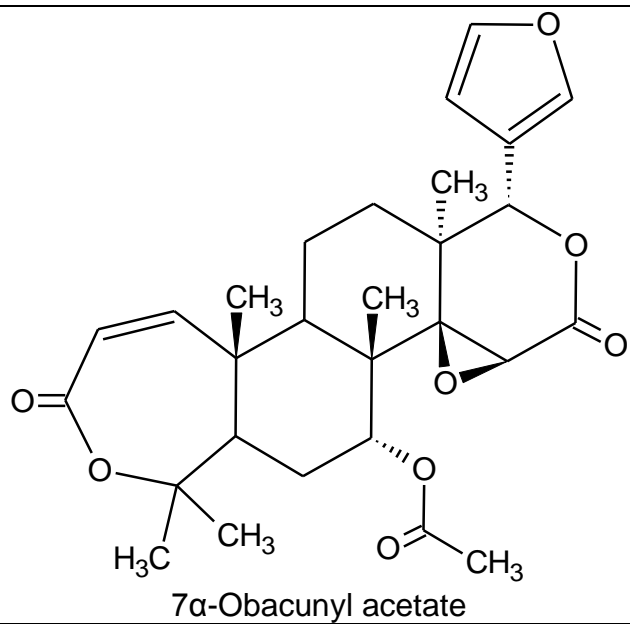
472,5274



<i>C. medica</i>	Semente [37]		
<i>C. limon</i>	Semente [30],[37],[44]		
<i>C. limettioides</i>	Semente [37]		
<i>C. aurantium</i>	Semente [37]		
<i>C. sinensis</i>	Semente [37]		
<i>C. reticulata</i>	Semente [28],[30],[33],[37]	$C_{26}H_{30}O_7$	454,5122
<i>C. grandis</i>	Semente [37]		
<i>C. paradisi</i>	Semente [36],[37],[40]		
<i>C. nobilis</i>	Semente [19]		
<i>C. ichangensis</i>	Semente [25]		
<i>C. sudachi</i>	Semente [23]		



<i>C. paradisi</i>	Semente [36]		
		$C_{26}H_{32}O_7$	456,5280
<i>C. reticulata</i>	Semente [28]		

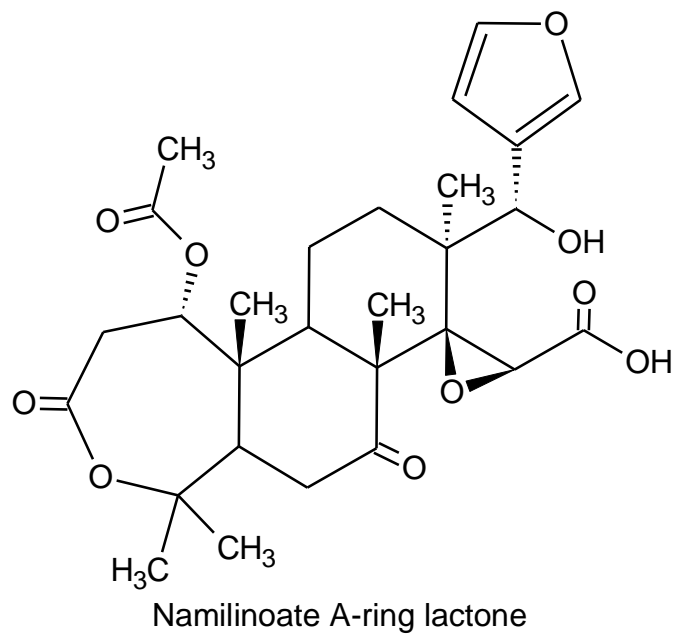


Poncirus trifoliata
x (*C. sinensis* x
C. paradisi)

Fruto [36]

$C_{28}H_{34}O_8$

498,5647

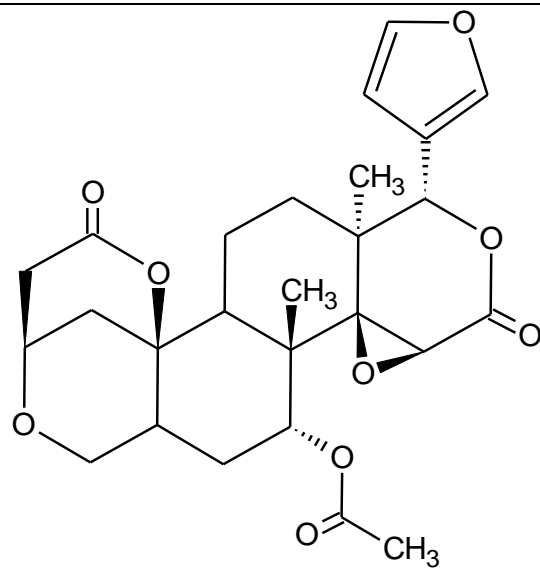


C. grandis

Mudas [42]

$C_{28}H_{36}O_{10}$

532,5794



1-(10→19) Abeo-7 α -acetoxy-10 β -hydroxyiso-obacun-3,10-lactone

Poncirus trifoliata
x (*C. sinensis* x
C. paradisi)

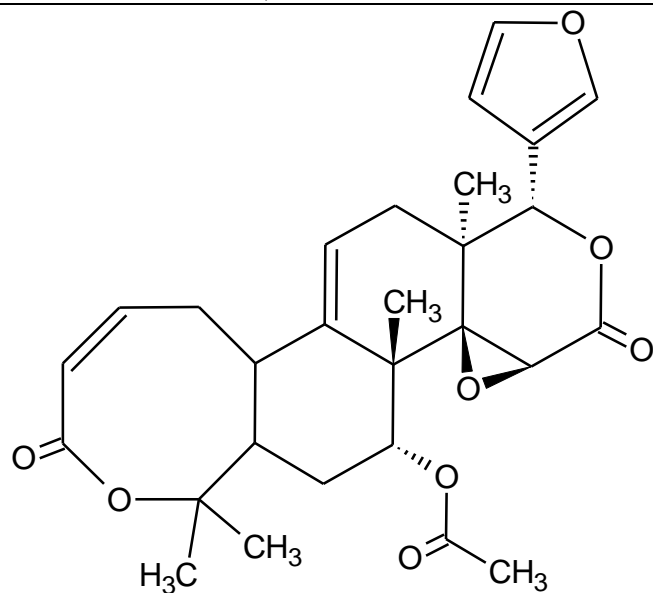
Fruto [36]

C₂₆H₃₀O₉

486,511

C. medica

Casca da raíz
[12]



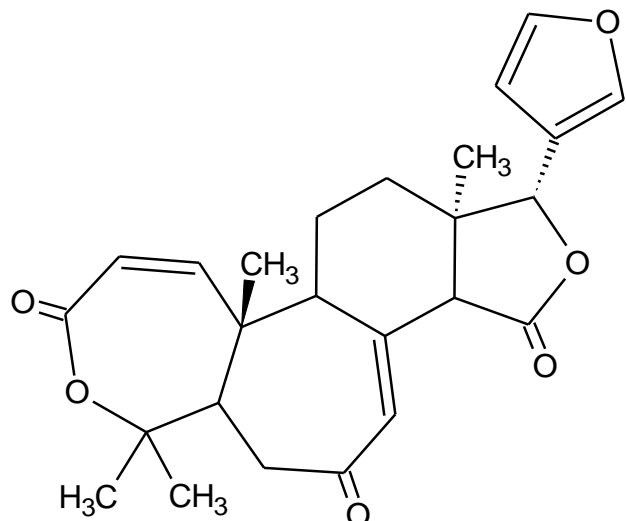
1-(10→19) Abeo-obacun-9(11)-em-7 α -yl acetate

Poncirus trifoliata
x (*C. sinensis* x
C. paradisi)

Fruto [36]

C₂₈H₃₂O₈

496,5488



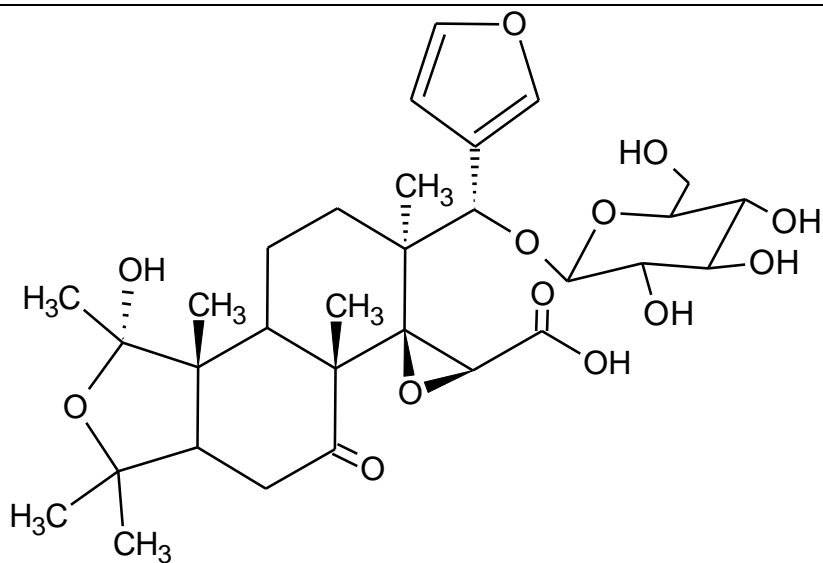
Citriolide-A

C. reticulata

Semente [45]

$C_{25}H_{28}O_6$

424,4862



Ichangensin-17-O-β-D-glucopyranoside

C. junos

Semente [24]

C. sudachi

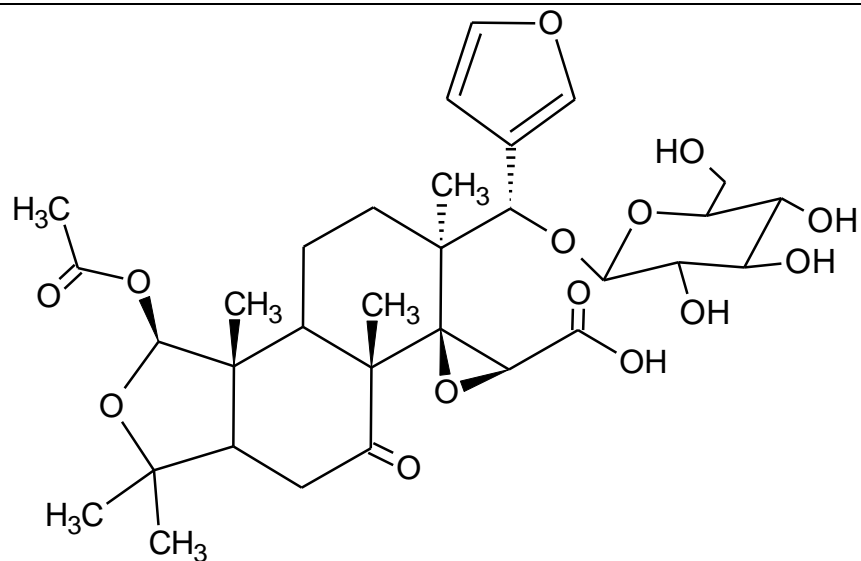
Semente [24]

$C_{31}H_{44}O_{13}$

624,6732

C. sphaerocarpa

Semente [24]



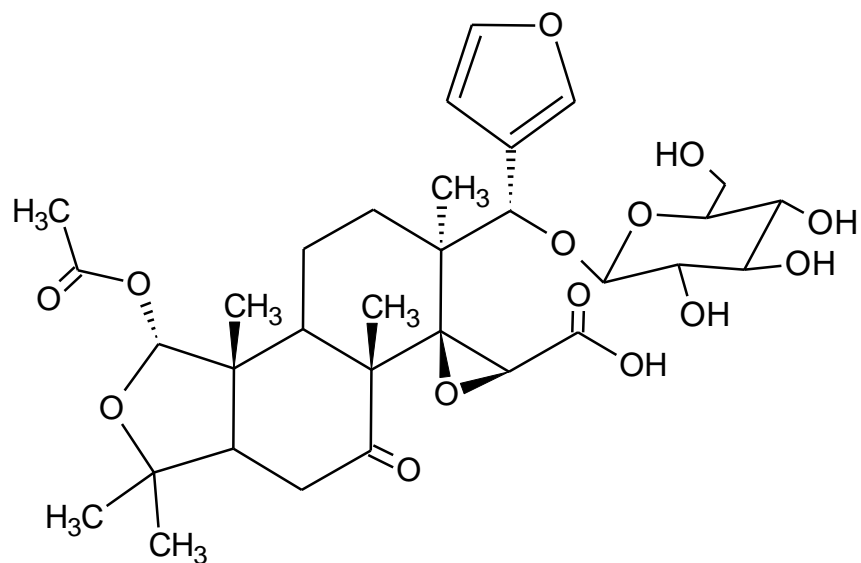
Isobacunoic acid 17-O-β-D-glucopyranoside

C. paradisi

Semente [46]

$C_{32}H_{44}O_{14}$

652,6833



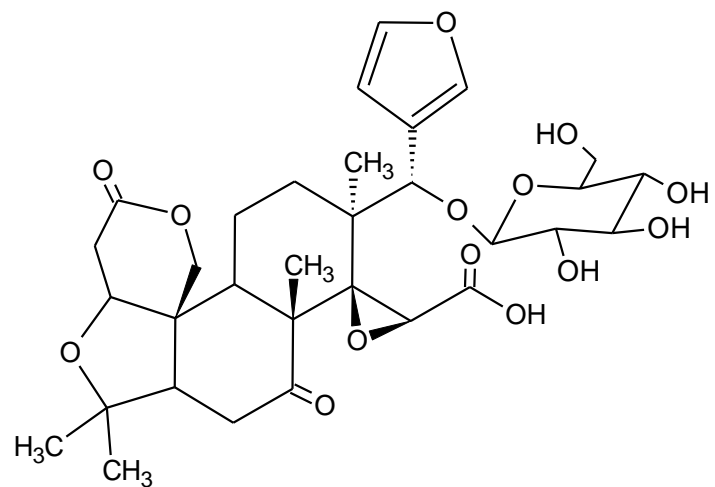
Epiisobacunoic acid 17-O-β-D-glucopyranoside

C. paradisi

Semente [46]

$C_{32}H_{44}O_{14}$

652,6833



Limonin-17-O-β-D-glucopyranoside

C. limonetta

Casca do fruto
[47]

C. paradisi

Semente [40]

C. junos

Semente [24]

$C_{32}H_{42}O_{14}$

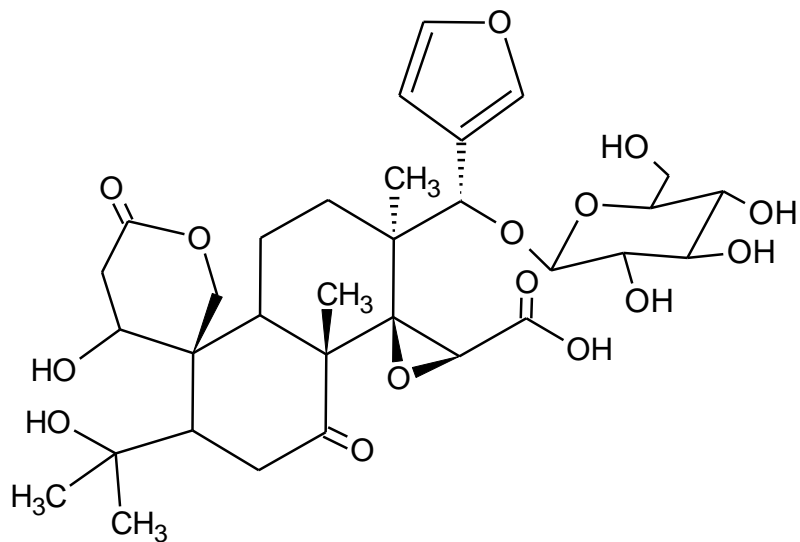
650,6678

C. sudachi

Semente [24]

C. sphaerocarpa

Semente [24]



Ichangin-17-O-β-D-glucopyranoside

C. limon

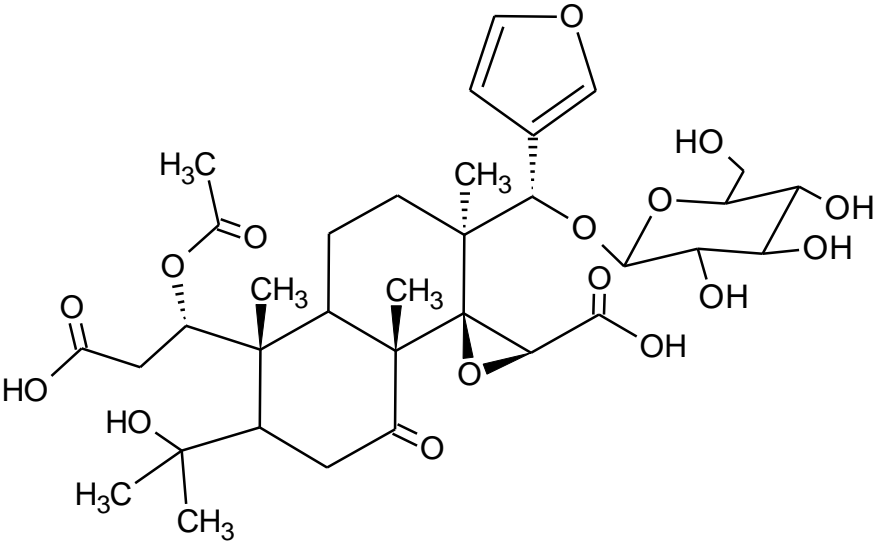
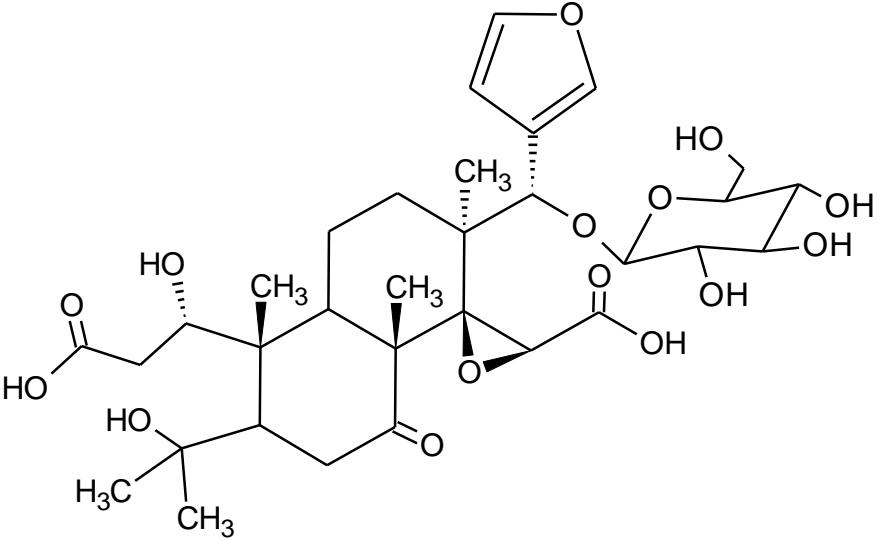
Casca de frutos
[2]

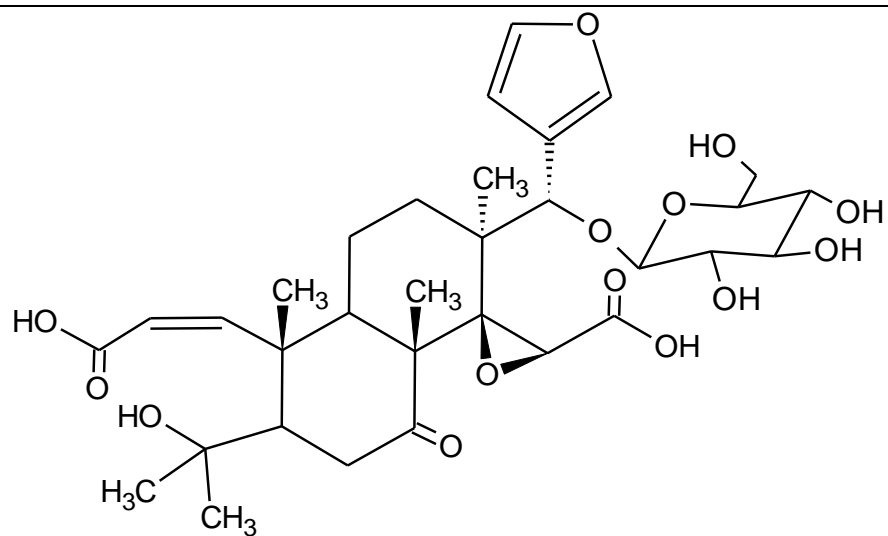
$C_{32}H_{44}O_{15}$

668,6827

C. unshiu

Casca de frutos
[2]

 <p>Nomilinic acid 17-O-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. junos</i>	Semente [24]		
	<i>C. sudachi</i>	Semente [24]		
	<i>C. sphaerocarpa</i>	Semente [24]		
	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{34}H_{48}O_{16}$	712,7353
	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]		
	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]		
	<i>C. paradisi</i>	Semente [46], [48]		
 <p>Deacetylnomilic acid 17-O-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. junos</i>	Semente [24]		
	<i>C. sudachi</i>	Semente [24]		
	<i>C. sphaerocarpa</i>	Semente [24]	$C_{32}H_{46}O_{15}$	670,6986
	<i>C. paradisi</i>	Semente [46]		



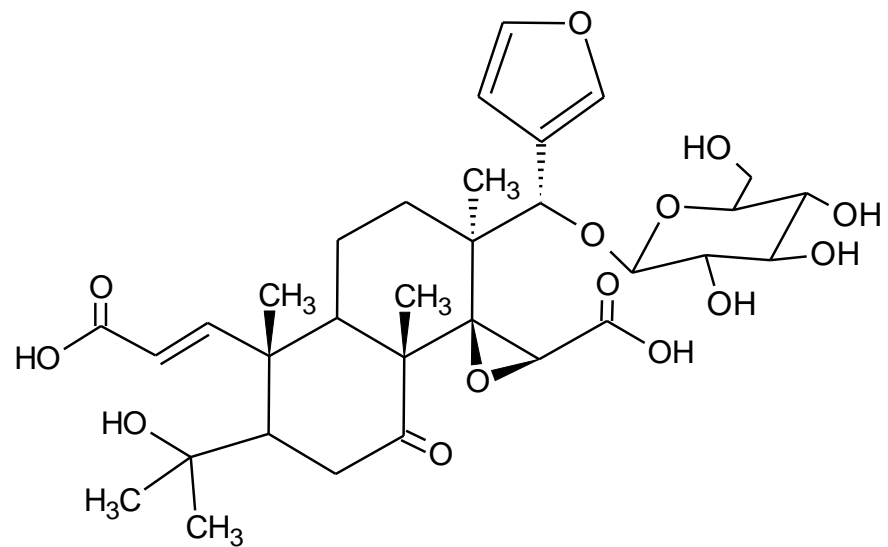
Obacunoic acid 17-O-β-D-glucopyranoside

C. paradisi

Semente [46]

$C_{32}H_{44}O_{14}$

652,6833



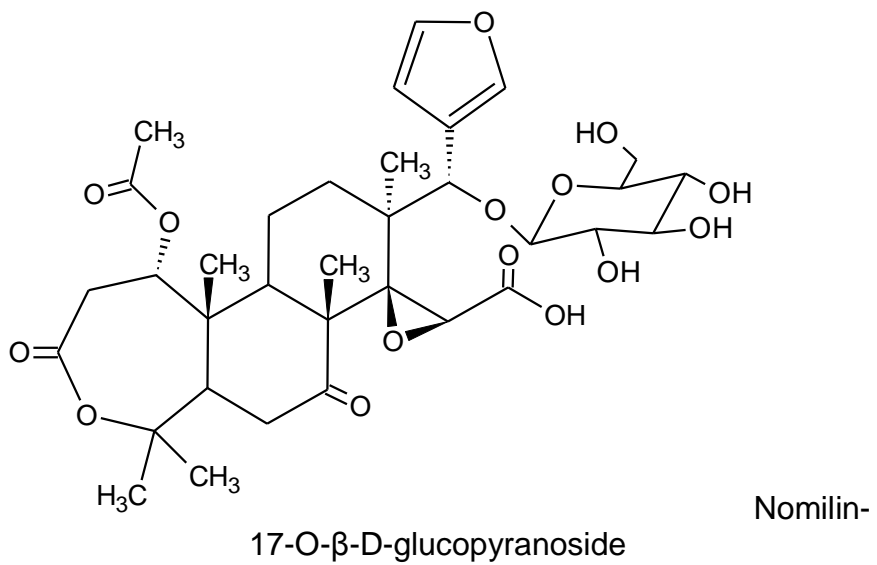
trans-Obacunoic acid 17-O-β-D-glucopyranoside

C. paradisi

Semente [46]

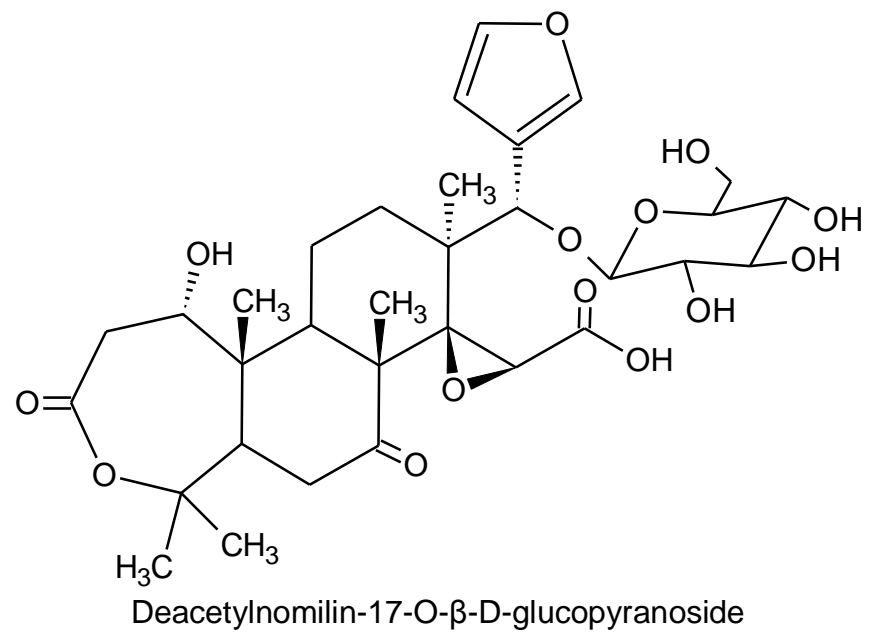
$C_{32}H_{44}O_{14}$

652,6833



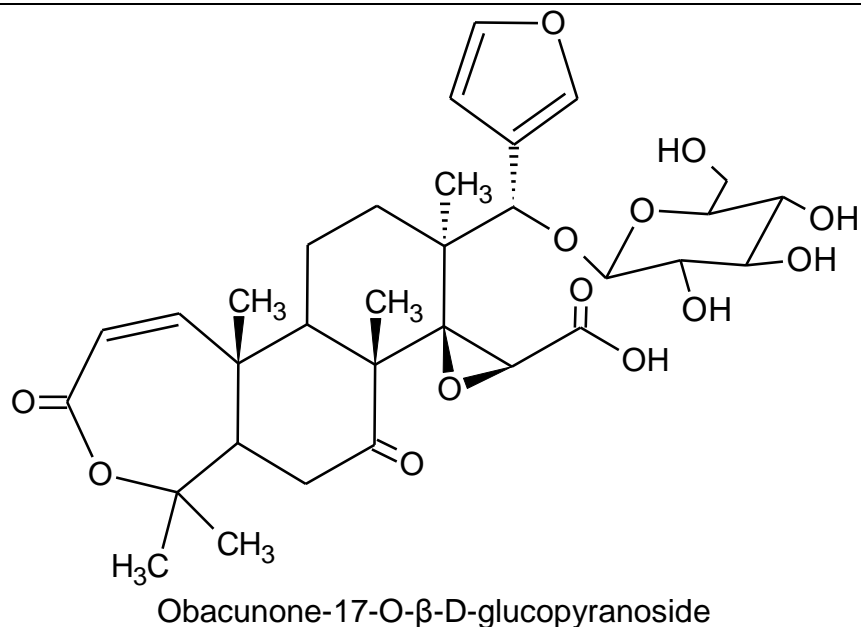
- C. unshiu* Melaço [41]
- C. junos* Semente [24]
- C. sudachi* Semente [24]
- C. sphaerocarpa* Semente [24]
- C. paradisi* Semente [40], [48]
- C. limonetta* Casca do fruto [47]

$C_{34}H_{46}O_{15}$ 694,7200



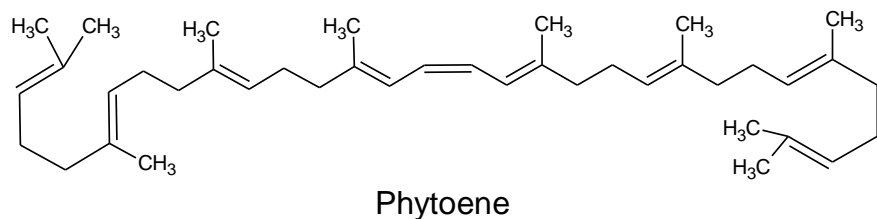
- C. junos* Semente [24]
- C. sudachi* Semente [24]
- C. sphaerocarpa* Semente [24]
- C. paradisi* Semente [40]

$C_{32}H_{44}O_{14}$ 652,6833



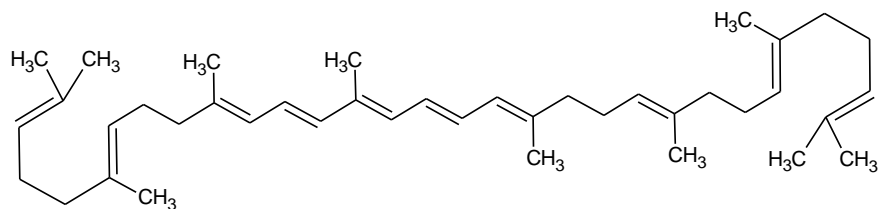
<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]		
<i>C. junos</i>	Semente [24]		
<i>C. sudachi</i>	Semente [24]		
<i>C. sphaerocarpa</i>	Semente [24]	$C_{32}H_{42}O_{13}$	634,6680
<i>C. paradisi</i>	Semente [40]		
<i>C. reticulata</i>	Semente [45]		

Carotenoides



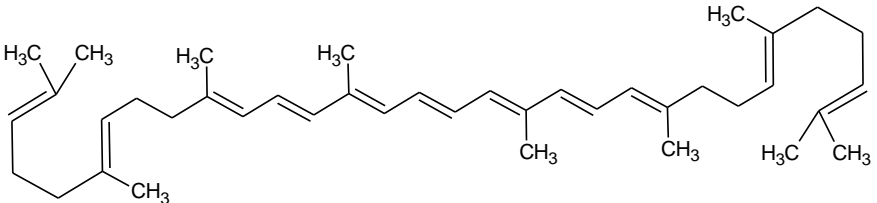
<i>C. sinensis</i>	Suco [49],[50] e flavedo [51],[52]		
<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51],[52]		
<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]		
<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]		
<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]		
<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]		
<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]	$C_{40}H_{64}$	544,9361
<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]		
<i>C. limon</i>	Flavedo [51]		
<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]		
<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]		
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]		
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]		

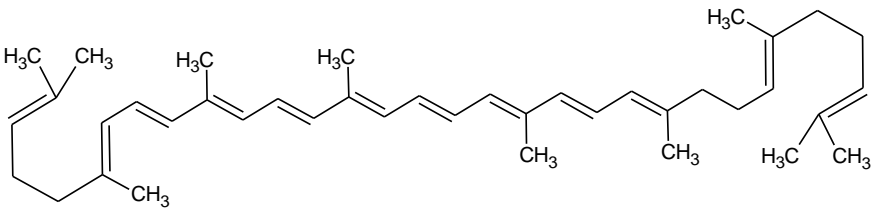
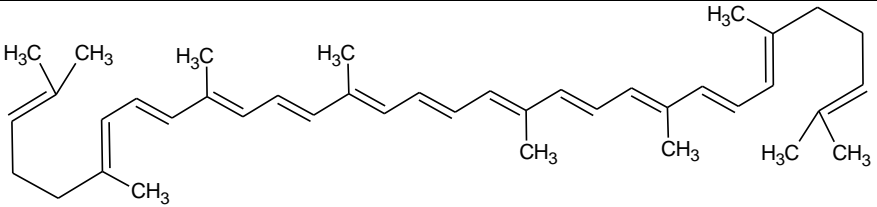
	<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. natsudaikai</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. junos</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. deliciosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tangerina</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tachibana</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. sinensis</i>	Flavedo [51],[52] e casca do fruto [53]		
	<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51],[52],[54] e suco [54]	C ₄₀ H ₆₂	542,9202
	<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]		

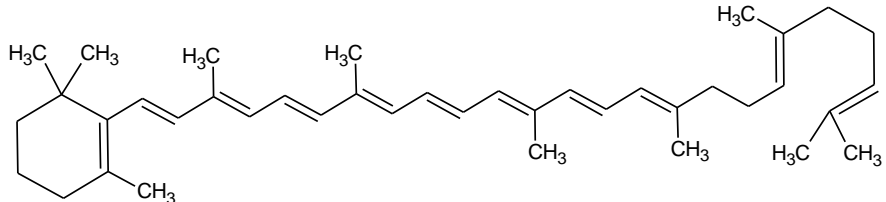
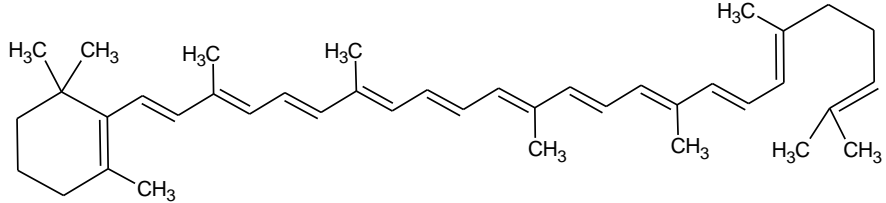
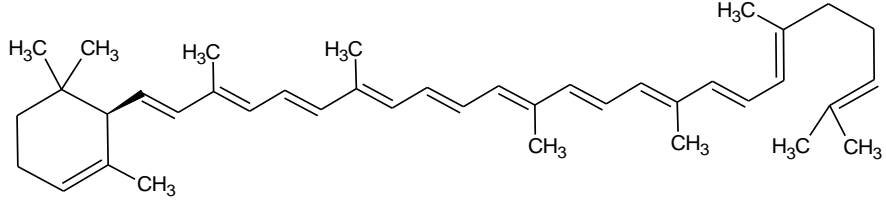
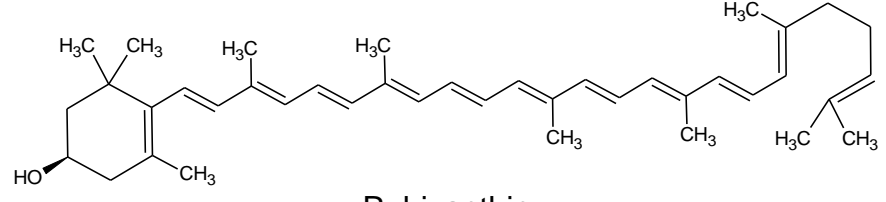


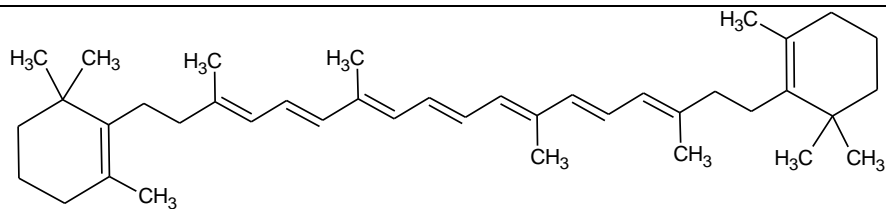
Phytofluene

<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]
<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]
<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]
<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]
<i>C. limon</i>	Flavedo [51]
<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]
<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]
<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]
<i>C.hassaku</i>	Flavedo [51]
<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]
<i>C. natsudaikai</i>	Flavedo [51]
<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]
<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]
<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]
<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]
<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]
<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]
<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]
<i>C. junos</i>	Flavedo [51]
<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]
<i>C. deliciosa</i>	Flavedo [51]

	<i>C. tangerina</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tachibana</i>	Flavedo [51]		
 <p style="text-align: center;">ζ-carotene</p>	<i>C. sinensis</i>	Flavedo [51],[52] e suco [50][55]		
	<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51],[54] e suco [54]		
	<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limon</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51],[52]		
	<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. natsudaidai</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]		
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]			
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]			
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]			
			$C_{40}H_{60}$	540,9044

	<p><i>C. iyukitso</i> <i>C. aurea</i> <i>C. kinokuni</i> <i>C. reshni</i> <i>C. depressa</i> <i>C. shukokan</i> <i>C. junos</i> <i>C. pseudo-aurantium</i> <i>C. deliciosa</i> <i>C. tangerina</i> <i>C. tachibana</i></p> <p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p>	<p>Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51]</p> <p>Flavedo [1]</p>		
 <p>Neurosporene</p>	<p><i>C. sinensis</i> <i>C. paradisi</i> [<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p>	<p>Flavedo [52] Flavedo [52] Flavedo [1]</p>	$C_{40}H_{58}$	538,8885
 <p>Lycopene</p>	<p><i>C. sinensis</i> <i>C. paradisi</i> <i>C. reticulata</i></p>	<p>Flavedo [52] Flavedo [52] Flavedo e suco [54]</p>	$C_{40}H_{56}$	536,8726

 <p style="text-align: center;">β-Zeacarotene</p>	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p> <p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. paradisi</i></p>	<p>Flavedo [1]</p> <p>Suco [56]</p> <p>Flavedo [52]</p>	<p>$C_{40}H_{58}$</p>	<p>538,8885</p>
 <p style="text-align: center;">γ-Carotene</p>	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p> <p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. paradisi</i></p>	<p>Flavedo [1]</p> <p>Flavedo [52] e suco [50]</p> <p>Flavedo [52]</p>	<p>$C_{40}H_{56}$</p>	<p>536,8726</p>
 <p style="text-align: center;">δ-Carotene</p>	<p><i>C. reticulata</i></p>	<p>Flavedo e suco [54]</p>	<p>$C_{40}H_{56}$</p>	<p>536,8726</p>
 <p style="text-align: center;">Rubixanthin</p>	<p><i>C. sinensis</i></p>	<p>Suco [50]</p>	<p>$C_{40}H_{56}O$</p>	<p>552,8720</p>



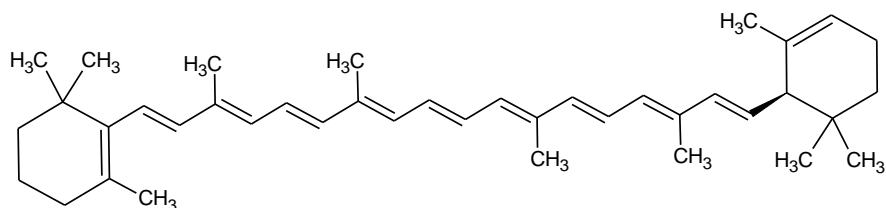
η-Carotene

[*Fortunella margarita* x
Poncirus trifoliata x *C. sinensis*]

Flavedo [1]

C₄₀H₆₀

540,9044



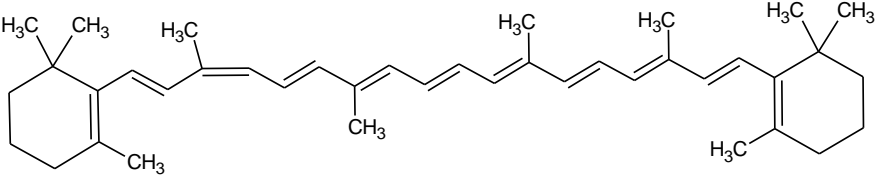
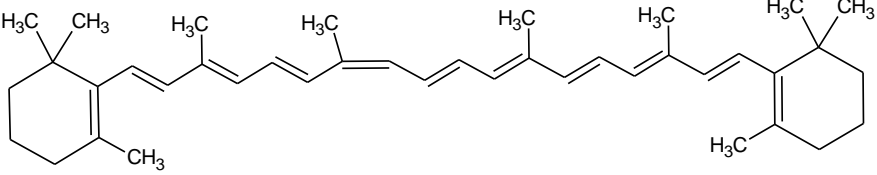
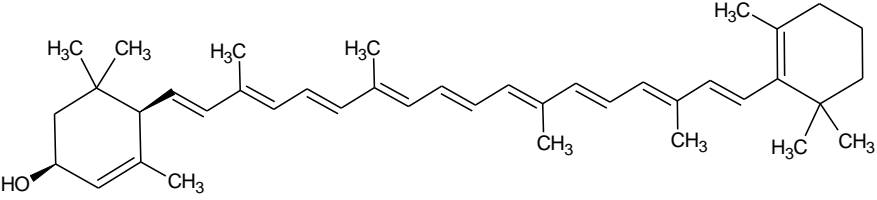
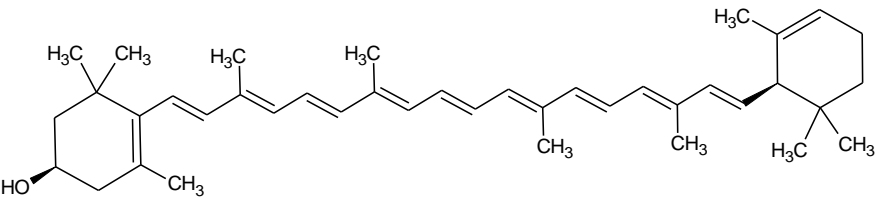
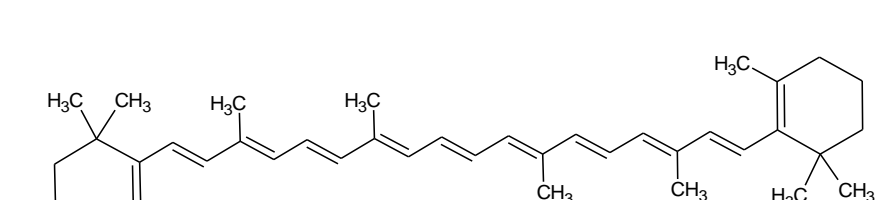
α-Carotene

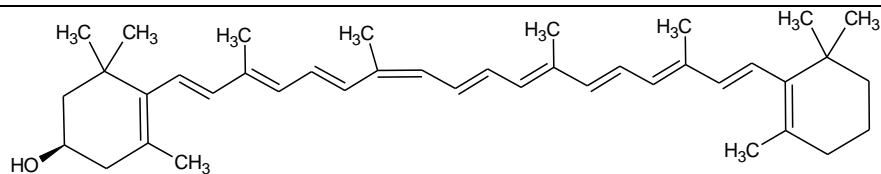
- C. sinensis* Flavedo [51]; casca do fruto [53] e suco [50],[55]
- C. reticulata* Flavedo [51],[54] e suco [54]
- C. latifolia* Flavedo [51]
- C. limettioides* Flavedo [51]
- C. nobilis* Flavedo [51]
- C. unshiu* Flavedo [51]
- C. yatsushiro* Flavedo [51]
- C. keraji* Flavedo [51]
- C. limon* Flavedo [51]
- C. limonia* Flavedo [51]
- C. grandis* Flavedo [51]
- C. paradisi* Flavedo [51]
- C. glaberrima* Flavedo [51]
- C. intermedia* Flavedo [51]
- C. hassaku* Flavedo [51]
- C. tengu* Flavedo [51]
- C. natsudaikai* Flavedo [51]
- C. rugulosa* Flavedo [51]
- C. rokuyatsu* Flavedo [51]
- C. canaliculata* Flavedo [51]
- C. tankan* Flavedo [51]

C₄₀H₅₆

536,8726

<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51],[52]
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]
<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]
<i>C.hassaku</i>	Flavedo [51]
<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]
<i>C. natsudaidai</i>	Flavedo [51]
<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]
<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]
<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]
<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]
<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]
<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]
<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]
<i>C. junos</i>	Flavedo [51]
<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]
<i>C. deliciosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. tangerina</i>	Flavedo [51]
<i>C. tachibana</i>	Flavedo [51]
[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]	Flavedo [1]

 <p style="text-align: center;">9-cis- β-Carotene</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [55]	$C_{40}H_{56}$	536,8726
 <p style="text-align: center;">13-cis- β-Carotene</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [55]	$C_{40}H_{56}$	536,8726
 <p style="text-align: center;">α-Cryptoxanthin</p>	<i>C. reticulata</i>	Flavedo e suco [54]	$C_{40}H_{56}O$	552,8720
 <p style="text-align: center;">Zeinoxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [55]	$C_{40}H_{56}O$	552,8720
 <p style="text-align: center;">β-Cryptoxanthin</p>	<i>C. sinensis</i> <i>C. reticulata</i> [<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]	Suco [55],[49] e casca do fruto [53] Flavedo e suco [54] Flavedo [1]	$C_{40}H_{56}O$	552,8720



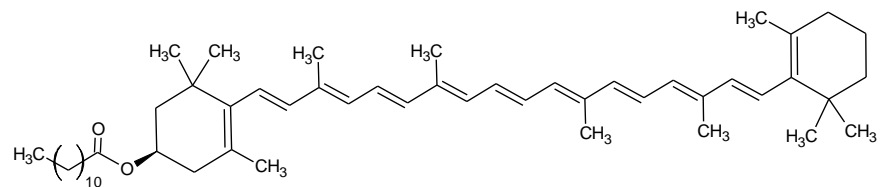
13-*cis*- β-Cryptoxanthin

C. sinensis

Suco [55]

C₄₀H₅₆O

552,8720

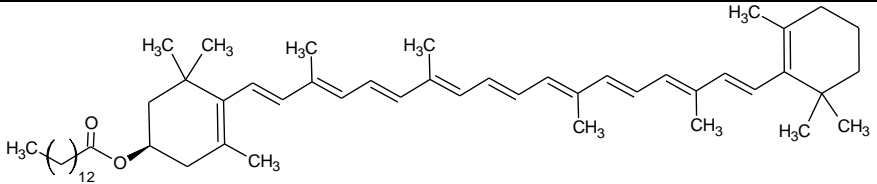
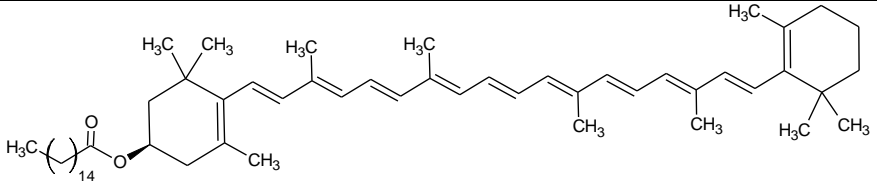


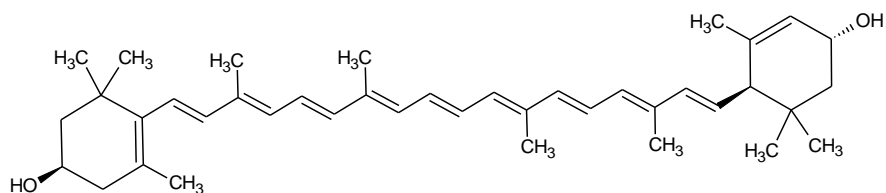
β-Cryptoxanthin laurate

- C. sinensis* Flavedo [51] e suco [56],[49]
- C. reticulata* Flavedo [51]
- C. latifolia* Flavedo [51]
- C. limettioides* Flavedo [51]
- C. nobilis* Flavedo [51]
- C. unshiu* Flavedo [51]
- C. yatsushiro* Flavedo [51]
- C. keraji* Flavedo [51]
- C. limon* Flavedo [51]
- C. limonia* Flavedo [51]
- C. grandis* Flavedo [51]
- C. paradisi* Flavedo [51]
- C. glaberrima* Flavedo [51]
- C. intermedia* Flavedo [51]
- C. hassaku* Flavedo [51]
- C. tengu* Flavedo [51]
- C. natsudaidai* Flavedo [51]
- C. rugulosa* Flavedo [51]
- C. rokuyatsu* Flavedo [51]
- C. canaliculata* Flavedo [51]
- C. tankan* Flavedo [51]
- C. iyo* Flavedo [51]
- C. tamurana* Flavedo [51]

C₅₂H₇₈O₂

735,1745

	<i>C. iyukitso</i> <i>C. aurea</i> <i>C. kinokuni</i> <i>C. reshni</i> <i>C. depressa</i> <i>C. shukokan</i> <i>C. junos</i> <i>C. pseudo-aurantium</i> <i>C. deliciosa</i> <i>C. tangerina</i> <i>C. tachibana</i>	Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51]		
 <p>β-Cryptoxanthin myristate</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [56],[49]	$C_{54}H_{82}O_2$	763,2276
 <p>β-Cryptoxanthin palmitate</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [56],[49]	$C_{56}H_{86}O_2$	791,2808
	<i>C. sinensis</i>	Flavedo [51], casco do fruto [53] e suco [49],[50],[55]		

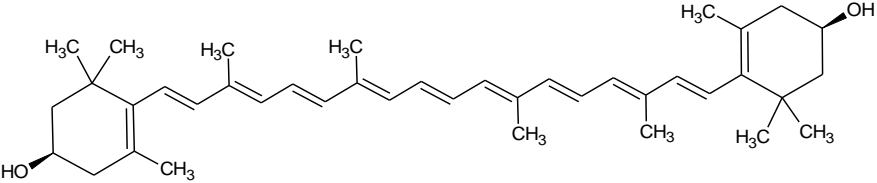


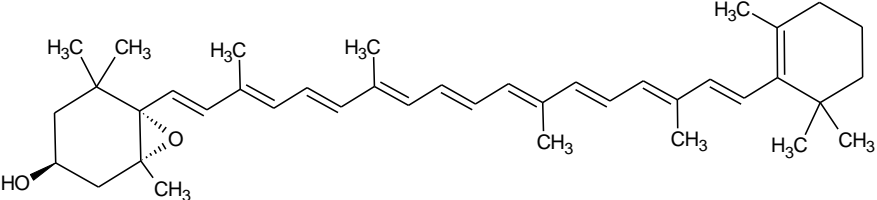
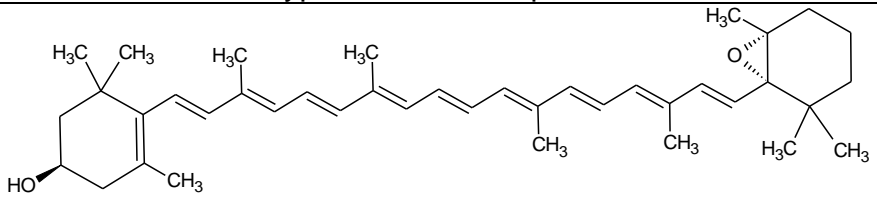
Lutein

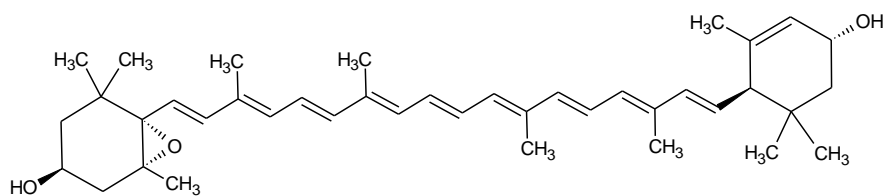
<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51], [54] e suco [54]
<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]
<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]
<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]
<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]
<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]
<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]
<i>C. limon</i>	Flavedo [51]
<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]
<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]
<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]
<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]
<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]
<i>C. natsudaidai</i>	Flavedo [51]
<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]
<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]
<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]
<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]
<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]
<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]
<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]

$C_{40}H_{56}O_2$

568,8714

	<i>C. junos</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. deliciosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tangerina</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tachibana</i>	Flavedo [51]		
 <p style="text-align: center;">Zeaxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Flavedo [51] e suco [50],[55]		
	<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51], [54] e suco [54]		
	<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limon</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. natsudaikai</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]		
			$C_{40}H_{56}O_2$	568,8714

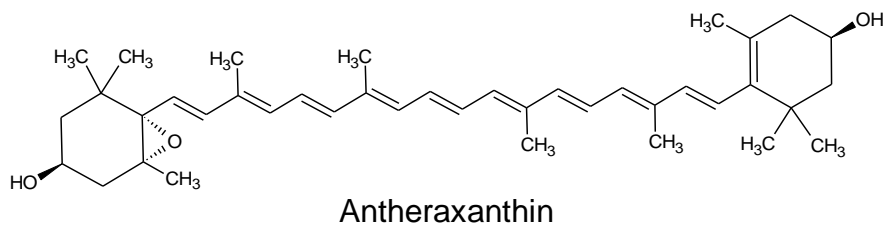
	<p><i>C. iyo</i> <i>C. tamurana</i> <i>C. iyukitso</i> <i>C. aurea</i> <i>C. kinokuni</i> <i>C. reshni</i> <i>C. depressa</i> <i>C. shukokan</i> <i>C. junos</i> <i>C. pseudo-aurantium</i> <i>C. deliciosa</i> <i>C. tangerina</i> <i>C. tachibana</i> <i>[Fortunella margarita x (Poncirus trifoliata x C. sinensis)]</i></p>	<p>Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [1]</p>		
 <p>Cryptoxanthin-5,6-epoxide</p>	<i>C. reticulata</i>	Flavedo e suco [54]	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	568,8448
 <p>Cryptoxanthin-5',6'-epoxide</p>	<i>C. reticulata</i>	Flavedo e suco [54]	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	568,8448

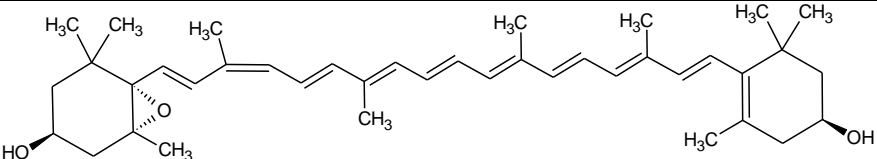
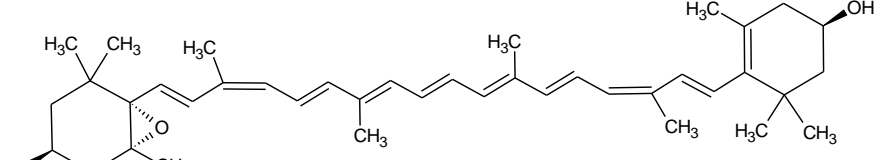
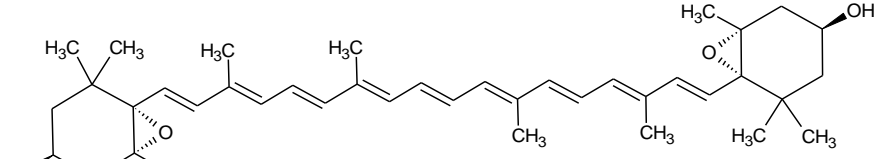


Lutein 5,6-epoxide

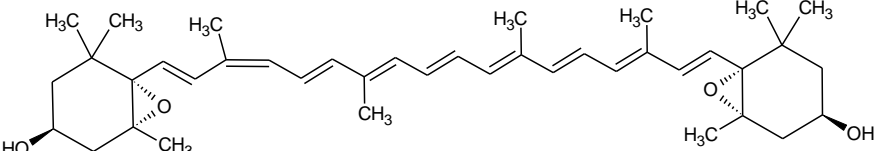
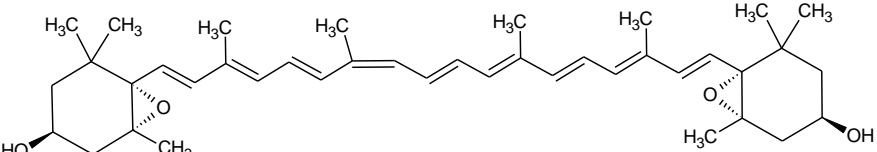
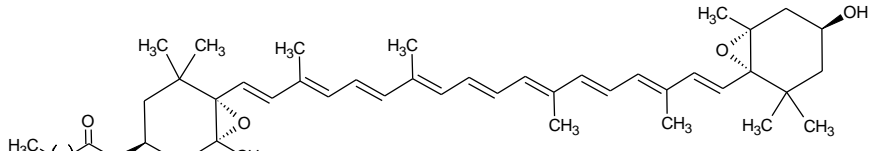
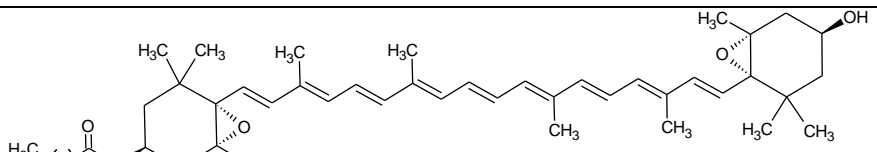
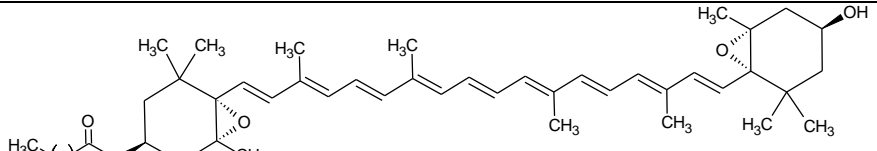
<i>C. sinensis</i>	Flavedo [51]
<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51]
<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]
<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]
<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]
<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]
<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]
<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]
<i>C. limon</i>	Flavedo [51]
<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]
<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]
<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]
<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]
<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]
<i>C. natsudaidai</i>	Flavedo [51]
<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]
<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]
<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]
<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]
<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]
<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]
<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]

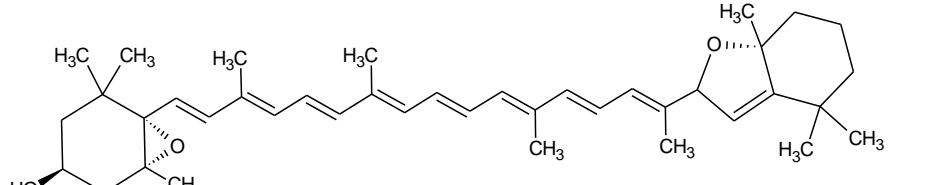
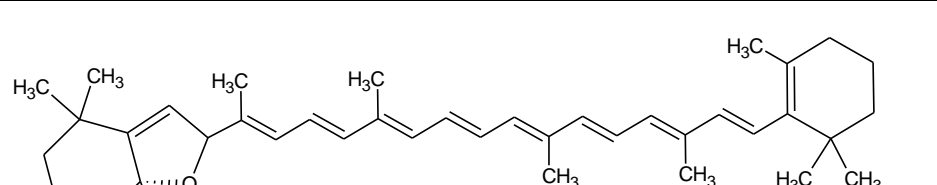
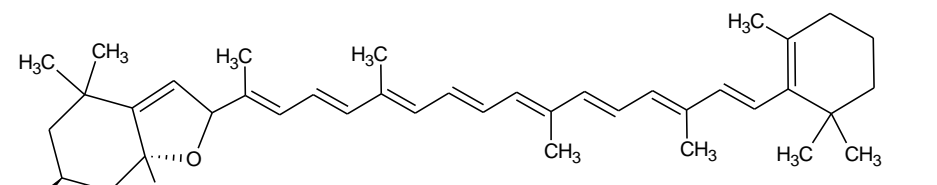
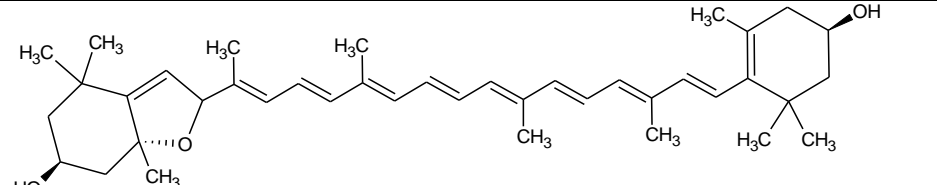
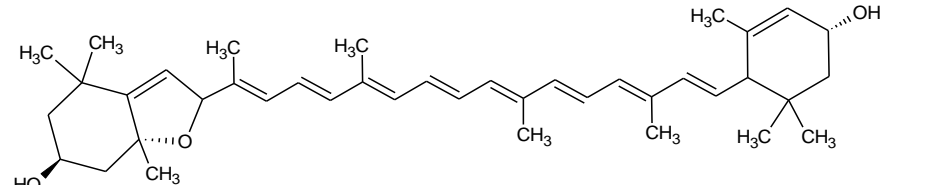
	<i>C. junos</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. deliciosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tangerina</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tachibana</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. sinensis</i>	Flavedo [51], casca do fruto [53] e suco [49],[50]		
	<i>C. reticulata</i>	Flavedo [51], [54] e suco [54]		
	<i>C. latifolia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limon</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]	$C_{40}H_{56}O_3$	584,8708
	<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. natsudaidai</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]		
	<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]		

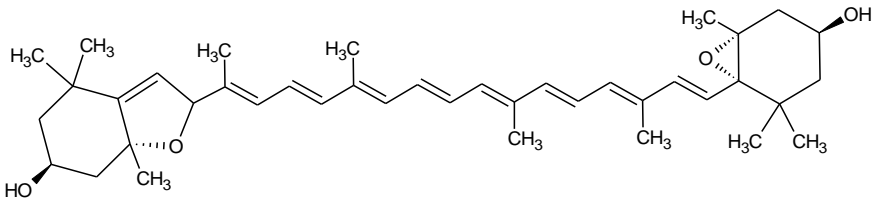
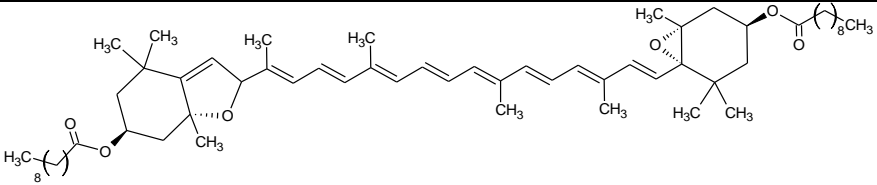
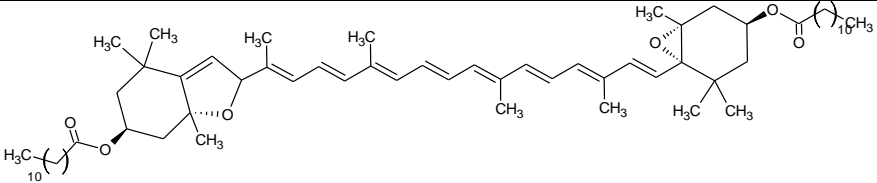
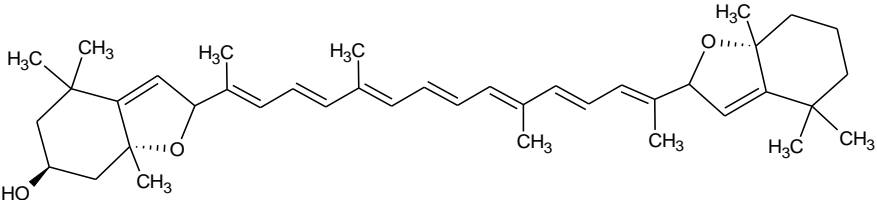
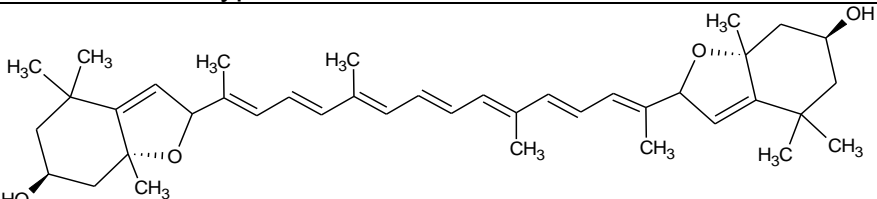


	<p><i>C. iyo</i> <i>C. tamurana</i> <i>C. iyukitso</i> <i>C. aurea</i> <i>C. kinokuni</i> <i>C. reshni</i> <i>C. depressa</i> <i>C. shukokan</i> <i>C. junos</i> <i>C. pseudo-aurantium</i> <i>C. deliciosa</i> <i>C. tangerina</i> <i>C. tachibana</i></p>	<p>Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51] Flavedo [51]</p>		
 <p>9-<i>cis</i>-Antheraxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [55]	$C_{40}H_{56}O_3$	584,8708
 <p>9,9'-<i>cis</i>-Antheraxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [53]	$C_{40}H_{56}O_3$	584,8708
 <p>Violaxanthin</p>	<p><i>C. sinensis</i> <i>C. reticulata</i> <i>C. latifolia</i></p>	<p>Flavedo [51], casca do fruto [53] e suco [50] Flavedo [51], [54] e suco [54] Flavedo [51]</p>	$C_{40}H_{56}O_4$	600,8702

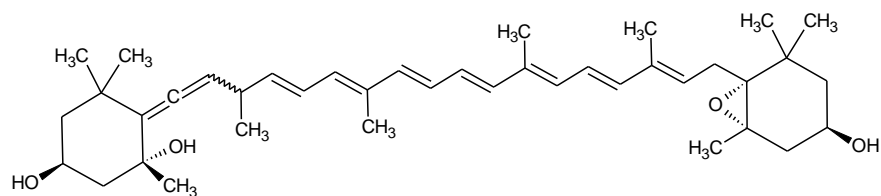
<i>C. limettioides</i>	Flavedo [51]
<i>C. nobilis</i>	Flavedo [51]
<i>C. unshiu</i>	Flavedo [51]
<i>C. yatsushiro</i>	Flavedo [51]
<i>C. keraji</i>	Flavedo [51]
<i>C. limon</i>	Flavedo [51]
<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]
<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]
<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]
<i>C. hassaku</i>	Flavedo [51]
<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]
<i>C. natsudaikai</i>	Flavedo [51]
<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]
<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]
<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]
<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]
<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]
<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]
<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]
<i>C. junos</i>	Flavedo [51]
<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]

	<i>C. deliciosa</i> <i>C. tangerina</i> <i>C. tachibana</i>	Flavado [51] Flavado [51] Flavado [51]		
 <p>9-<i>cis</i>-Violaxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [53]	$C_{40}H_{56}O_4$	600,8702
 <p>13-<i>cis</i>-Violaxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [53]	$C_{40}H_{56}O_4$	600,8702
 <p>Violaxanthin caprate</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [56]	$C_{50}H_{74}O_5$	755,1195
 <p>Violaxanthin laurate</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [56]	$C_{52}H_{78}O_5$	783,1727
 <p>Violaxanthin myristate</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [56]	$C_{54}H_{82}O_5$	811,2258

 <p>Cryptoxanthin 5,6-epoxide-5',8'-furanoxide</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [50]	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	584,8708
 <p>Mutatochrome</p>	<i>C. sinensis</i> <i>C. reticulata</i> [<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]	Suco [50] Flavado e suco [54] Flavado [1]	C ₄₀ H ₅₆ O	552,8720
 <p>β-Cryptoflavin</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [50] e casca do fruto [53]	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	568,8714
 <p>Mutatoxanthin</p>	<i>C. sinensis</i> <i>C. reticulata</i>	Suco [49],[50],[55] Flavado e suco [54]	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	584,8708
 <p>Chrysanthemazanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [50]	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	584,878

	<i>C. sinensis</i>	Suco [49],[50]	$C_{40}H_{56}O_4$	600,8702
Luteoxanthin	<i>C. reticulata</i>	Flavedo e suco [54]		
	<i>C. sinensis</i>	Suco [56]	$C_{60}H_{92}O_6$	909,3688
Luteoxanthin dicaprate				
	<i>C. sinensis</i>	Suco [56]	$C_{64}H_{100}O_6$	965,4752
Luteoxanthin dilaurate				
	<i>C. sinensis</i>	Suco [50]	$C_{40}H_{56}O_3$	584,8708
Cryptoxanthin 5,8,5',8'-difuranoxide				
	<i>C. sinensis</i>	Suco [50],[55]	$C_{40}H_{56}O_4$	600,8702
Auroxanthin				

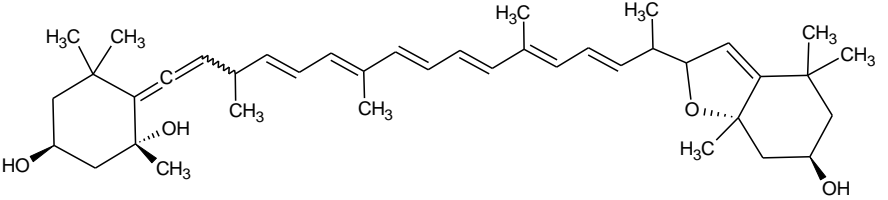
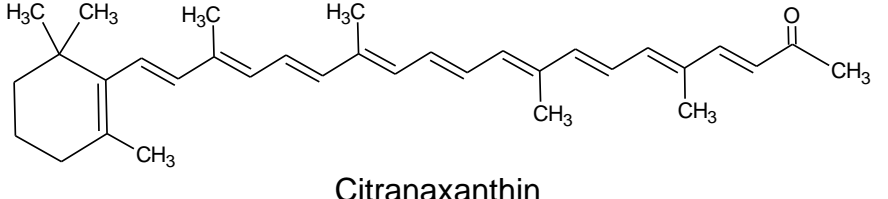
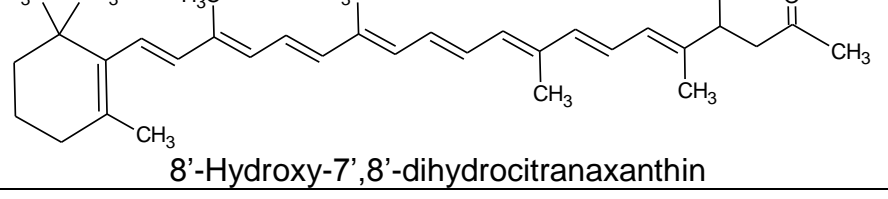
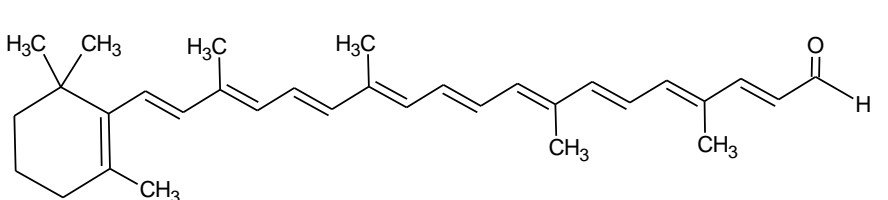
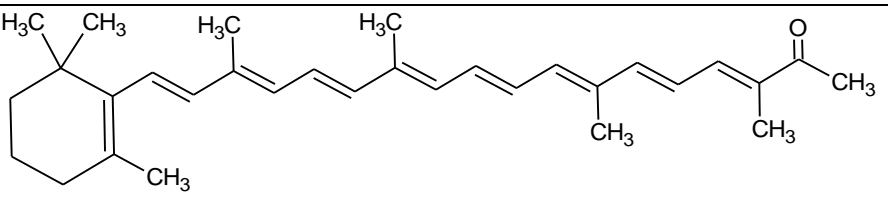
	<i>C. sinensis</i>	Suco [49]	$C_{56}H_{86}O_5$	839,2790
Auroxanthin palmitate				
	<i>C. sinensis</i>	Suco [57],[58]	$C_{40}H_{58}O_5$	618,8855
Trollichrome	<i>C. reticulata</i>	Flavedo e suco [54]		
	<i>C. sinensis</i>	Suco [50],[58]	$C_{40}H_{58}O_4$	602,8861
Trollixanthin	<i>C. reticulata</i>	Flavedo e suco [54]		
		Flavedo [51] e suco [55],[50]		
		Flavedo [51], [54] e suco [54]		
		Flavedo [51]		
		Flavedo [51]		
		Flavedo [51]		
		Flavedo [51]		
		Flavedo [51]		
		Flavedo [51]		
		Flavedo [51]		



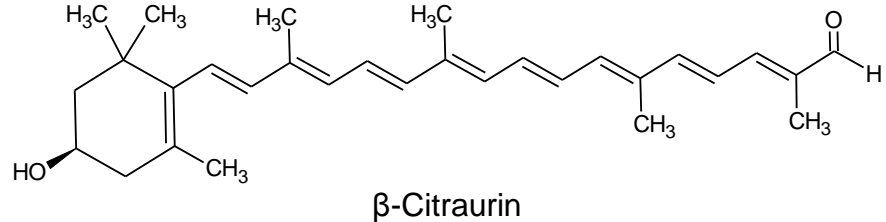
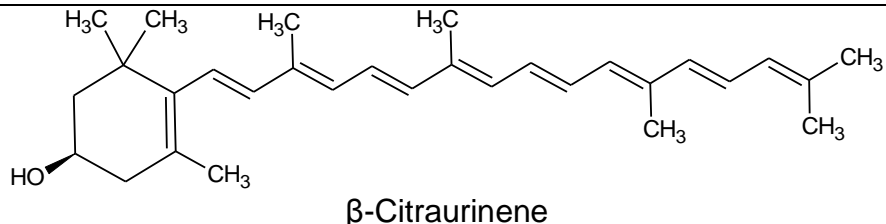
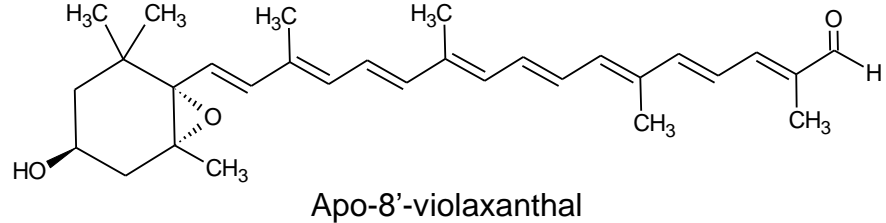
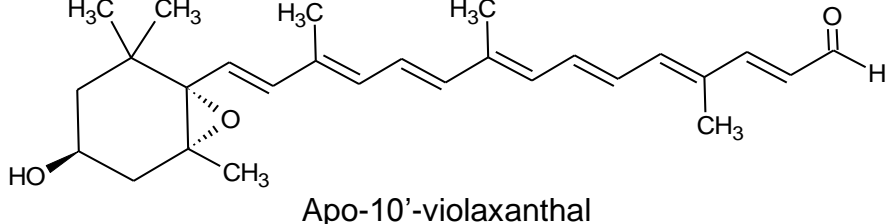
Neoxanthin

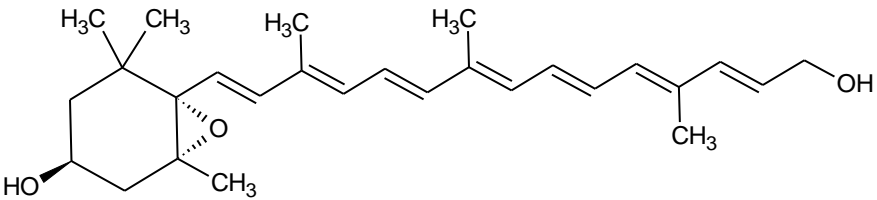
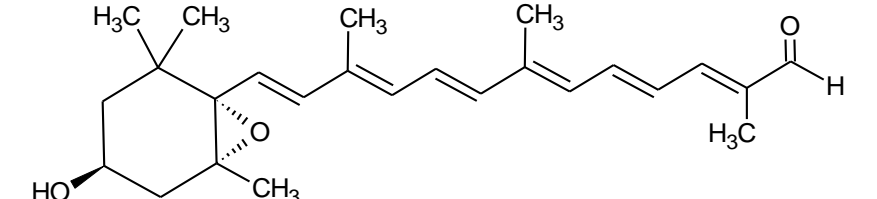
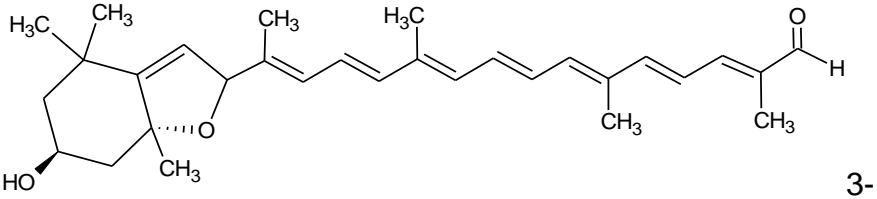
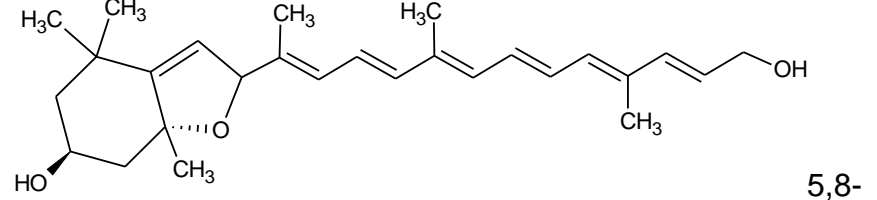
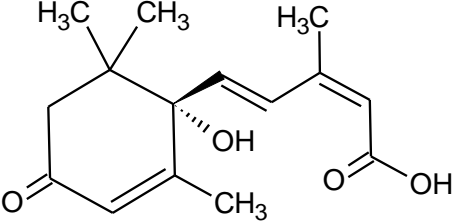
<i>C. limon</i>	Flavedo [51]
<i>C. limonia</i>	Flavedo [51]
<i>C. grandis</i>	Flavedo [51]
<i>C. paradisi</i>	Flavedo [51]
<i>C. glaberrima</i>	Flavedo [51]
<i>C. intermedia</i>	Flavedo [51]
<i>C.hassaku</i>	Flavedo [51]
<i>C. tengu</i>	Flavedo [51]
<i>C. natsudaikai</i>	Flavedo [51]
<i>C. rugulosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. rokuyatsu</i>	Flavedo [51]
<i>C. canaliculata</i>	Flavedo [51]
<i>C. tankan</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyo</i>	Flavedo [51]
<i>C. tamurana</i>	Flavedo [51]
<i>C. iyukitso</i>	Flavedo [51]
<i>C. aurea</i>	Flavedo [51]
<i>C. kinokuni</i>	Flavedo [51]
<i>C. reshni</i>	Flavedo [51]
<i>C. depressa</i>	Flavedo [51]
<i>C. shukokan</i>	Flavedo [51]
<i>C. junos</i>	Flavedo [51]
<i>C. pseudo-aurantium</i>	Flavedo [51]
<i>C. deliciosa</i>	Flavedo [51]
<i>C. tangerina</i>	Flavedo [51]
<i>C. tachibana</i>	Flavedo [51]

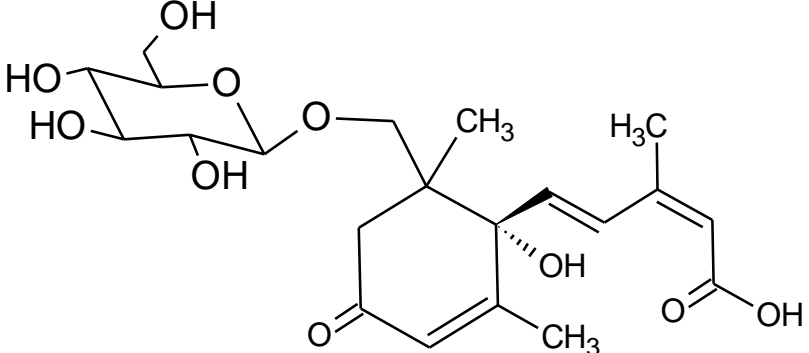
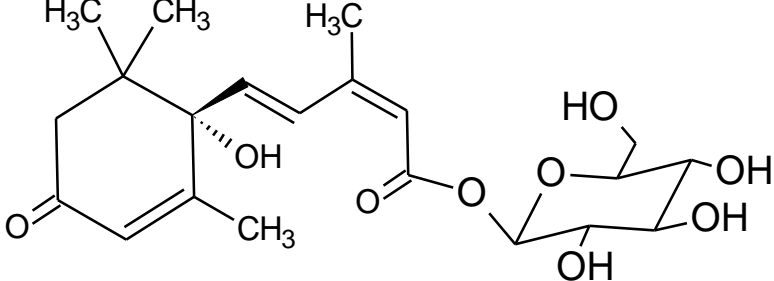
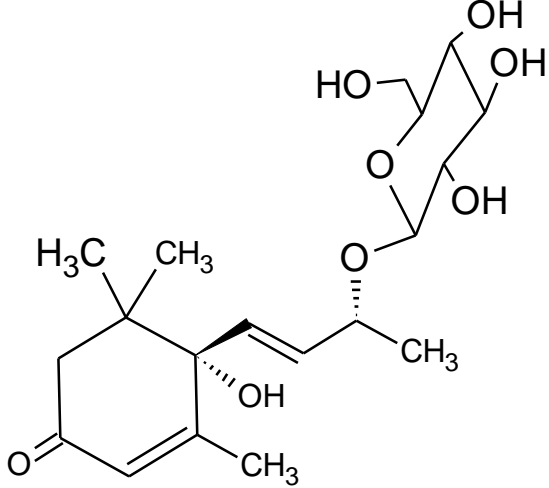
$C_{40}H_{58}O_4$ 602,8861

 <p>Neochrome</p>	<i>C. reticulata</i>	Flavado e suco [54]	$C_{40}H_{58}O_4$	602,8861
 <p>Citranaxanthin</p>	[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]	Flavado [1] e casca do fruto [59]	$C_{33}H_{44}O$	456,708
 <p>8'-Hydroxy-7',8'-dihydrocitranaxanthin</p>	[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]	Flavado [1] e casca do fruto [60]	$C_{33}H_{46}O_2$	474,7171
 <p>β-Apo-10'-carotenal</p>	[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]	Flavado [1]	$C_{32}H_{42}O$	442,6752
 <p>Sintaxanthin</p>	[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)] <i>C. sinensis</i>	Flavado [1] Suco [50]	$C_{31}H_{42}O$	430,6645

	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p>	<p>Flavado [1]</p>	<p>$C_{30}H_{40}O$</p>	<p>416,638</p>
<p>β-Apo-8'-carotenal</p>	<p><i>C. reticulata</i></p>	<p>Flavado e suco [54]</p>		
	<p><i>C. sinensis</i></p>	<p>Casca do fruto [53]</p>		
	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p>	<p>Flavado [1]</p>	<p>$C_{33}H_{44}O_2$</p>	<p>472,7012</p>
<p>Reticulaxanthin</p>	<p><i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i></p>	<p>Casca do fruto [61]</p>		
	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p>	<p>Flavado [1]</p>	<p>$C_{33}H_{46}O_3$</p>	<p>490,7165</p>
<p>8'-Hydroxy-7,8'-dihydroreticulaxanthin</p>				
	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x (<i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>)]</p>	<p>Flavado [1]</p>	<p>$C_{31}H_{42}O_2$</p>	<p>446,6639</p>
<p>3-Hydroxysintaxanthin</p>				

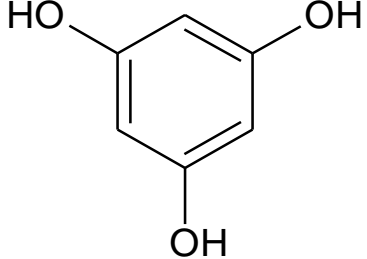
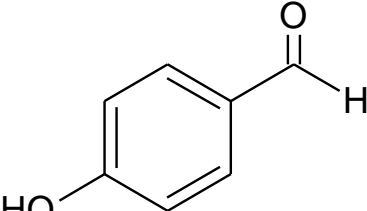
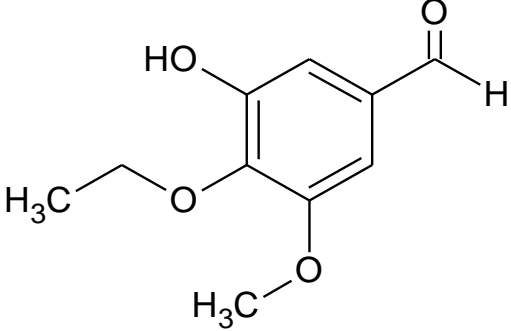
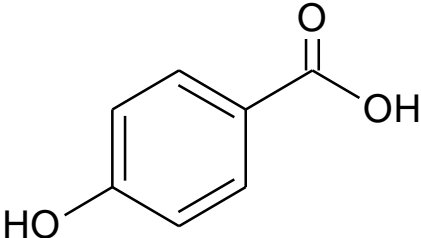
 <p style="text-align: center;">β-Citraurin</p>	<p>[<i>Fortunella margarita</i> x <i>Poncirus trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i>]</p>	<p>Flavado [1]</p>	<p>$C_{30}H_{40}O_2$</p>	<p>432,6374</p>
 <p style="text-align: center;">β-Citraurine</p>	<p><i>C. reticulata</i> <i>C. tangelo</i> x <i>C. clementina</i></p>	<p>Flavado e suco [53] e suco [50],[58] Flavado e suco [54] Frutos [62]</p>	<p>$C_{30}H_{42}O$</p>	<p>418,6538</p>
 <p style="text-align: center;">Apo-8'-violaxanthal</p>	<p><i>C. sinensis</i></p>	<p>Casca do fruto [53]</p>	<p>$C_{30}H_{40}O_3$</p>	<p>448,6368</p>
 <p style="text-align: center;">Apo-10'-violaxanthal</p>	<p><i>C. sinensis</i></p>	<p>Casca do fruto [53]</p>	<p>$C_{27}H_{36}O_3$</p>	<p>408,5729</p>

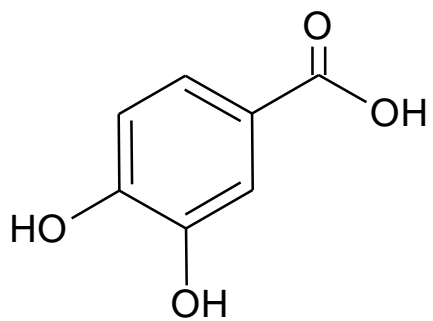
 <p>Sinensiaxanthin</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [50]	$C_{27}H_{38}O_3$	410,5888
 <p>Apo-12'-violaxanthal</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [53]	$C_{25}H_{34}O_3$	382,5356
 <p>3- Hydroxy-5,8-epoxy-5,8-dihydro-8'-apo-β-caroten-8'-al</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [58]	$C_{30}H_{40}O_3$	448,6368
 <p>5,8- Epoxy-5,8-dihydro-10'-apo-β-caroten-3,10'-diol</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [58]	$C_{27}H_{38}O_3$	410,5888
 <p>Abscisic acid</p>	<i>C. unshiu</i>	Melaço [41]	$C_{15}H_{20}O_4$	264,3169

 <p>8'-Hydroxy- abscisic acid β-D-O-glucoside</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{21}H_{30}O_{10}$	442,4569
 <p>Abscisic acid β-D-glucopyranosyl ester</p>	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [63]	$C_{21}H_{30}O_9$	426,4575
 <p>Vomifoliol 9-O- β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2],[3]	$C_{19}H_{30}O_8$	386,4367
	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]		
	<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2],[3]		
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2],[3]		

	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [3]		
(6R,7E,9R)-9-Hydroxymegastigma-4,7-dien-3-one-9-O-β-D-glucopyranoside	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]	$C_{19}H_{30}O_7$	370,4373
	<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2],[3]		
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2],[3]		
	<i>C. unshiu</i>	Folhas [22]	$C_{19}H_{30}O_8$	386,4367
Citroside A				

	<i>C. unshiu</i>	Folhas [22]	$C_{19}H_{30}O_8$	386,4367
Citroside B				
Isocumarina				
	<i>C. reticulata</i>	Casca do galho [21]	$C_{15}H_{18}O_4$	262,3010
8-Hydroxy-6-methoxy-pentylisocoumarin				
Derivados Fenólicos				
	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [64],[65]		
p-Hidroquinone	<i>C. nobilis</i>	Casca da raíz [4]	$C_6H_6O_2$	110,1106
	<i>C. sinensis</i>	Casca da raíz [5]		

 <p>Phloroglucin</p>	<i>C. grandis</i>	Pericarpo [34]	$C_6H_6O_3$	126,1100
 <p>p-Hydroxybenzaldehyde</p>	<i>C. paradisi x C. tangerine</i>	Raíz [66]	$C_7H_6O_2$	122,1213
 <p>Reticulatal</p>	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [67]	$C_{10}H_{12}O_4$	196,1998
 <p>p-Hydroxybenzoic acid</p>	<i>C. paradisi x C. tangerine</i>	Raíz [66]	$C_7H_6O_3$	138,1207
	<i>C. reticulata</i>	Casca do galho [21]		



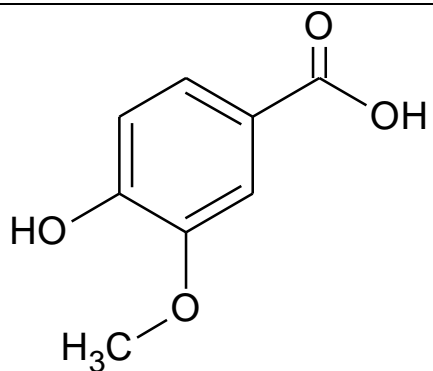
3,4-Dihydroxy benzoic acid

C. reticulata

Casca do galho
[21]

$C_7H_6O_4$

154,1201



Vanillic acid

C. hystrix

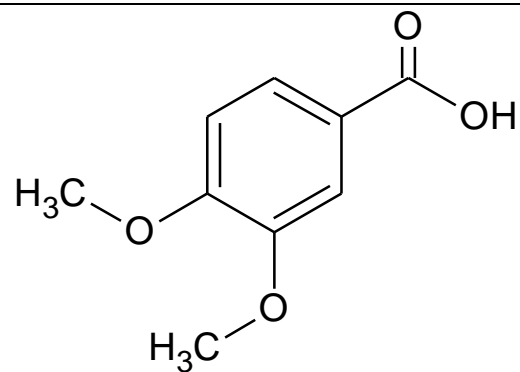
Raíz [35]

$C_8H_8O_4$

168,1467

C. sudachi

Casca do fruto [29]



Veratric acid

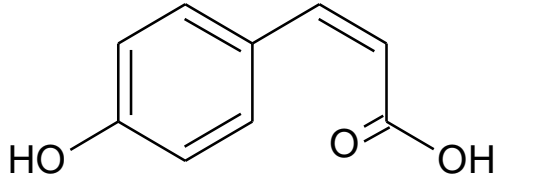
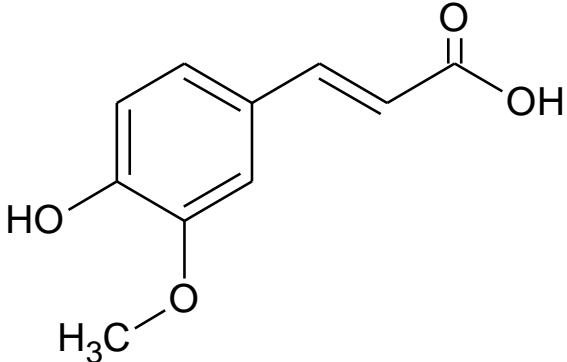
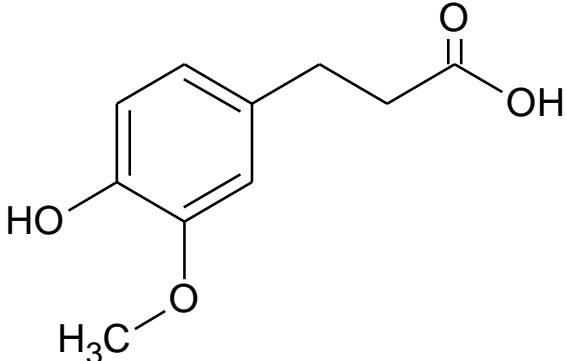
C. grandis

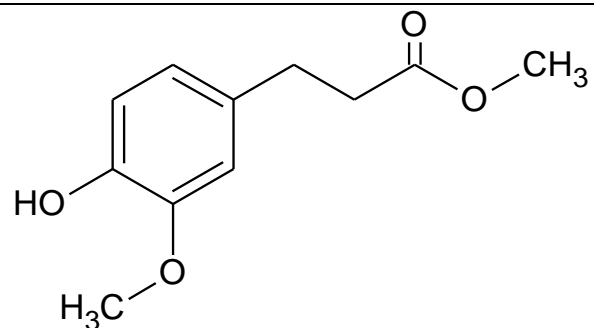
Pericarpo [34]

$C_9H_{10}O_4$

182,1733

	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]	$C_{10}H_{12}O_4$	196,1998	
Xanthoxylim	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerine</i> <i>C. hystrix</i> <i>C. sinensis</i> <i>C. natsudaidai</i> <i>C. tamurana</i> x <i>C. kinokuni</i>	Raíz [66] Raíz [35] Raíz e casca da raíz [68] Raíz e casca da raíz [68] Raíz e casca da raíz [68]	$C_{12}H_{14}O_3$	206,2377	
	Valencic acid	<i>C. medica</i>	Raíz e casca da raíz [68]	$C_{13}H_{18}O_2$	206,2808
	Etrogol	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]	$C_{18}H_{26}O_3$	290,3972
	Hystroxene-I				

 <p>Cis-p-coumaric acid</p>	<i>C. medica</i>	Raíz e casca da raíz [12]	$C_9H_8O_3$	164,1580
 <p>Ferulic acid</p>	<i>C. limon</i>	Fruto [69]	$C_{10}H_{10}O_4$	194,184
 <p>Dehydroferulic acid</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{10}H_{12}O_4$	196,1998



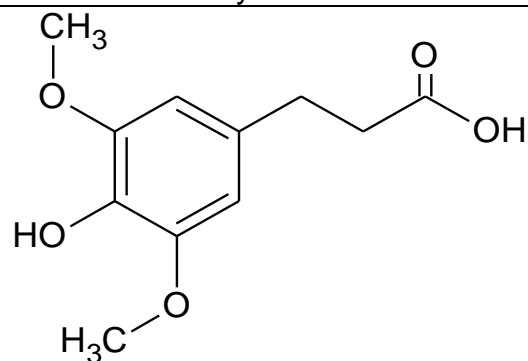
Methyl ferulate

C. sudachi

Casca do fruto [29]

$C_{11}H_{14}O_4$

210,2264



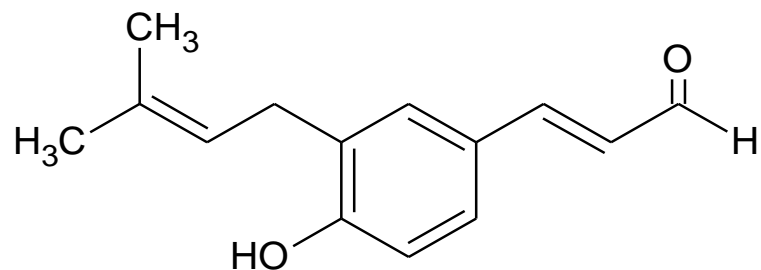
Sinapic acid

C. limon

Frutos [69]

$C_{11}H_{14}O_5$

226,2258



3-[4-hydroxy-3-(3-metyl-2-butenyl)-phenyl]-2-(E)-propenal

C. sinensis

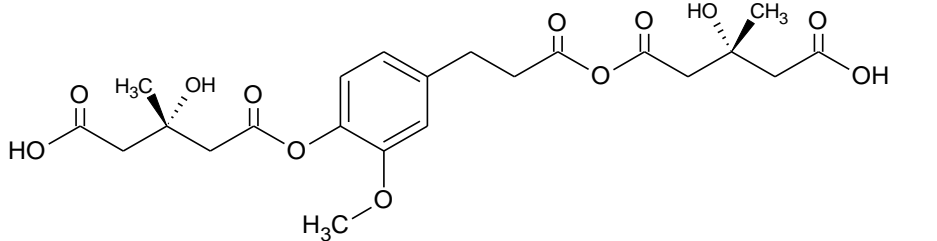
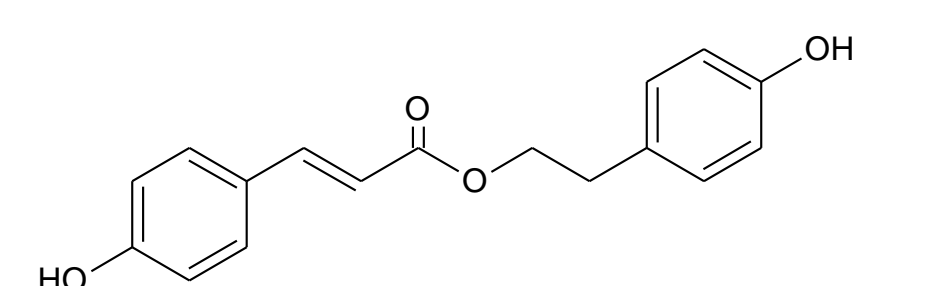
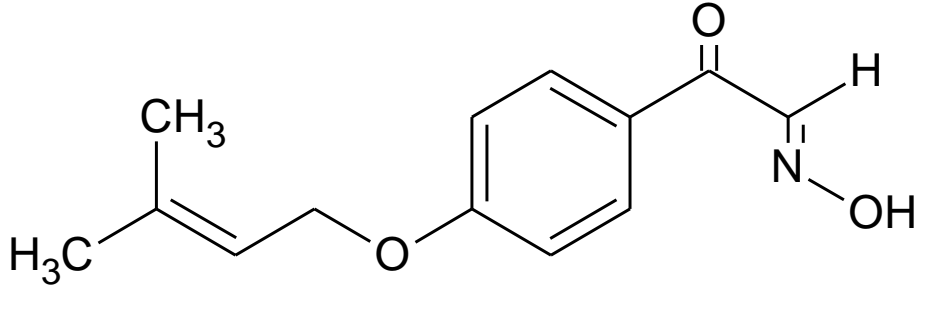
Casca do fruto [70]

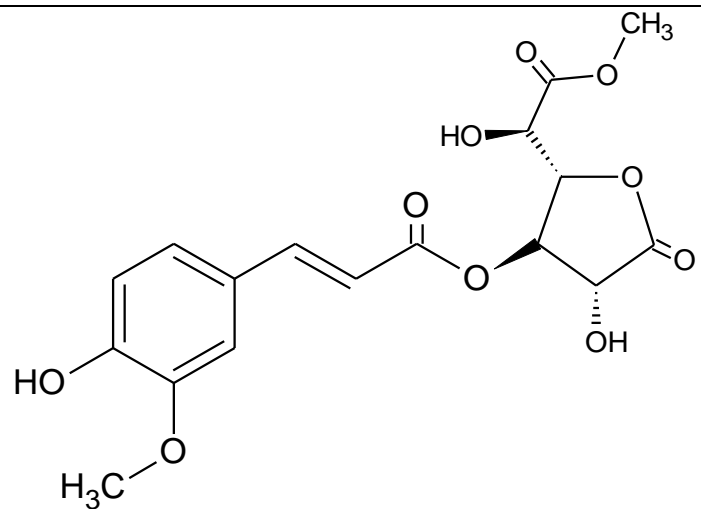
$C_{14}H_{16}O_2$

216,2756

C. paradisi

Casca do fruto [70]

 <p>[1,4'-O-di-(3-Hydroxy-3-methylglutaryl)-dehydroferulate</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₂	482,4344
 <p>p-Hydroxyphenyl-ethyl-p-coumarate</p>	<i>C. reticulata</i>	Tronco [38]	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284,3065
 <p>Citaldoxime</p>	<i>C. sinensis</i>	Raíz [71]	C ₁₃ H ₁₅ NO ₃	233,2631
<p>(<i>C. unshiu</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. iyo</i></p>	Raíz [71]			



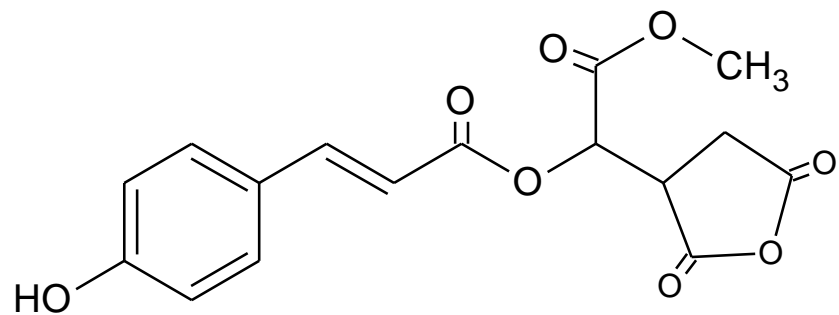
Mucid acid 1,4-lactone methyl ester 3-O-ferulate

C. sudachi

Casca do fruto [29]

$C_{17}H_{18}O_{10}$

382,3188



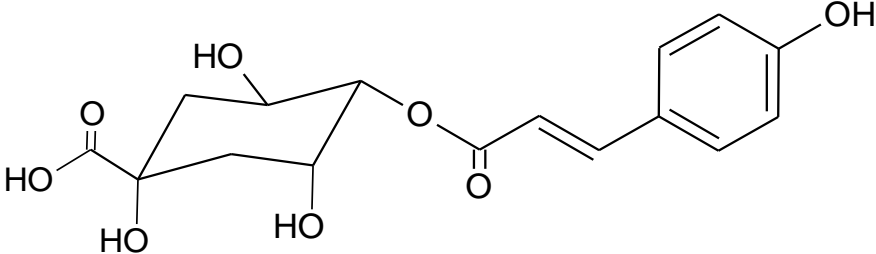
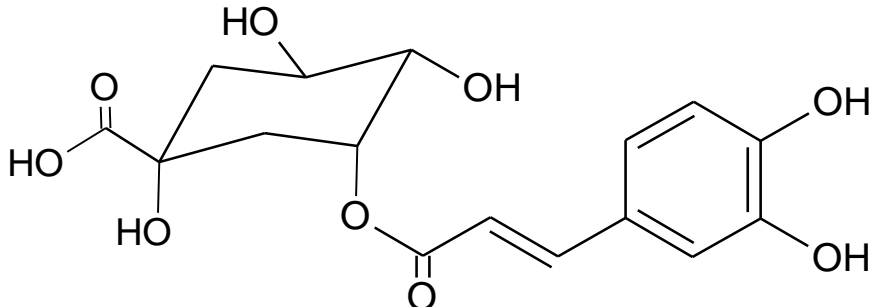
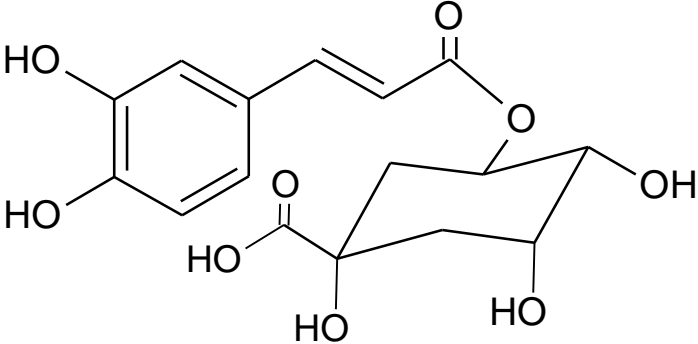
Meyerin

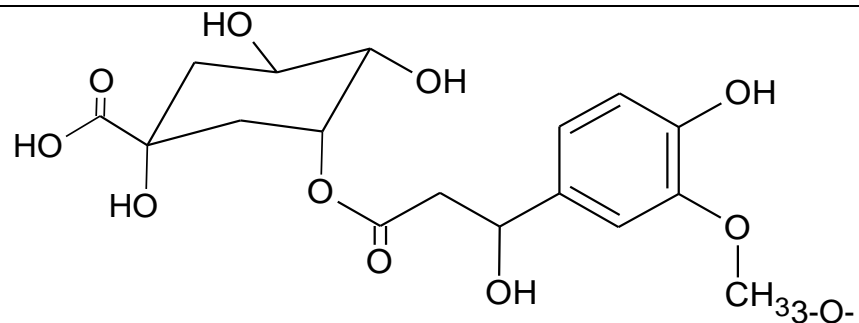
C. meyeri

Albedo e flavedo
[72]

$C_{16}H_{14}O_8$

334,2775

 <p>4-p-Coumaroylquinic acid</p>	<i>C. limon</i>	Fruto [69]	$C_{16}H_{18}O_8$	338,3093				
 <p>3-O-Caffeoylquinic acid</p>	<i>C. limon</i>	Fruto [69]	<i>C. sinensis</i>	Fruto [69]	<i>C. reticulata</i>	Fruto [69]	$C_{16}H_{18}O_9$	354,3087
 <p>5-O-Caffeoylquinic acid</p>	<i>C. limon</i>	Fruto [69]	<i>C. sinensis</i>	Fruto [69]	<i>C. reticulata</i>	Fruto [69]	$C_{16}H_{18}O_9$	354,3087
	<i>C. aurantifolia</i>	Fruto [69]			<i>C. paradisi</i>	Fruto [69]		



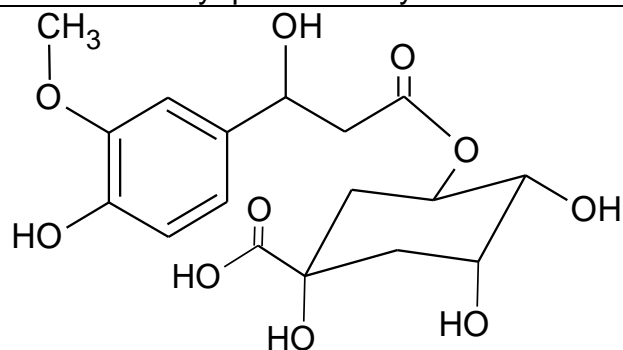
Feruloylquinic acid hydrated *

C. sinensis

Fruto [69]

$C_{17}H_{22}O_{10}$

386,3505



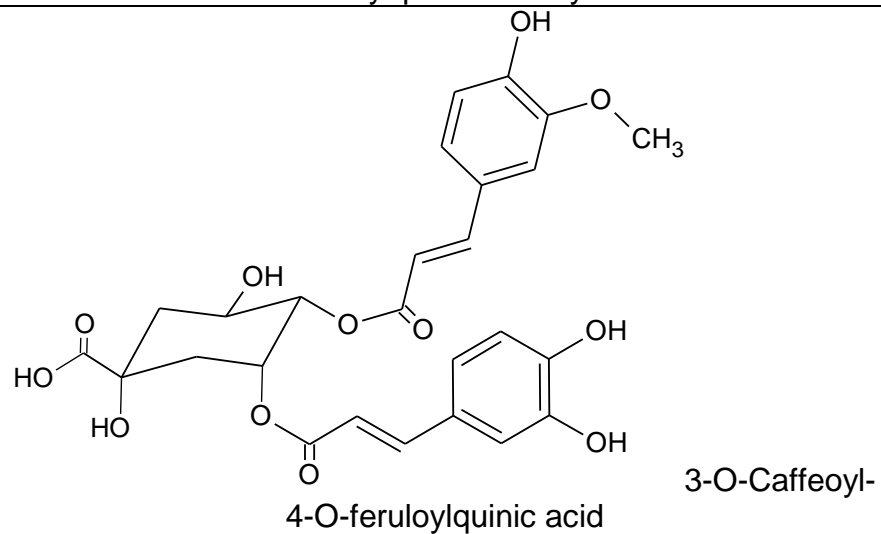
5-O-Feruloylquinic acid hydrated

C. paradisi

Fruto [69]

$C_{17}H_{22}O_{10}$

386,3505



4-O-feruloylquinic acid

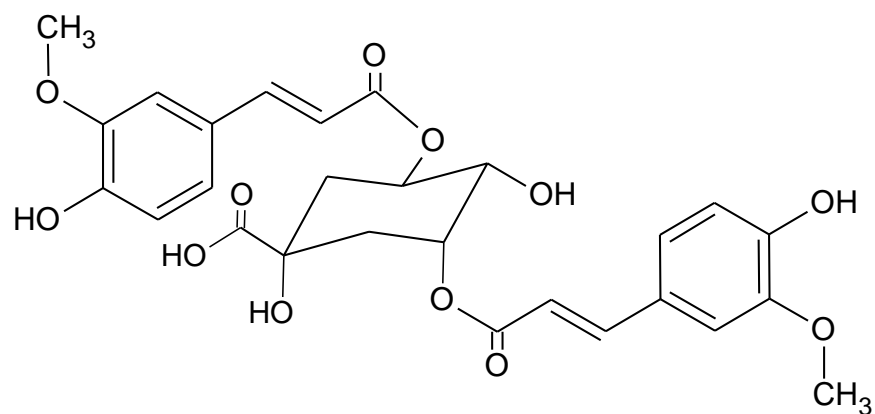
3-O-Caffeoyl-

C. sinensis

Fruto [69]

$C_{26}H_{26}O_{12}$

530,4774



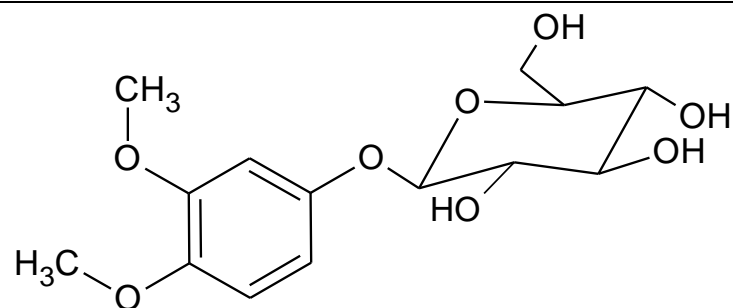
3,5-Diferuloylquinic acid

C. reticulata

Fruto [69]

$C_{27}H_{28}O_{12}$

544,5040



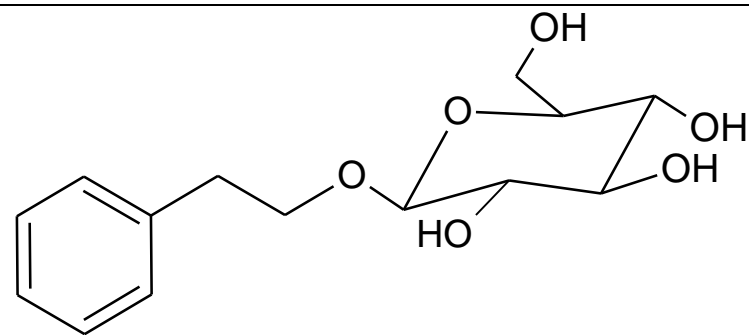
3,4-Dimethoxyphenol-O- β -D-glucopyranoside

C. grandis

Pericarpo [34]

$C_{14}H_{20}O_8$

316,3038



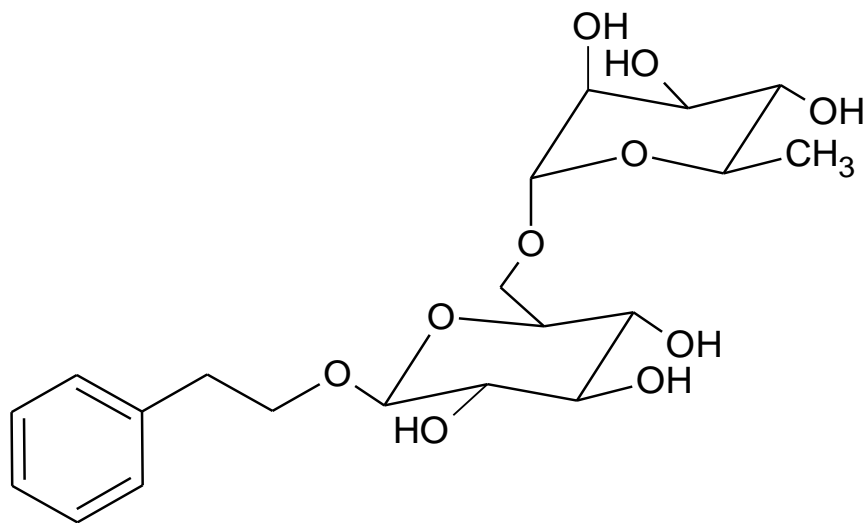
2-Phenylethyl O- β -D-glucopyranoside

C. unshiu

Folha [22]

$C_{14}H_{20}O_6$

284,305



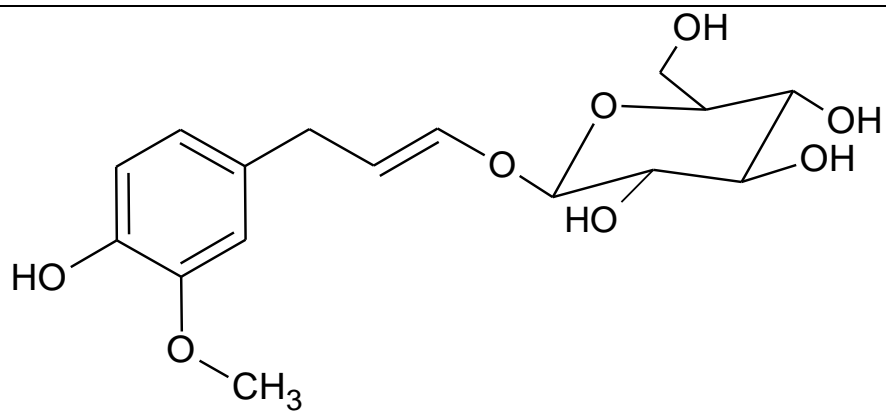
2-Phenylethyl O- β -D-rutinoside

C. unshiu

Folha [22]

$C_{20}H_{30}O_{10}$

430,4462



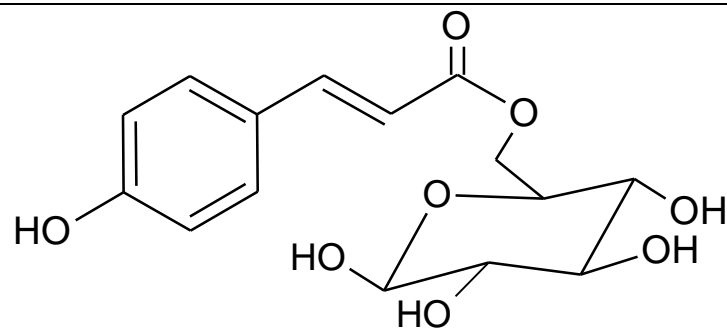
Citrusin D

C. unshiu

Casca do fruto [2]

$C_{16}H_{22}O_8$

342,3410



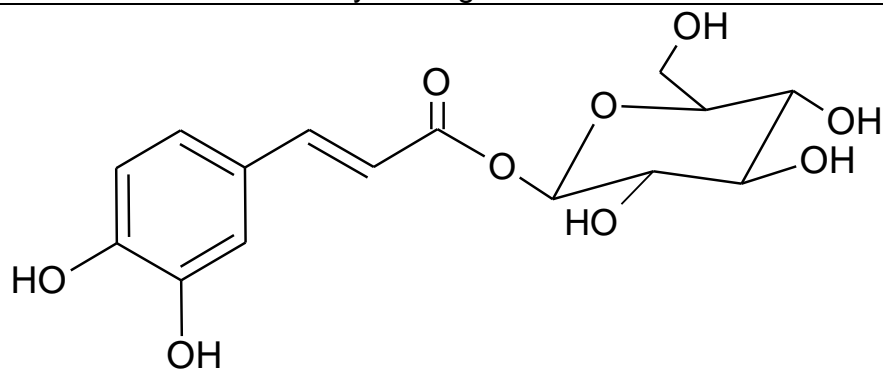
Coumaroyl-6'-O-glucoside ester

C. limonetta

Casca do fruto [47]

$C_{15}H_{18}O_8$

326,2986



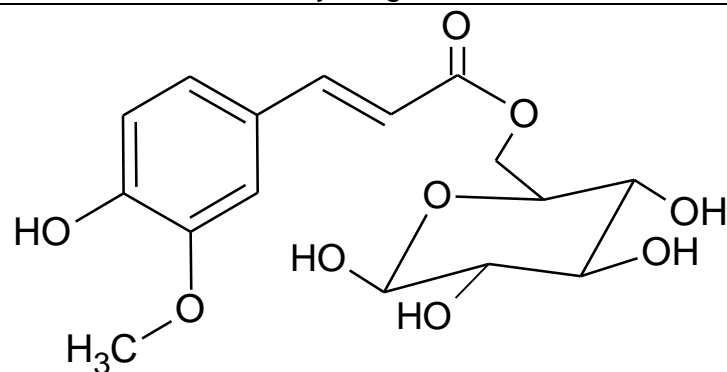
Caffeoyl-O-glucoside

C. limonetta

Casca do fruto [47]

$C_{15}H_{18}O_9$

342,2980



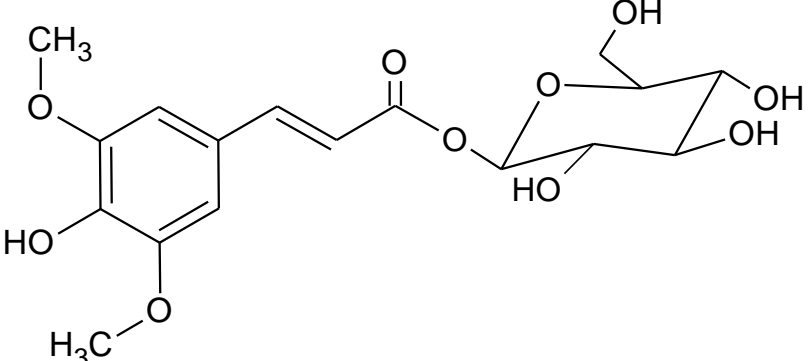
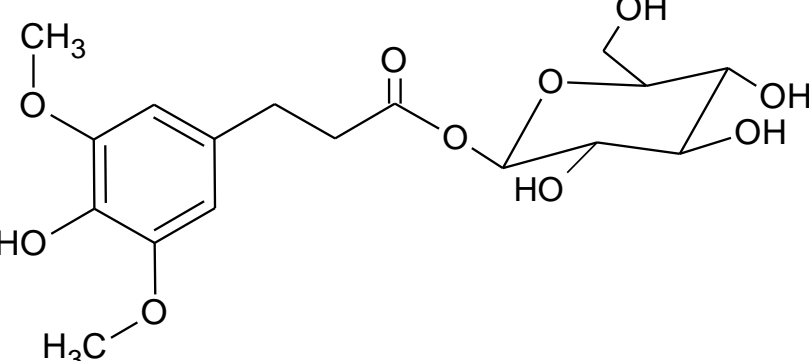
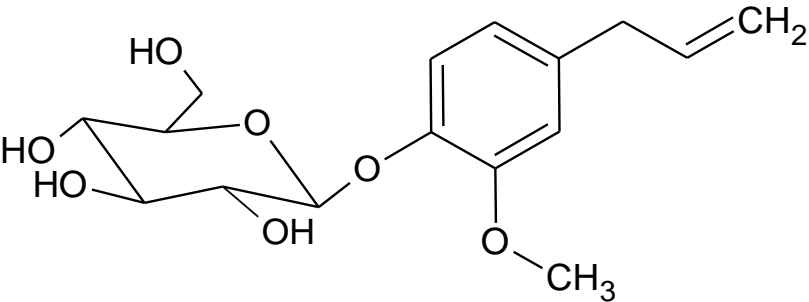
Feruloyl-6'-O-glucoside ester

C. limonetta

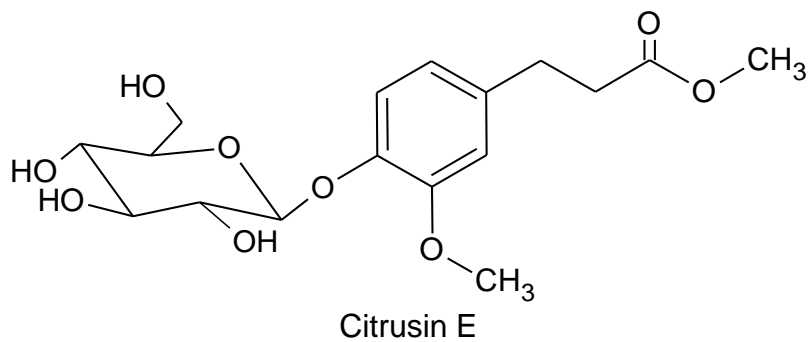
Casca do fruto [47]

$C_{16}H_{20}O_9$

356,3246

 <p style="text-align: center;">Synapoyl-O-glucoside</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{17}H_{22}O_{10}$	386,3505								
 <p style="text-align: center;">Dehydro-synapoyl-O-glucoside</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{17}H_{24}O_{10}$	388,3664								
 <p style="text-align: center;">Citrusin C</p>	<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2]	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2]	$C_{16}H_{22}O_7$	326,3416	<i>C. natsudaidai</i>	Casca do fruto [2]	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [73]

<p>Coniferin</p>	<p><i>C. sinensis</i> Casca do fruto [2],[74] <i>C. paradisi</i> Casca do fruto [74] <i>C. paradisi x C. reticulata</i> Casca do fruto [74] <i>C. natsudaiddai</i> Casca do fruto [2] <i>C. limon</i> Casca do fruto [2],[73] <i>C. unshiu</i> Casca do fruto [2] e melação [41] <i>C. junos</i> Casca do fruto [2] <i>C. sudachi</i> Casca do fruto [2] <i>C. grandis</i> Casca do fruto [2] <i>C. hassaku</i> Casca do fruto [2] <i>C. iyo</i> Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{16}H_{22}O_8$</p>	<p>342,3410</p>
<p>Syringin</p>	<p><i>C. natsudaiddai</i> Casca do fruto [2] <i>C. limon</i> Casca do fruto [2],[73] <i>C. unshiu</i> Casca do fruto [2] <i>C. junos</i> Casca do fruto [2] <i>C. sudachi</i> Casca do fruto [2] <i>C. grandis</i> Casca do fruto [2] <i>C. hassaku</i> Casca do fruto [2] <i>C. iyo</i> Casca do fruto [2] <i>C. sinensis</i> Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{17}H_{24}O_9$</p>	<p>372,3670</p>



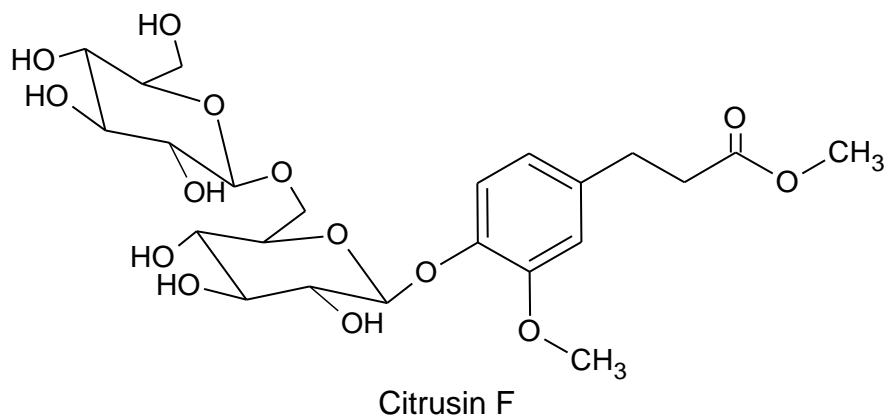
C. limon

Casca do fruto
[2],[73]

C₁₇H₂₄O₉

372,3670

Citrusin E



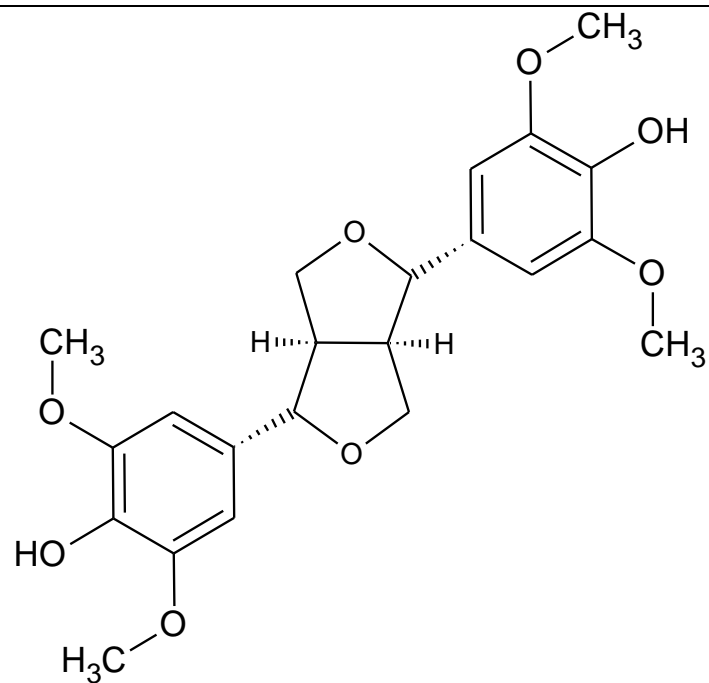
C. limon

Casca do fruto
[2],[73]

C₂₃H₄₃O₁₄

534,5076

Citrusin F



(+)-Seringaresinol

C. hystrix

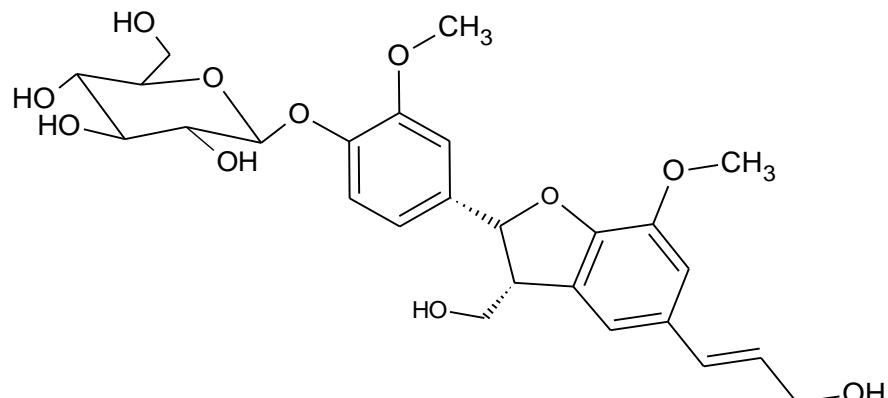
Raíz [35]

$C_{22}H_{26}O_8$

418,4370

C. medica

Casca da raíz [12]



Dehydrodiconiferylalcohol 4-O-β-D-glucopyranoside

C. junos

Casca do fruto [2]

C. sinensis

Casca do fruto [2]

C. limon

Casca do fruto [2],
[73]

$C_{26}H_{32}O_{11}$

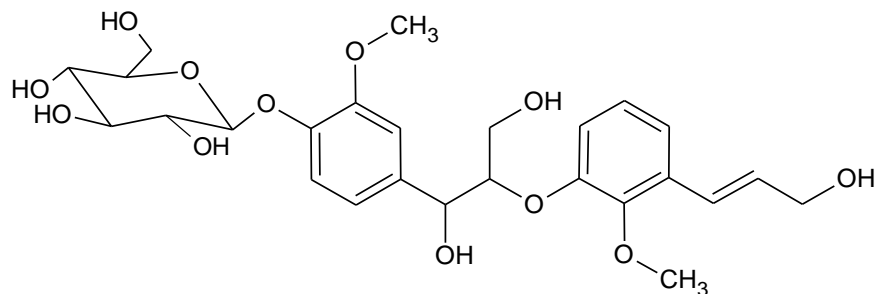
520,5256

C. hassaku

Casca do fruto [2]

C. natsudaikai

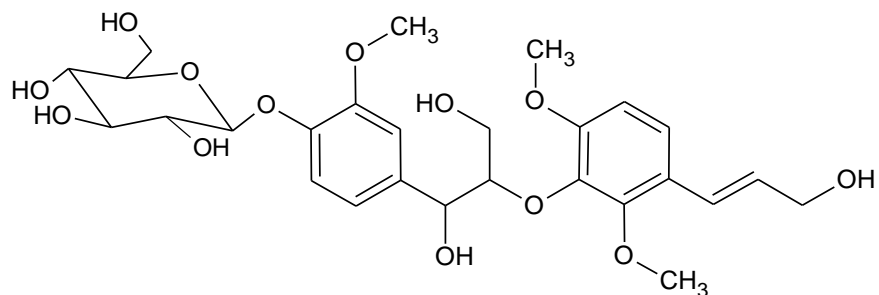
Casca do fruto [2]



Citrusin A

<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2],[73]
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. natsudaidai</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. iyo</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]

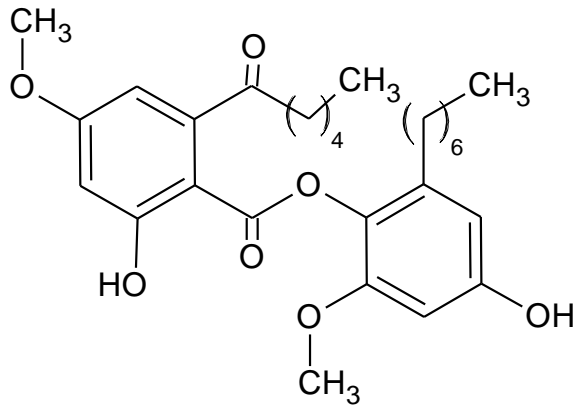
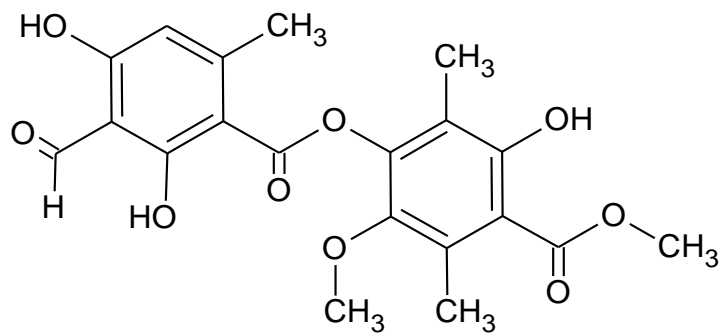
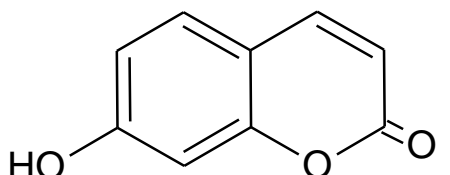
$C_{26}H_{34}O_{12}$ 538,5409

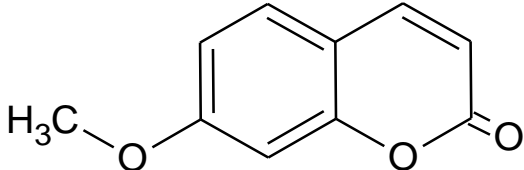
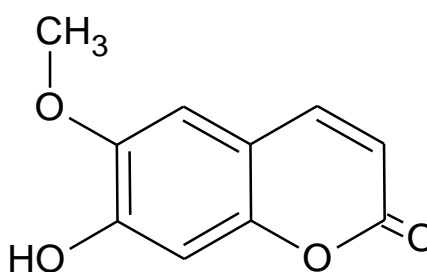
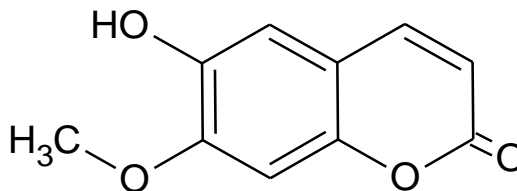
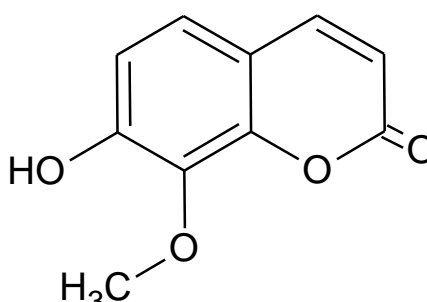


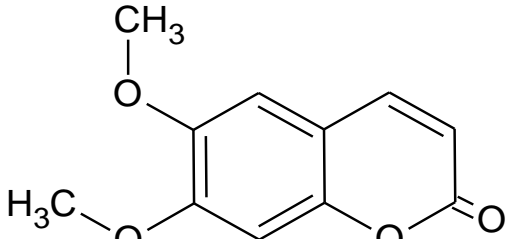
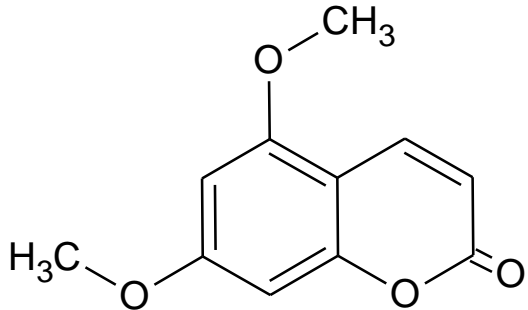
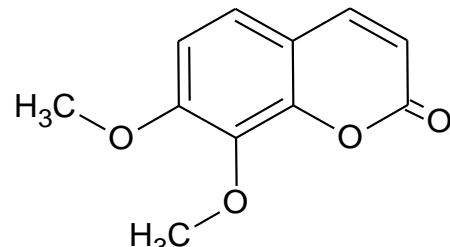
Citrusin B

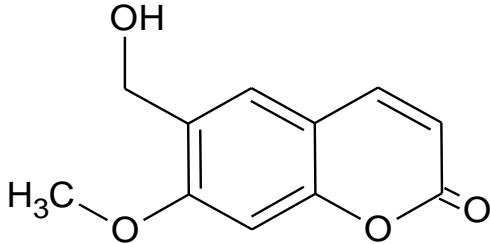
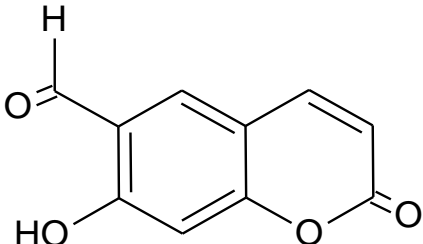
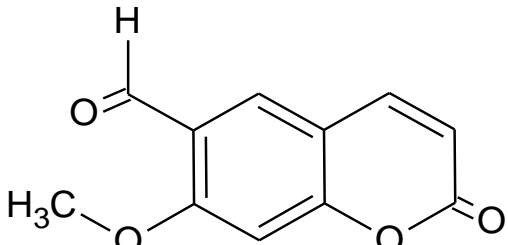
<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2],[73]
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. natsudaidai</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. iyo</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]

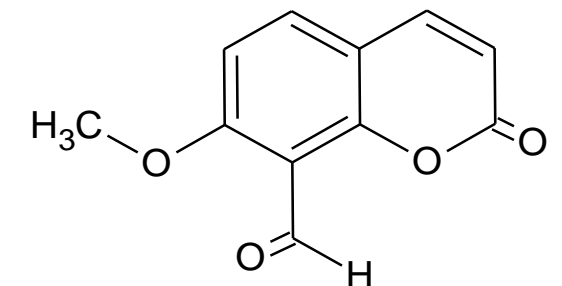
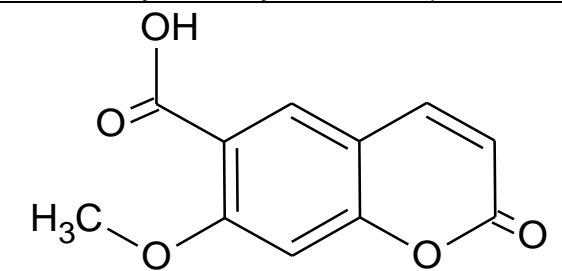
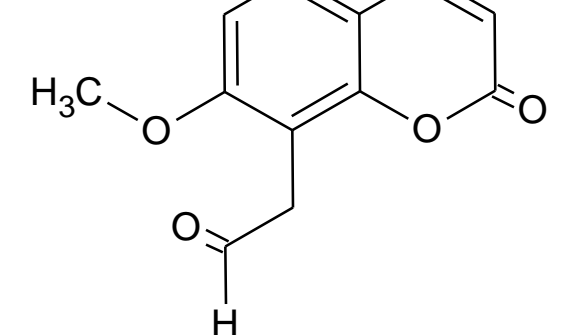
$C_{27}H_{36}O_{13}$ 568,5669

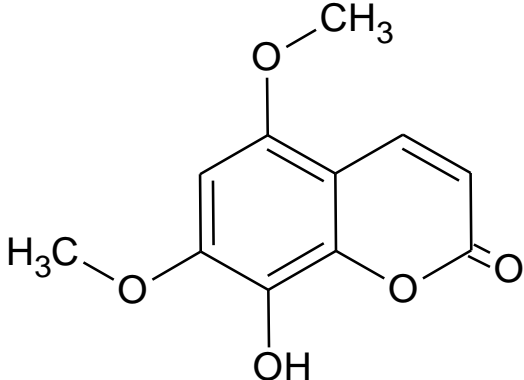
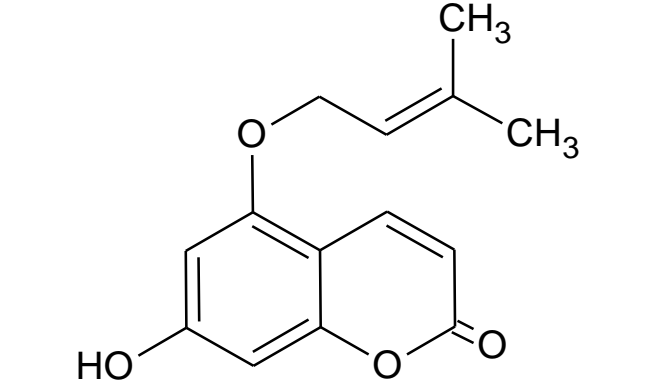
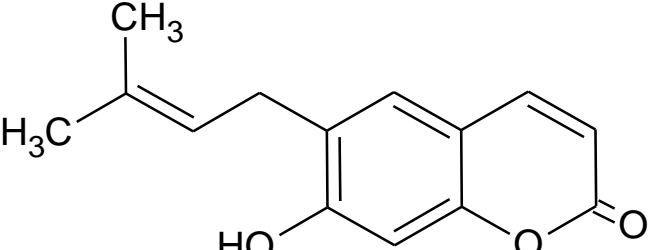
 <p style="text-align: center;">Depcitrus A</p>	<i>C. reticulata</i>	Casca do galho [21]	$C_{28}H_{38}O_7$	486,5971
 <p style="text-align: center;">Atronorin</p>	<i>C. reticulata</i>	Casca do galho [21]	$C_{20}H_{20}O_9$	404,3674
Cumarinas				
 <p style="text-align: center;">Umbelliferone</p>	<i>C. limon</i> <i>C. paradisi</i> <i>C. bergamia</i> <i>C. grandis</i> <i>C. nobilis</i> <i>C. hystrix</i> <i>C. paradisi x</i> <i>C. tangerina</i>	Casca do fruto [75] Casca do fruto [75] Casca do fruto [75] Casca da raíz [64],[76] e tronco [77] Casca da raíz [4] Raíz [35] Raíz [66]	$C_9H_6O_3$	162,1421

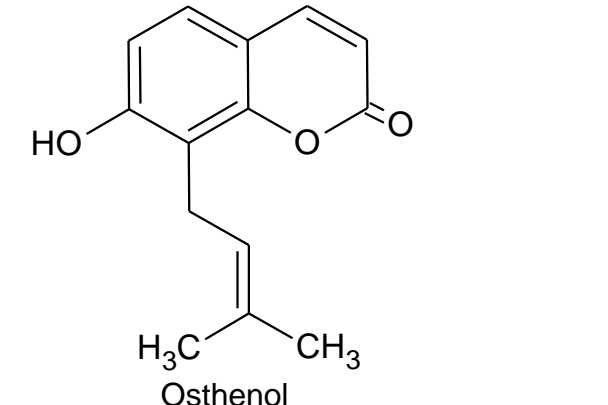
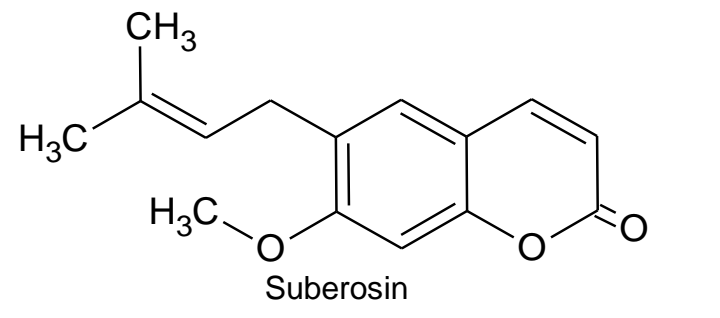
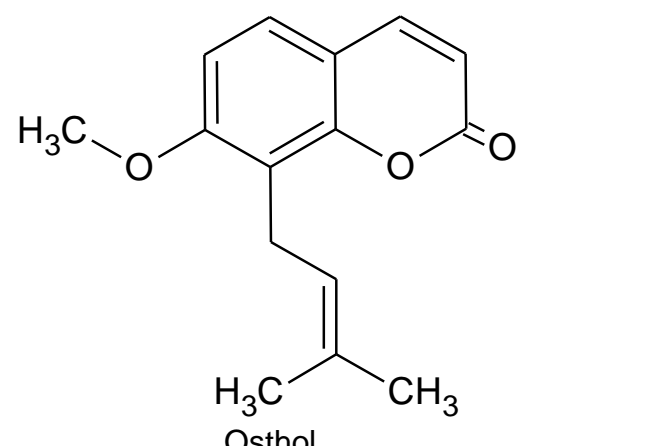
 <p>7-Methoxycoumarin (Herniarin)</p>	<p><i>C. medica</i> <i>C. aurantifolia</i></p>	<p>Casca do caule [12] Óleo essencial [78]</p>	<p>$C_{10}H_8O_3$</p>	<p>176,1687</p>
 <p>Scopoletin</p>	<p><i>C. paradisi x C. tangerina</i> <i>C. hystrix</i> <i>C. grandis</i> <i>C. limonia</i> <i>C. kinokuni</i> <i>C. reticulata</i></p>	<p>Raíz [66] Raíz [35] Casca da raíz [76] e tronco [77] Raíz [9] Raíz [15] Casca do galho [21]</p>	<p>$C_{10}H_8O_4$</p>	<p>192,1681</p>
 <p>Isoscopoletin</p>	<p><i>C. limonia</i> <i>C. paradisis x C. tangerina</i></p>	<p>Raíz [9] Raíz [66]</p>	<p>$C_{10}H_8O_4$</p>	<p>192,1681</p>
 <p>Hydrangetin</p>	<p><i>C. paradisis x C. tangerina</i></p>	<p>Raíz [66]</p>	<p>$C_{10}H_8O_4$</p>	<p>192,1681</p>

 <p>Scoparone</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i> <i>C. kinokuni</i> <i>C. hystrix</i> <i>C. medica</i> (<i>C. tamurana</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. tamurana</i>	Raíz [66] Raíz [15] Raíz [35] Casca do caule [12] Raíz [79]	$C_{11}H_{10}O_4$	206,1947
 <p>5,7-Dimethoxycoumarin (Limettin, Citropten)</p>	<i>C. limon</i> <i>C. clementina</i> <i>C. bergamia</i> <i>C. sinensis</i> <i>C. grandis</i> <i>C. paradisi</i> <i>C. aurantifolia</i> <i>C. medica</i>	Casca do fruto [75] e óleo essencial [80],[78] Casca do fruto [75] Casca do fruto [75] e óleo essencial [78] Casca do fruto [75] Casca do fruto [75] Casca do fruto [75] Frutos [81] óleo essencial [78] Casca do caule [12]	$C_{11}H_{10}O_4$	206,1947
 <p>7,8-Dimethoxycoumarin</p>	<i>C. medica</i>	Casca do caule [12]	$C_{11}H_{10}O_4$	206,1947

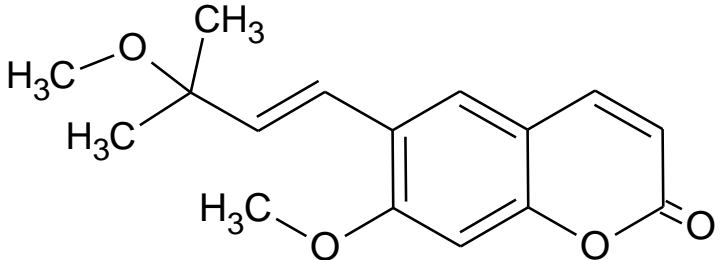
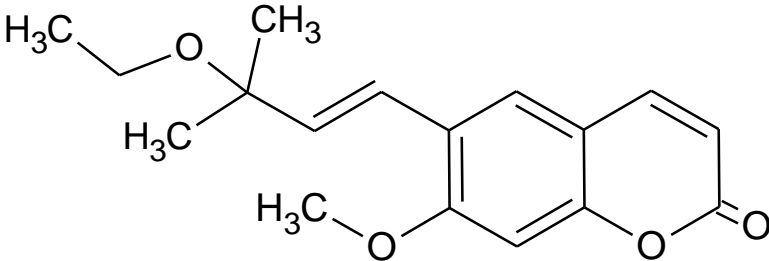
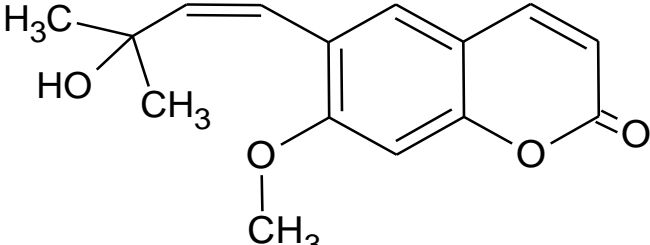
 <p>6-Hydroxymethylherniarin</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39]	$C_{11}H_{10}O_4$	206,1947
 <p>6-Formylumbelliferone</p>	<i>C. paradisica</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{10}H_6O_4$	190,1522
 <p>Crenulatin (Angelical)</p>	<i>C. sinensis</i> <i>C. grandis</i> <i>C. hystrix</i> <i>C. nobilis</i> <i>C. limonia</i> <i>C. paradisica</i> x <i>C. tangerina</i> <i>C. reticulata</i>	Casca da raíz [5] Casca da raíz [64] e casca do tronco [77] Raíz [35] Casca da raíz [4] Raíz e caule [9] Raíz [66] Folha [21]	$C_{11}H_8O_4$	204,1788

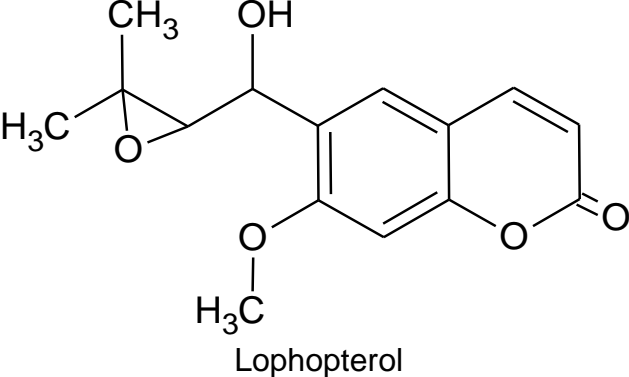
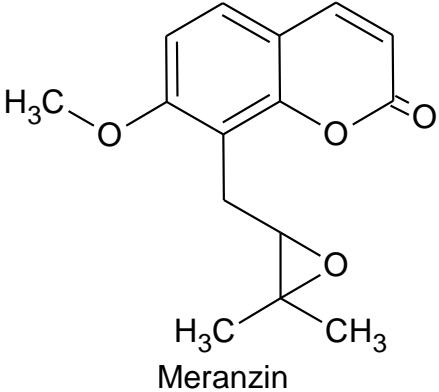
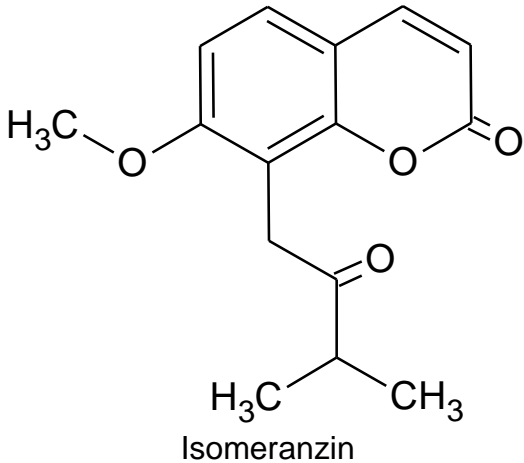
 <p>7-methoxy-8-formylcoumarin (Paniculal)</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerine</i>	Raíz [66]	$C_{11}H_8O_4$	204,1788
	<i>(C. tamurana</i> x <i>C. sinensis)</i> x <i>C. tamurana</i>	Raíz [79]		
 <p>Buntansin A</p>	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]	$C_{11}H_8O_5$	220,1782
	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]		
	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39], [77]		
 <p>Kiyomal</p>	<i>(C. unshiu</i> x <i>C. sinensis)</i> x <i>C. iyo</i>	Raíz [83]	$C_{12}H_{10}O_4$	218,2054

 <p>Leptodactylone</p>	<i>C. medica</i>	Casca do caule [12]	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	222,1941
 <p>5-(2-Enyl-3-methylbut)oxy-7-hydroxycoumarin</p>	<i>C. reticulata</i>	Folha [21]	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	246,2585
 <p>7-Demethoxysuberosin</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	230,2591
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. medica</i>	Casca da raíz [12]		

 <p>Osthenol</p>	<p><i>C. hystrix</i> Raíz [35]</p> <p><i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i> Raíz [66]</p> <p>(<i>C. tamurana</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. tamurana</i> Raíz [79]</p> <p><i>C. medica</i> Casca da raíz [12]</p>	<p>$C_{14}H_{14}O_3$ 230,2591</p>
 <p>Suberosin</p>	<p><i>C. grandis</i> Casca da raíz [64]</p> <p><i>C. sinensis</i> Casca da raíz [5]</p> <p><i>C. depressa</i> Casca da raíz [84]</p> <p><i>C. nobilis</i> Casca da raíz [4]</p> <p><i>C. hystrix</i> Raíz [35]</p> <p><i>C. limonia</i> Raíz e caule [9]</p> <p>(<i>C. tamurana</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. tamurana</i> Raíz [79]</p>	<p>$C_{15}H_{16}O_3$ 244,2857</p>
 <p>Osthol</p>	<p><i>C. grandis</i> Casca da raíz [64]; pericarpo [34] e casca do fruto [75]</p> <p><i>C. sinensis</i> Casca do fruto [75]</p> <p><i>C. limon</i> Casca do fruto [75]</p> <p><i>C. paradisi</i> Casca do fruto [75]</p> <p><i>C. bergamia</i> Casca do fruto [75]</p>	<p>$C_{15}H_{16}O_3$ 244,2857</p>

	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
Cedrelopsin				
	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [64] e casca do tronco [77]	$C_{15}H_{14}O_3$	242,2698
Citrubuntin				
	<i>(C. tamurana x C. sinensis) x C. tamurana C. paradisi x C. tangerina C. sinensis C. limonia C. nobilis</i>	Raíz [79]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
(E)-Suberenol		Raíz [66]		
Casca da raíz [5]				
Raíz [9]				
Casca da raíz [4]				

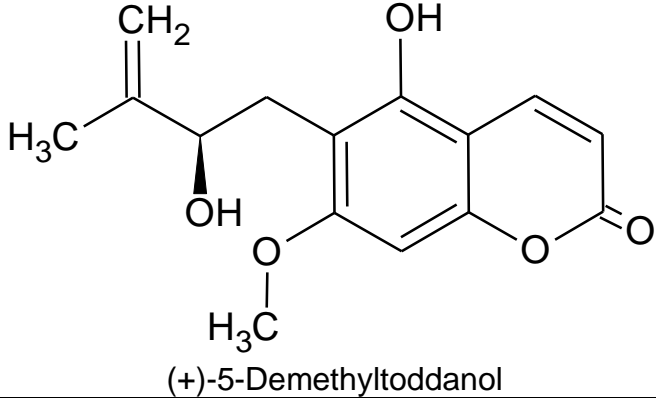
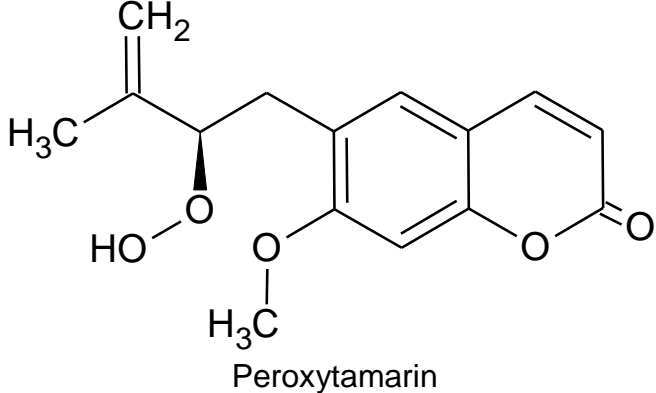
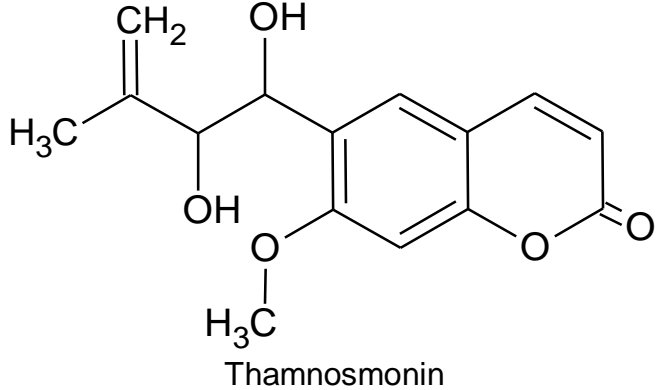
 <p>(E)-Methylsuberenol</p>	<p>(<i>C. tamurana</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. tamurana</i></p>	<p>Raíz [79]</p>	<p>C₁₆H₁₈O₄</p>	<p>274,3117</p>
 <p>(E)-Ethylsuberenol</p>	<p><i>C. sinensis</i></p>	<p>Casca da raíz [5]</p>	<p>C₁₇H₂₀O₄</p>	<p>288,3383</p>
 <p>(Z)-Suberesol</p>	<p><i>C. limonia</i></p>	<p>Raíz [9]</p>	<p>C₁₅H₁₆O₄</p>	<p>260,2851</p>

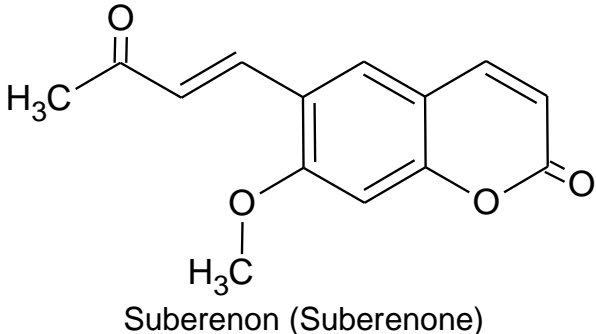
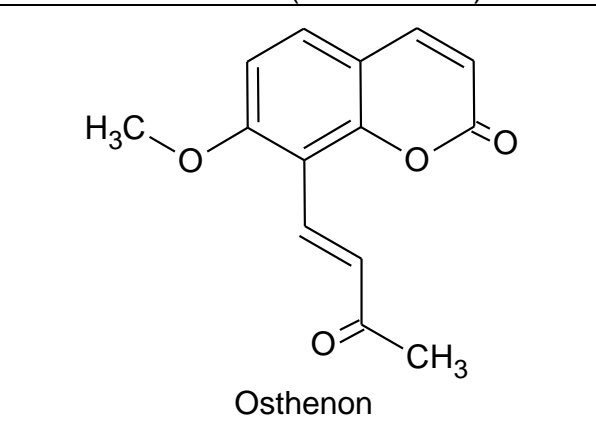
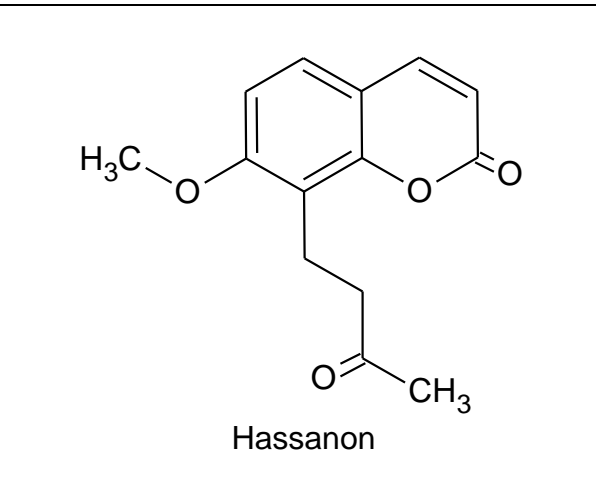
 <p>Lophopterol</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{15}H_{16}O_5$	276,2845
 <p>Meranzin</p>	<i>C. aurantium</i>	Óleo essencial [78] e flavedo [85]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [78],[86] e flavedo [85]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [87] e flavedo [85]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
 <p>Isomeranzin</p>	<i>C. aurantium</i>	Óleo essencial [78]; casca do fruto [88] e flavedo [85]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [78] e flavedo [85]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
	<i>C. grandis</i>	Pericarpo [34] e flavedo [85]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851

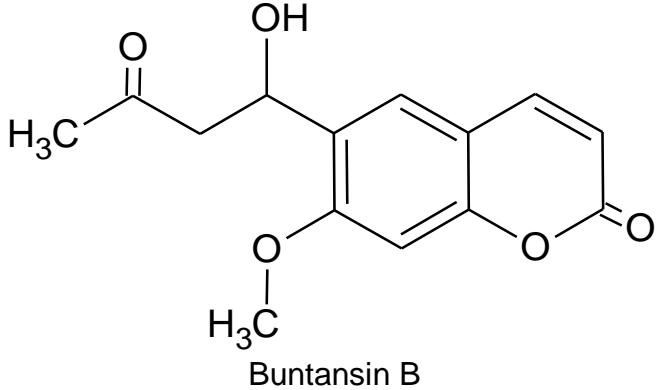
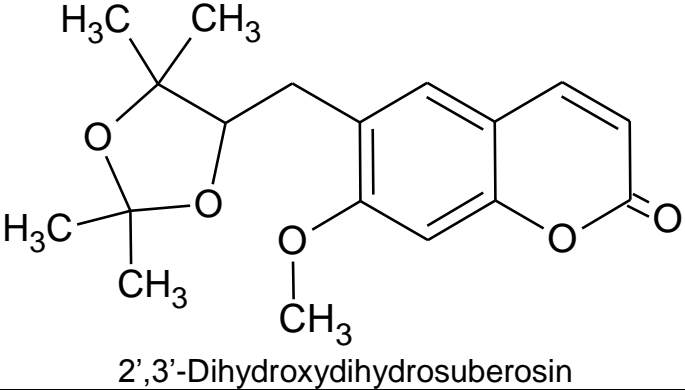
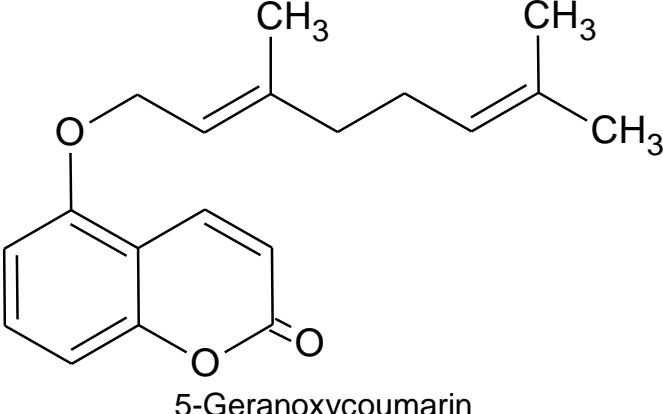
<p>5-Hydroxyisomeranzin</p>	<i>C. grandis</i>	Pericarpo [34]	$C_{15}H_{16}O_5$	276,2845
<p>(+)-Hopeyhopin</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{15}H_{14}O_4$	274,2686
<p>Ulopterol</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39],[77]	$C_{15}H_{18}O_5$	278,3004

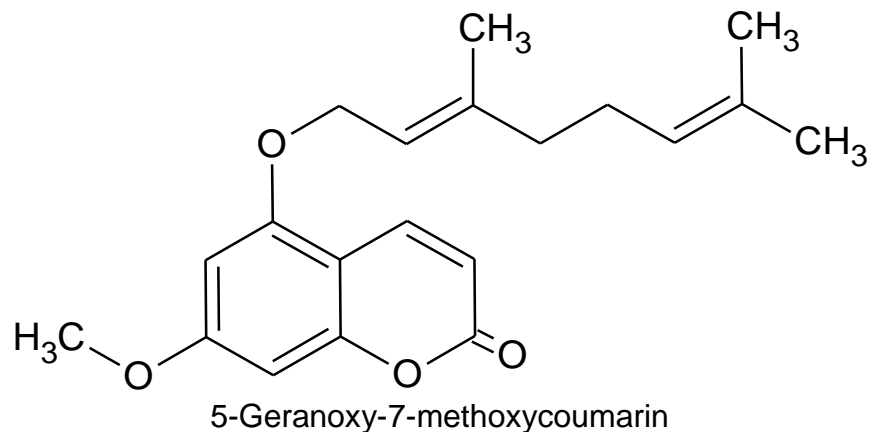
	<i>C. paradisi</i> <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{16}H_{18}O_4$	274,3117
Casegravol				
	<i>C. sulcata</i>	Raíz [89]	$C_{16}H_{18}O_4$	274,3117
<i>cis</i> -Casegravol				
	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [88] e flavedo [85]		
Meranzin hydrate	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [86] e flavedo [85]	$C_{15}H_{18}O_5$	278,3004
	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [87] e flavedo [85]		

<p>The structure shows a coumarin core with a methoxy group at the 3-position and a side chain at the 4-position. The side chain consists of a CH₂ group attached to a CH group with a methyl group (H₃C) and a hydroxyl group (OH) on the same carbon. This is followed by another CH group with a hydroxyl group (OH) on the same carbon, and finally a CH group with a hydroxyl group (OH) and a methyl group (CH₃).</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39]	$C_{15}H_{18}O_6$	294,2999
Buntansin C (Citrusol)	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]		
<p>The structure shows a coumarin core with a hydroxyl group (HO) at the 7-position and a side chain at the 8-position. The side chain is a 2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl group, consisting of a CH₂ group attached to a CH group with a hydroxyl group (OH) and a methyl group (H₃C), which is further attached to a CH₂ group.</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{14}H_{14}O_4$	246,2585
7-Hydroxy-8-(2'-hydroxy-3'-methyl-but-3'-enyl) coumarin				
<p>The structure shows a coumarin core with a methoxy group (H₃C-O) at the 3-position and a side chain at the 4-position. The side chain consists of a CH₂ group attached to a CH group with a hydroxyl group (OH) and a methyl group (H₃C) on the same carbon. This is followed by a CH₂ group, and finally a CH group with a methyl group (H₃C) and a double bond to a CH₂ group.</p>	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]		
Tamarin	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{15}H_{16}O_4$	260,2851
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		

 <p>(+)-5-Demethyltoddanol</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [77]	$C_{15}H_{16}O_5$	276,2845
 <p>Peroxytamarin</p>	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]	$C_{15}H_{16}O_5$	276,2845
 <p>Thamnosmonin</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39]	$C_{15}H_{16}O_5$	276,2845

 <p>Suberenon (Suberenone)</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{14}H_{12}O_4$	244,2426
 <p>Osthenon</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{14}H_{12}O_4$	244,2426
 <p>Hassanon</p>	(<i>C. tamurana</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. tamurana</i>	Raíz [79]	$C_{14}H_{14}O_4$	246,2585
	<i>C. hassaku</i> x <i>C. grandis</i>	Raíz e casca da raíz [82]	$C_{14}H_{14}O_4$	246,2585

 <p>Buntansin B</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39]	$C_{14}H_{14}O_5$	262,2579
 <p>2',3'-Dihydroxydihydrosuberisin</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [39]	$C_{18}H_{22}O_5$	318,3642
 <p>5-Geranoxycoumarin</p>	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [67]	$C_{19}H_{22}O_3$	298,3761



C. bergamia

Óleo essencial [78] e casca do fruto [75]

C. limon

Óleo essencial [78],[80] e casca do fruto [75]

$C_{20}H_{24}O_4$

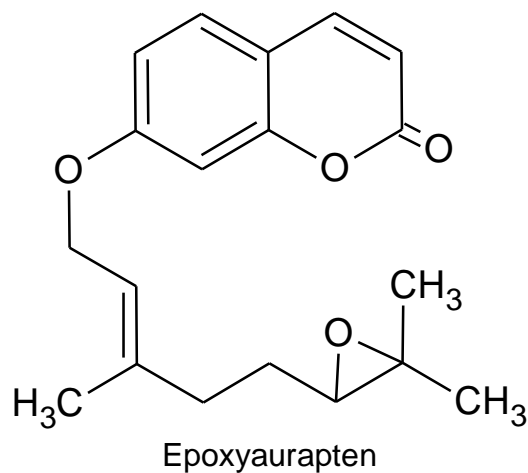
328,4021

C. paradisi

Casca do fruto [75]

C. aurantifolia

Óleo essencial [78] e fruto [81]



C. paradisi

Óleo essencial [86] e casca do fruto [75]

C. bergamia

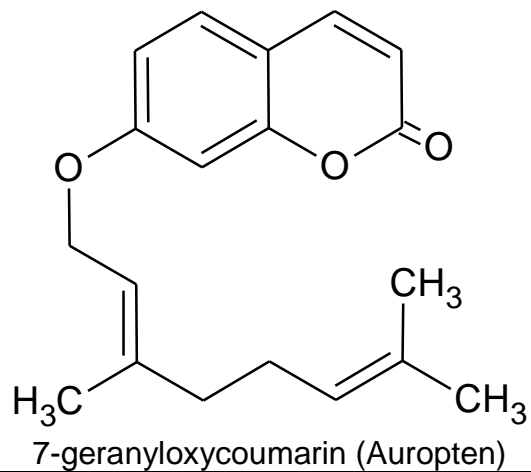
Casca do fruto [75]

$C_{19}H_{22}O_4$

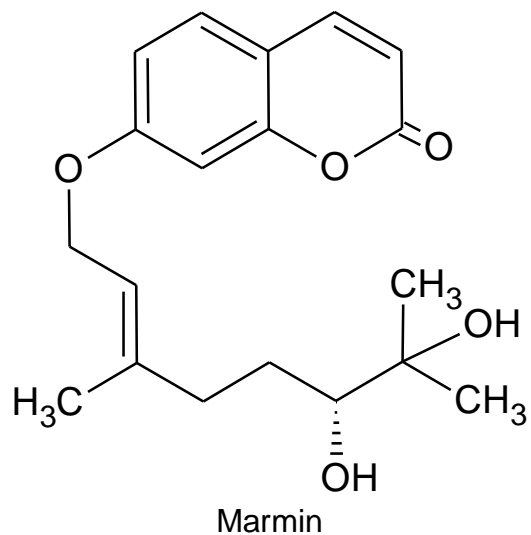
314,3755

C. grandis

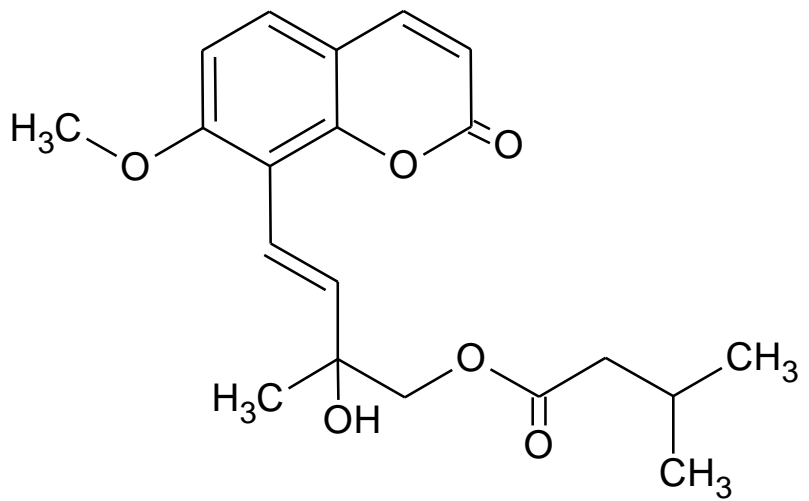
Casca do fruto [75]



<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [78],[91],[86] e casca do fruto [75]		
<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [67] e folha [21]		
<i>C. limon</i>	Casca do fruto [75]	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	298,3761
<i>C. clementina</i>	Casca do fruto [75]		
<i>C. bergamia</i>	Casca do fruto [75]		
<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [75]		



<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [91]	C ₁₉ H ₂₄ O ₅	332,3908
--------------------	---------------------	--	----------



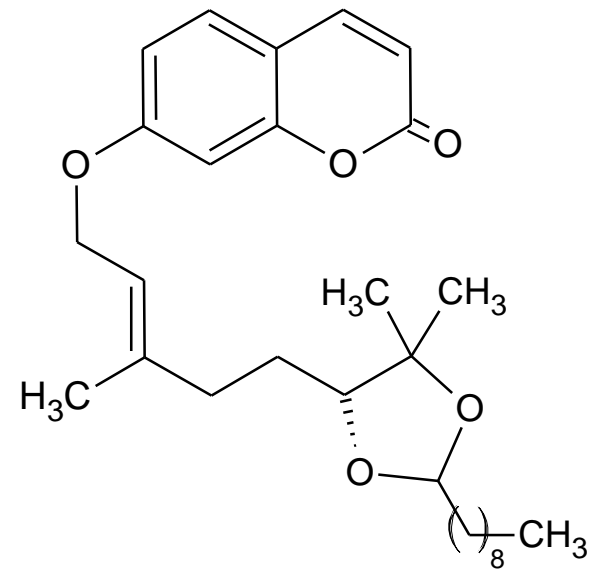
Casegravol isovalerate

(*C. unshiu* x *C. sinensis*) x *C. iyo*

Raíz [83]

$C_{20}H_{24}O_6$

360,4009



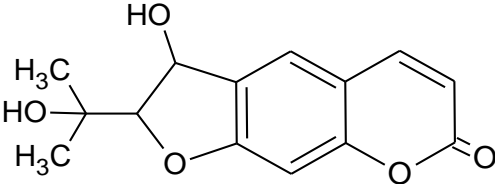
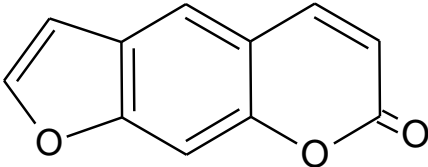
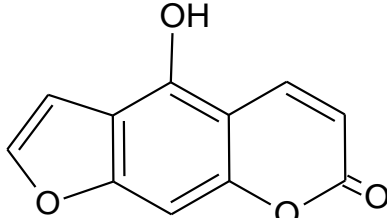
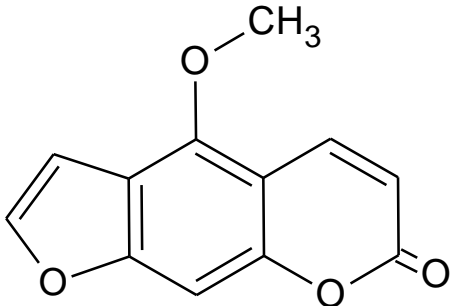
6',7'-Marmin decanal acetate

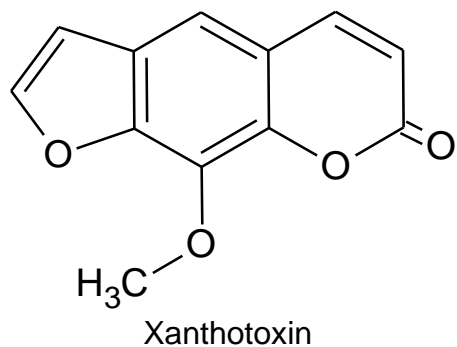
C. paradisi

Óleo essencial [91]

$C_{29}H_{42}O_5$

470,6407

 <p>Xanthoarnol</p>	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]	$C_{14}H_{14}O_5$	262,2579				
 <p>Psoralen</p>	<i>C. bergamia</i>	Casca do fruto[75]	$C_{11}H_6O_3$	186,1635				
 <p>Bergaptol</p>	<i>C. limon</i>	Óleo essencial [80]	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [86]	$C_{11}H_6O_4$	202,1629		
 <p>Bergapten</p>	<i>C. aurantium</i>	Óleo essencial [78]	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [78] e casca do fruto [75]	<i>C. aurantifolia</i>	Óleo essencial [78]	$C_{12}H_8O_4$	216,1895
	<i>C. bergamia</i>	Óleo essencial [78] e casca do fruto [75]	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [75]	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [75]		
	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [75]	<i>C. clementina</i>	Casca do fruto [75]				

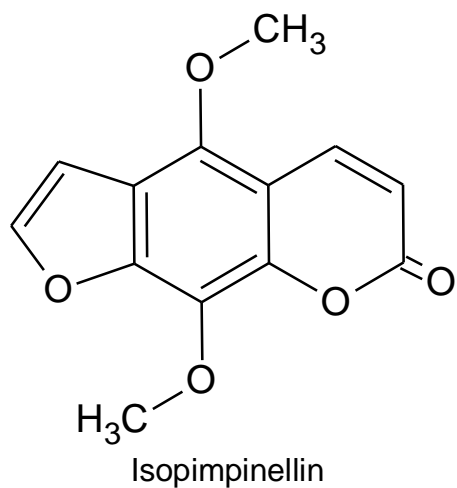


C. reticulata

Casca do fruto [67]

$C_{12}H_8O_4$

216,1895



C. limon

Casca do fruto [75]
e óleo essencial
[80]

C. aurantifolia

Fruto [81] e óleo
essencial [78]

C. grandis

Casca do fruto [75]

$C_{13}H_{10}O_5$

246,2155

C. bergamia

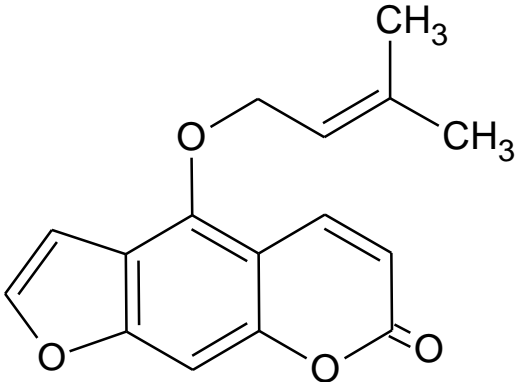
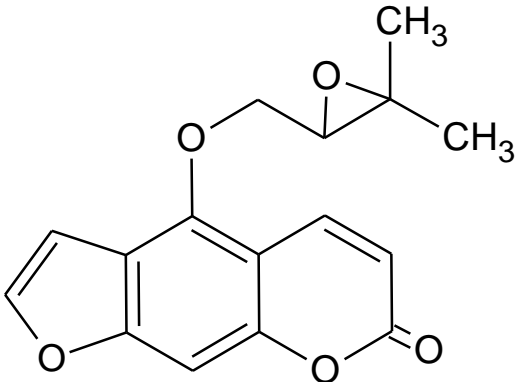
Casca do fruto [75]

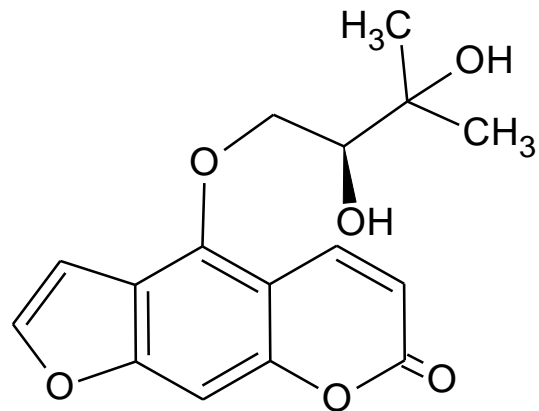
C. paradisi

Casca do fruto [75]

C. clementina

Casca do fruto [75]

 <p>Isoumoeratorin</p>	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [75] e óleo essencial [78], [80]		
	<i>C. hystrix</i>	Casca do fruto e raíz [35]	$C_{16}H_{14}O_4$	270,2799
	<i>C. aurantifolia</i>	Fruto [81] e óleo essencial [78]		
 <p>Oxypeucedanin</p>	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [75]		
	<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [75]		
	<i>C. clementina</i>	Casca do fruto [75]		
	<i>C. bergamia</i>	Casca do fruto [75]	$C_{16}H_{14}O_5$	286,2793
	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [75] e óleo essencial [80],[78]		
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [75]		
	<i>C. hystrix</i>	Casca do fruto [6]		
<i>C. aurantifolia</i>	Óleo essencial [80]			



(R)-(+)-Oxyoeucedanin hydrate

C. limon

Óleo essencial [78],[80] e casca do fruto [75]

C. hystrix

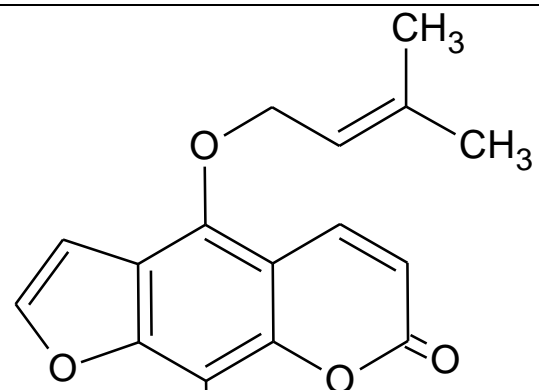
Raíz [35] e casca do fruto [6]

$C_{16}H_{16}O_6$

304,2946

C. aurantifolia

Óleo essencial [78]



Cnidicin

C. limon

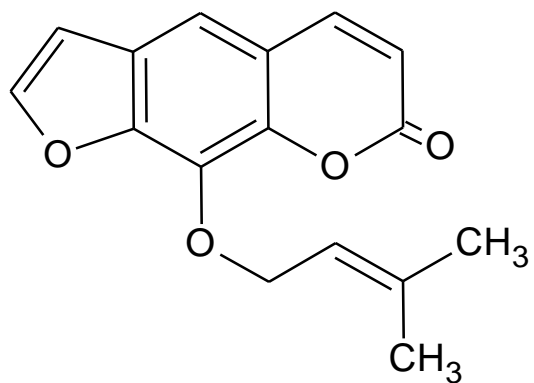
Óleo essencial [78]

$C_{21}H_{22}O_5$

354,3963

C. aurantifolia

Óleo essencial [78]



Imperatorin

C. aurantifolia

Fruto [81] e óleo essencial [78]

C. limon

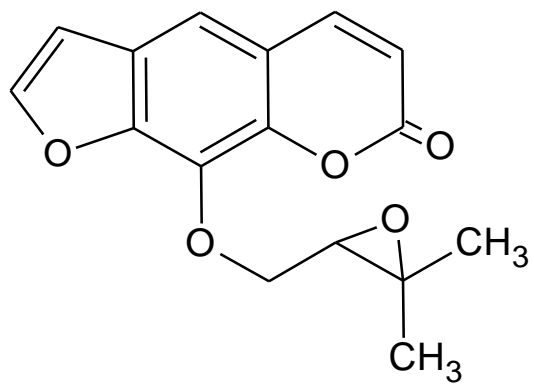
Óleo essencial [78], [80]

$C_{16}H_{14}O_4$

270,2799

C. grandis

Casca do fruto [87]



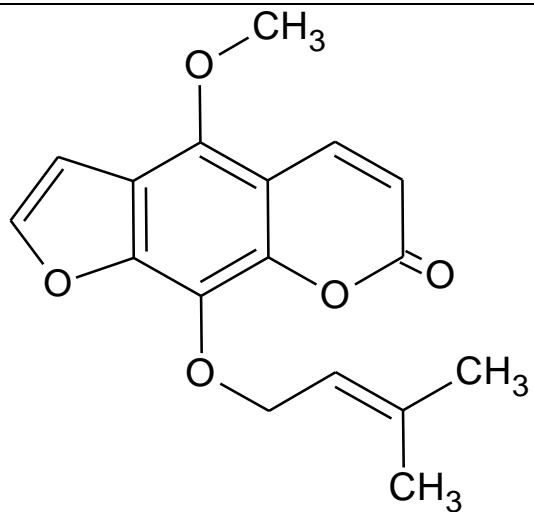
Heraclenin

C. limon

Óleo essencial [80] e casca do fruto [75]

$C_{16}H_{14}O_5$

286,2793



Phellopterin

C. limon

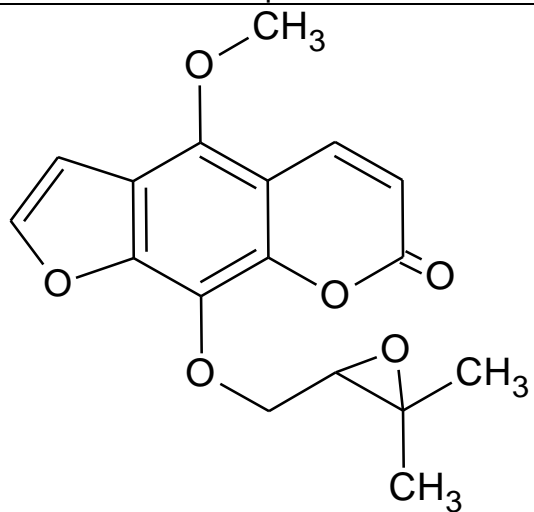
Casca do fruto [75]

$C_{17}H_{16}O_5$

300,3059

C. aurantifolia

Fruto [81]



Byakangelicol

C. limon

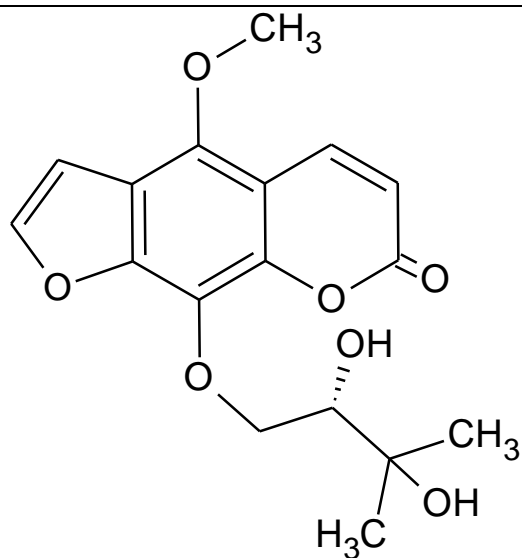
Óleo essencial [78],[80] e casca do fruto [75]

$C_{17}H_{16}O_5$

316,3053

C. aurantifolia

Óleo essencial [78]



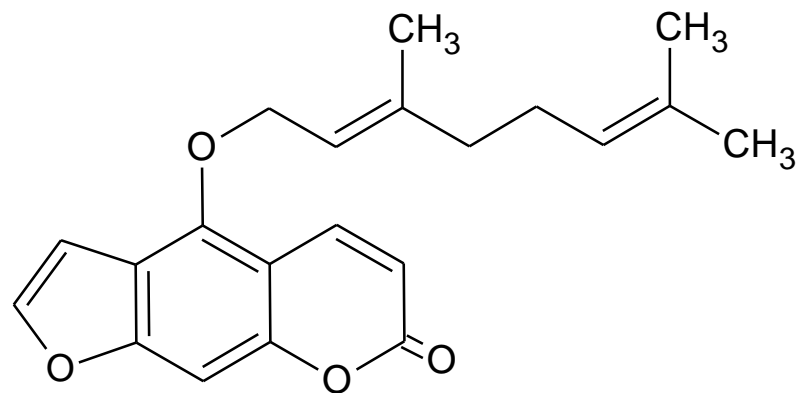
Byakangelicin

C. limon

Óleo essencial
[78],[80]

$C_{17}H_{18}O_7$

334,3206



Bergamottin

C. limon

Óleo essencial
[78],[80] e casca
do fruto [75]

C. aurantifolia

Óleo essencial
[78] e frutos [81]

C. bergamia

Óleo essencial
[78] e casca do
fruto [75]

C. paradisi

Óleo essencial
[78],[86],[91];
casca do fruto [75]
e suco [92]

C. grandis

Casca do fruto [75]

C. clementina

Casca do fruto [75]

C. macroptera

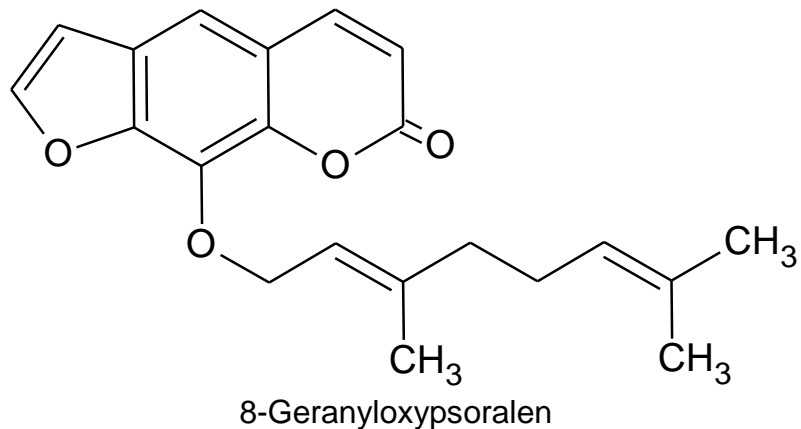
Frutos [93]

C. hystrix

Casca do fruto [6]

$C_{21}H_{22}O_4$

338,3969



C. aurantifolia

Fruto [81] e óleo essencial [78]

C. limon

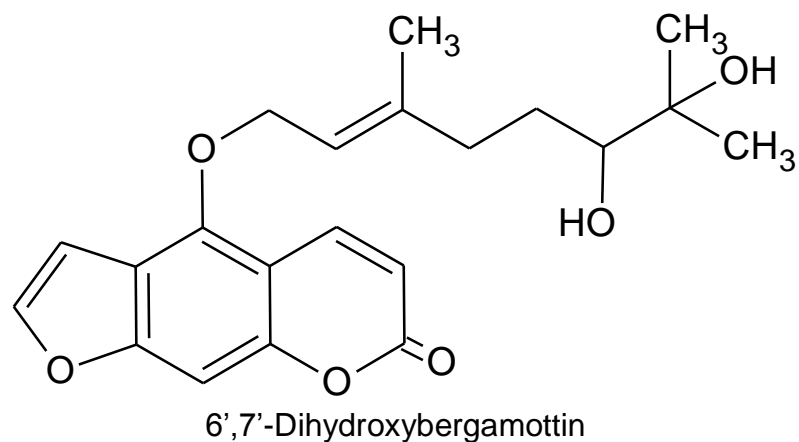
Óleo essencial [78], [80] e casca do fruto [75]

$C_{21}H_{22}O_4$

338,3969

C. grandis

Casca do fruto [75]



C. macroptera

Frutos [93]

C. paradisi

Óleo essencial [86],[91]; casca do fruto [75] e suco [92]

$C_{21}H_{24}O_6$

372,4116

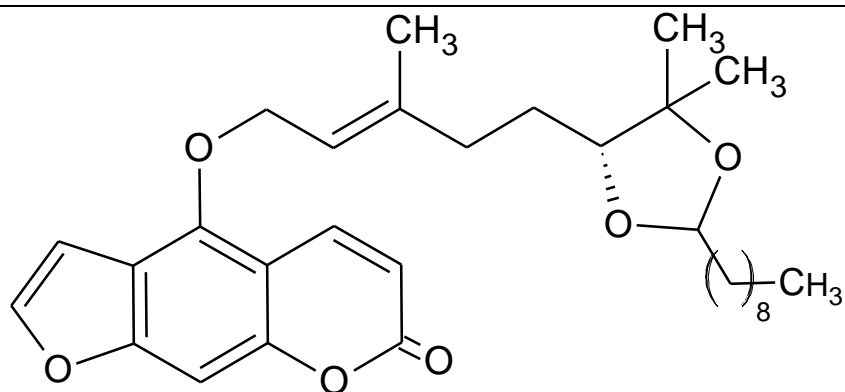
C. grandis

Casca do fruto [75]

C. hystrix

Casca do fruto [6]

	<i>C. hystrix</i>	Casca do fruto [6]	$C_{22}H_{26}O_6$	386,4382
6'-Hydroxy-7'-methoxybergamottin				
	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [78],[86]; suco [92] e casca do fruto [75]		
6',7'-Epoxybergamottin	<i>C. aurantium</i>	Óleo essencial [78]	$C_{21}H_{22}O_5$	354,3963
	<i>C. limon</i>	Óleo essencial [80]		
	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [75]		
	<i>C. paradisi</i>	Óleo essencial [91]	$C_{29}H_{38}O_6$	482,6084
Dihydroxybergamottin octanal acetal	6',7'-			



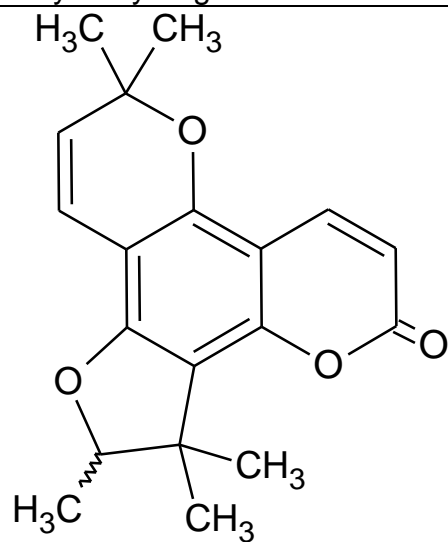
6',7'-Dihydroxybergamottin decanal acetal

C. paradisi

Óleo essencial
[91]

$C_{31}H_{42}O_6$

510,6615



Citrusarin A

C. hassaku

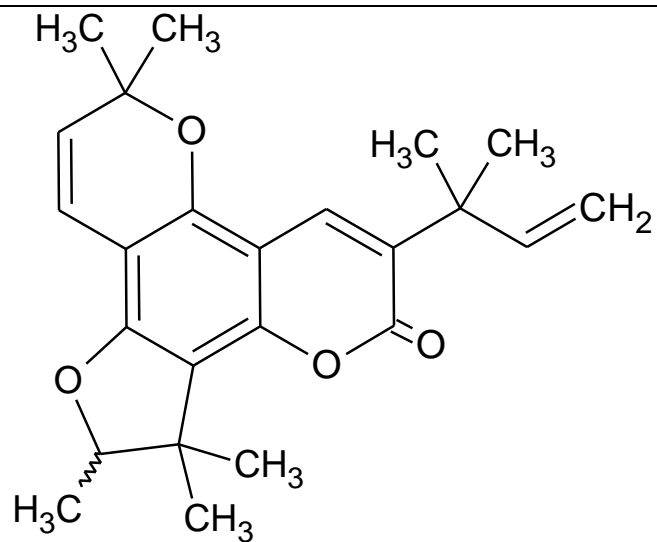
Raíz [89]

$C_{19}H_{20}O_4$

312,3597

C. medica

Casca da raíz [12]



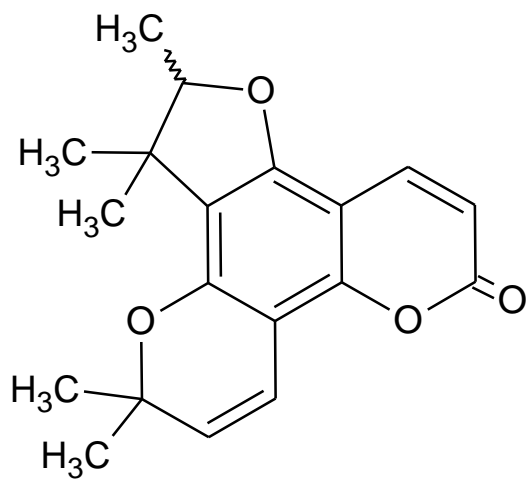
Citrumedin B

C. medica

Casca da raiz [12]

C₂₄H₂₈O₄

380,4767



Citrusarin B

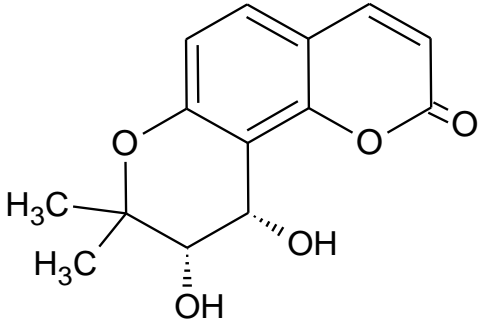
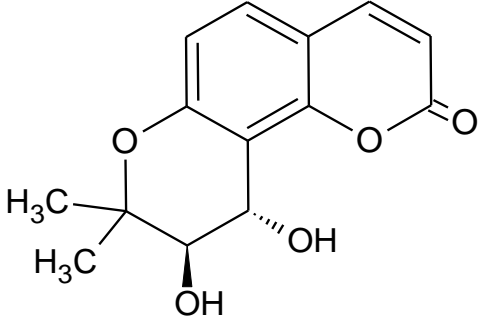
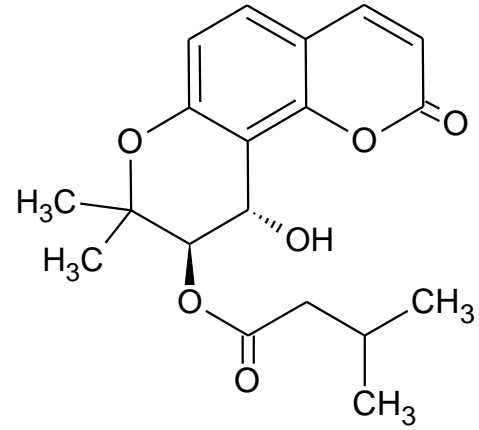
C. hassaku

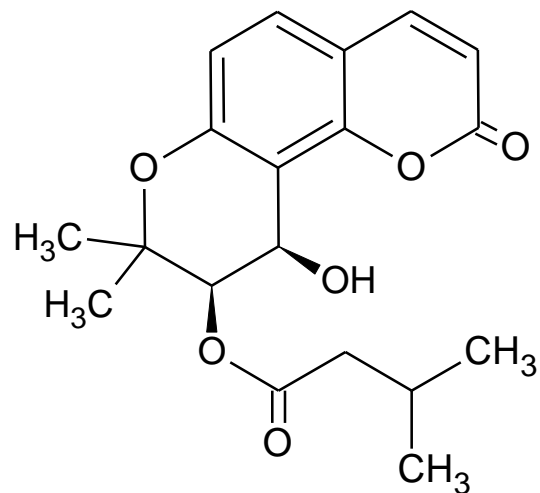
Raiz [89]

C₁₉H₂₀O₄

312,3597

	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]		
Seselin	<i>(C. tamurana</i> x <i>C. sinensis)</i> x <i>C. tamurana</i>	Raíz [79]	$C_{14}H_{12}O_3$	228,2432
	<i>C. limonia</i>	Raíz [35]		
	<i>C. hystrix</i>	Raíz e caule [9]		
	<i>C. hassaku</i>	Raíz [94]	$C_{14}H_{12}O_4$	244,2426
Seselinol				
	<i>C. hassaku</i>	Raíz [94]	$C_{19}H_{20}O_5$	328,3591
Seselinol isovalerate				

 <p data-bbox="495 475 757 507">(-)-cis-Khellactone</p>	<i>C. hystrix</i>	Raíz [9]	$C_{14}H_{14}O_5$	262,2579
 <p data-bbox="495 858 757 890">trans-Khellactone</p>	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]	$C_{14}H_{14}O_5$	262,2579
 <p data-bbox="539 1366 712 1398">Juniosmarin</p>	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]	$C_{19}H_{22}O_6$	346,3743
	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]		
	<i>(C. tamurana x C. sinensis) x C. tamurana</i>	Raíz [79]		



Hystrixarin

C. hystrix

Raíz [9]

$C_{19}H_{22}O_6$

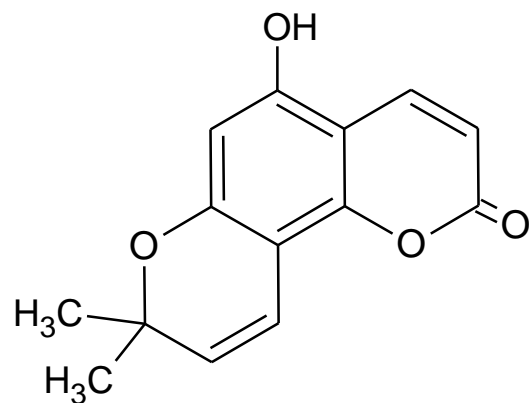
346,3743

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

Raíz [79]



5-Hydroxuseselin

C. hystrix

Raíz [9]

$C_{14}H_{12}O_4$

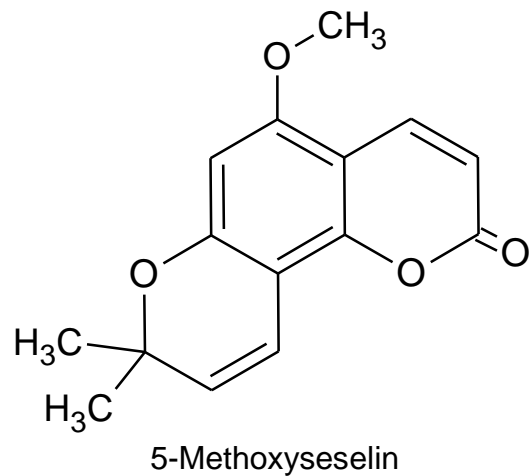
244,2426

C. natsudaïdai

Raíz e casca da
raíz [82]

C. tamurana x
C. kinokuni

Raíz e casca da
raíz [82]



C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

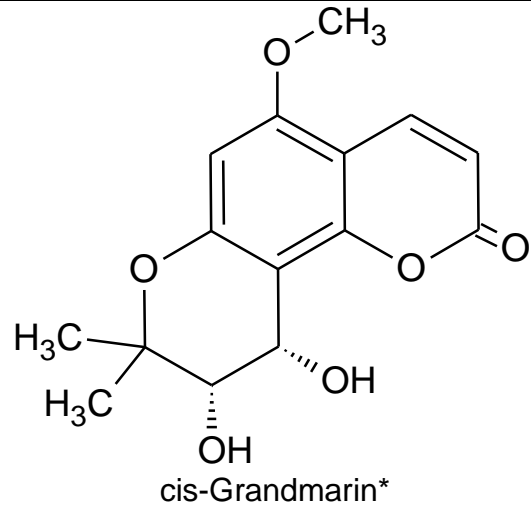
Raíz [79]

$C_{15}H_{14}O_4$

258,2692

C. grandis

Casca da raíz
[65],[76] e casca
do tronco [77]



C. paradisi x
C. tangerina

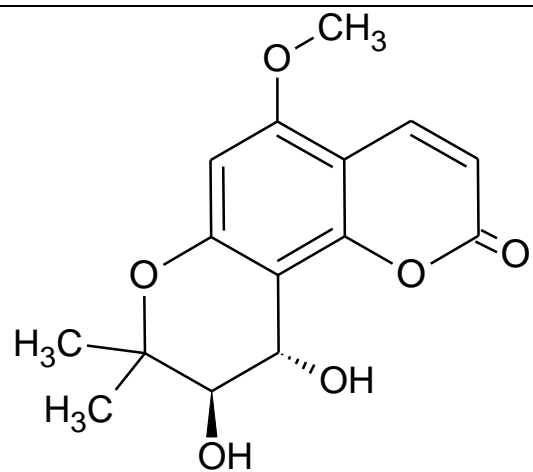
Raíz [66]

C. hassaku x
C. grandis

Raíz e casca da
raíz [82]

$C_{15}H_{16}O_6$

292,2839



trans-Grandmarin*

C. paradisi x
C. tangerina

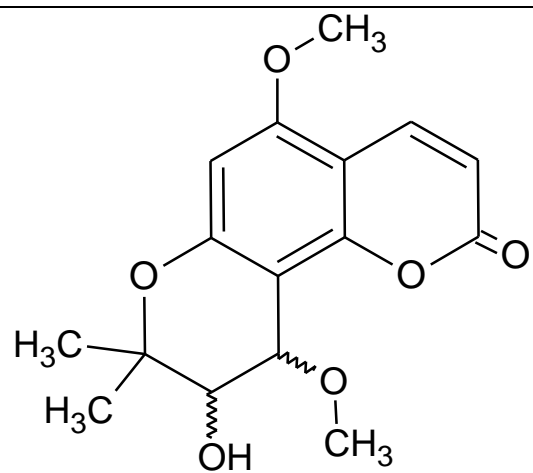
Raíz [66]

C₁₅H₁₆O₆

292,2839

C. tamurana x
C. hinokuni

Raíz [71]



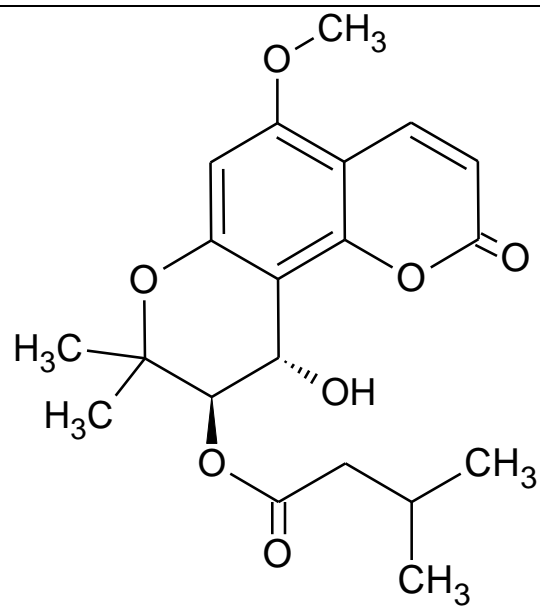
5-Methylgrandmarin

(*C. unshiu* x *C.*
sinensis) x *C.*
iyu

Raíz [83]

C₁₆H₁₈O₆

306,3105



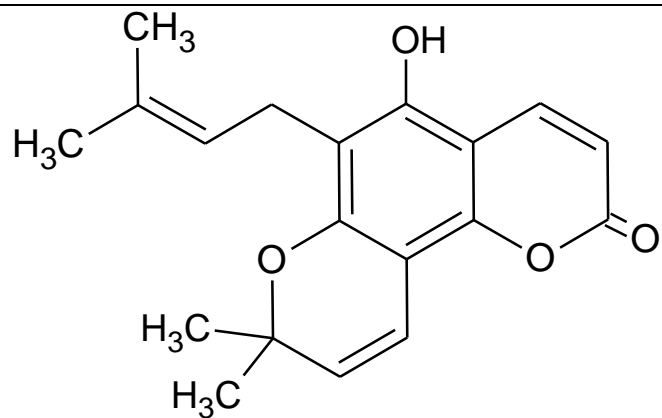
trans-Grandmarin isovalerate*

C. hassaku x
C. grandis

Raíz e casca da
raíz [82]

C₂₀H₂₄O₇

376,4003



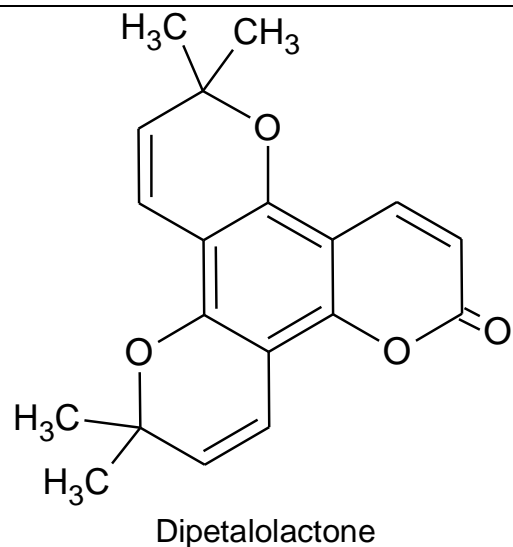
Honyudisin

C. grandis

Casca da raíz [76]

C₁₉H₂₀O₄

321,3597

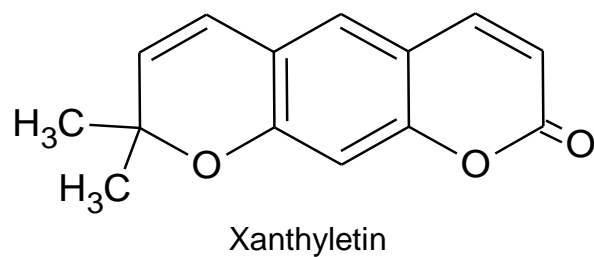


C. hystrix

Raíz [9]

$C_{19}H_{18}O_4$

310,3438



C. paradisi x
C. tangerine
(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

Raíz [66]

Raíz [79]

C. limonia

Raíz e caule [9]

C. depressa

Casca da raíz [84]

C. sinensis

Folhas [9] e Raíz [5]

C. sinensis x
Poncirus trifoliata

Raíz [7]

$C_{14}H_{12}O_3$

228,2432

C. decumana

Raíz [95]

C. nobilis

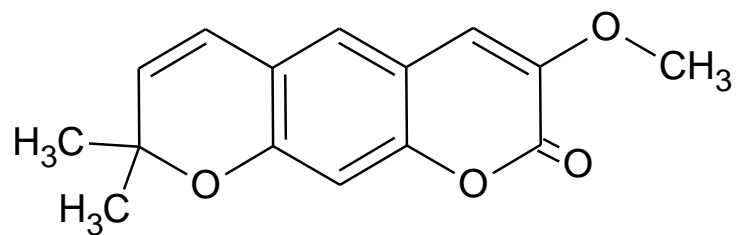
Casca da raíz [4]

C. medica

Casca do caule [12]

C. grandis

Casca do tronco [77] e casca da raíz [76],[65]



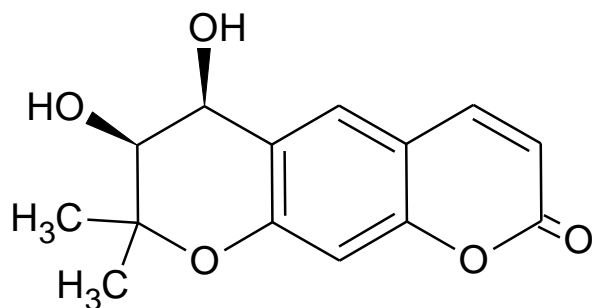
Luvanetin

C. paradisi x
C. tangerine

Raíz [66]

$C_{15}H_{14}O_4$

258,2692



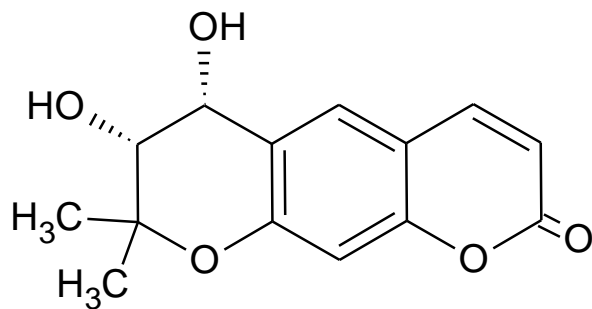
cis-Isokhellactone

C. grandis

Casca do tronco
[39]

$C_{14}H_{14}O_5$

262,2579



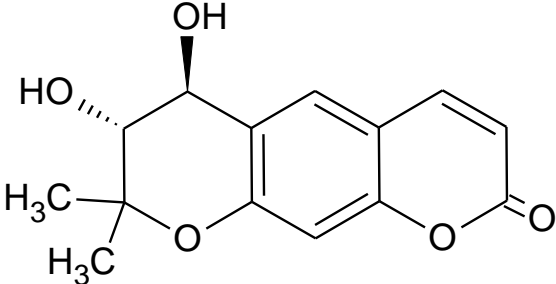
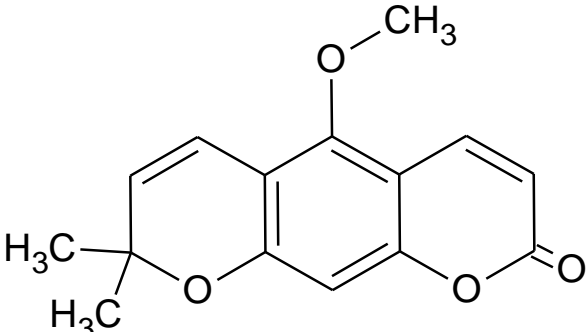
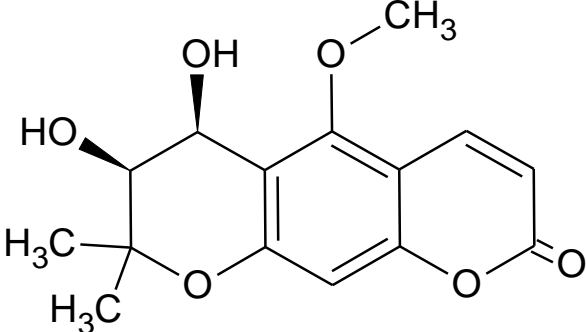
cis-Decursidinol

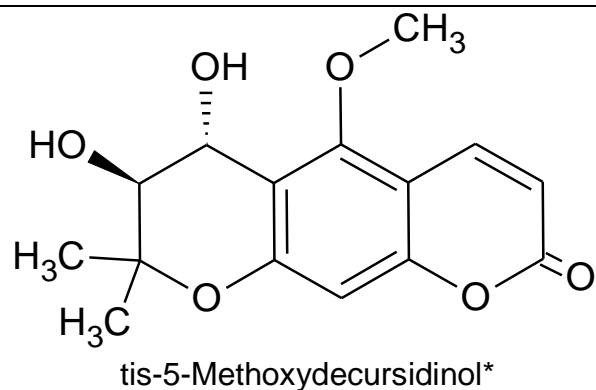
C. paradisi x
C. tangerine

Raíz [66]

$C_{14}H_{14}O_5$

262,2579

 <p>(-)-trans-Decursidinol</p>	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]	$C_{14}H_{14}O_5$	262,2579
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. paradisi x C. tangerine</i>	Raíz [66]		
 <p>Xanthoxyletin</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca da raíz [5]; caule e folha [9]	$C_{15}H_{14}O_4$	258,2692
	<i>C. nobilis</i>	Casca da raíz [4]		
	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [77] e casca da raíz [64],[65],[76]		
	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]		
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. decumana C. paradisi x C. tangerine</i>	Raíz [95] Raíz [66]		
	<i>(C. tamurana x C. sinensis) x C. tamurana</i>	Raíz [79]		
 <p>cis-5-Methoxydecursidinol*</p>	<i>C. funadoko</i>	Raíz [96]	$C_{15}H_{16}O_6$	292,2839
	<i>C. paradisi x C. tangerine</i>	Raíz [66]		



C. paradisi x
C. tangerine

Raíz [66]

C. funadoko

Raíz [96]

C₁₅H₁₆O₆

292,2839

C. hassaku

Raíz [96]

C. paradisi x
C. tangerine
(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

Raíz [66]

Raíz [79]

C. limonia

Raíz [9]

C. medica

Casca da raíz e
casca do caule
[12]

C₁₉H₂₀O₄

312,3597

C. nobilis

Casca da raíz [4]

C. grandis

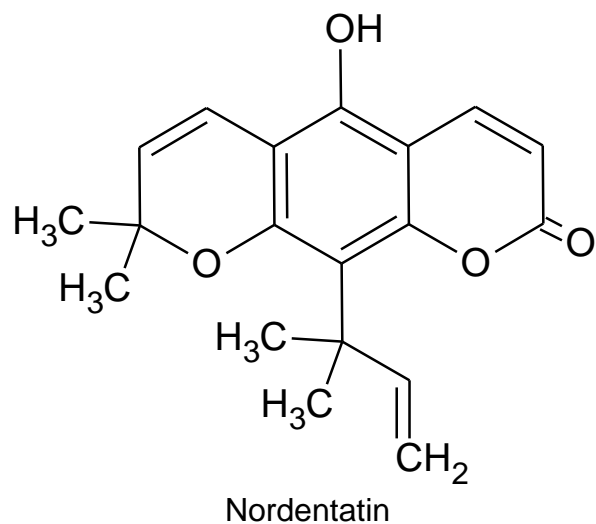
Casca da raíz
[64],[76]

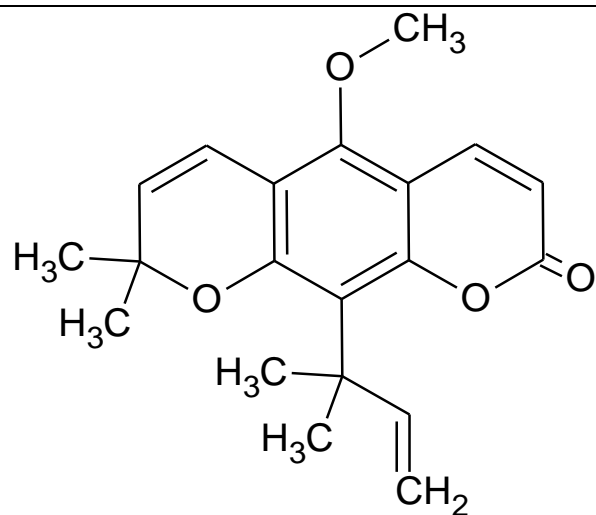
C. sinensis x
Poncirus
trifoliata

Raíz [7]

C. sinensis

Casca da raíz [5]





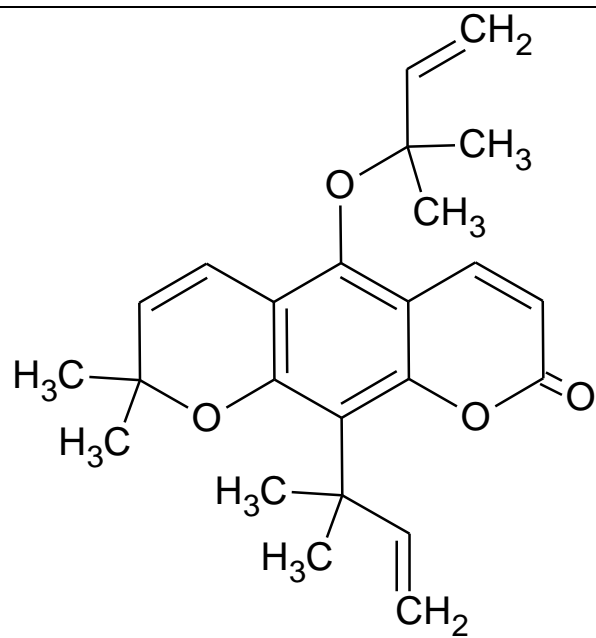
Poncitrin

C. sinensis x
Poncirus
trifoliata

Raíz [7]

$C_{20}H_{22}O_4$

326,3862



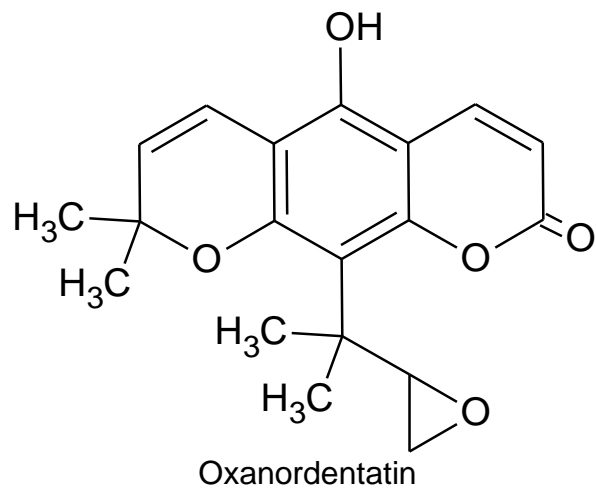
Ponfolin

(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

Raíz [79]

$C_{24}H_{28}O_4$

380,4767



C. hassaku

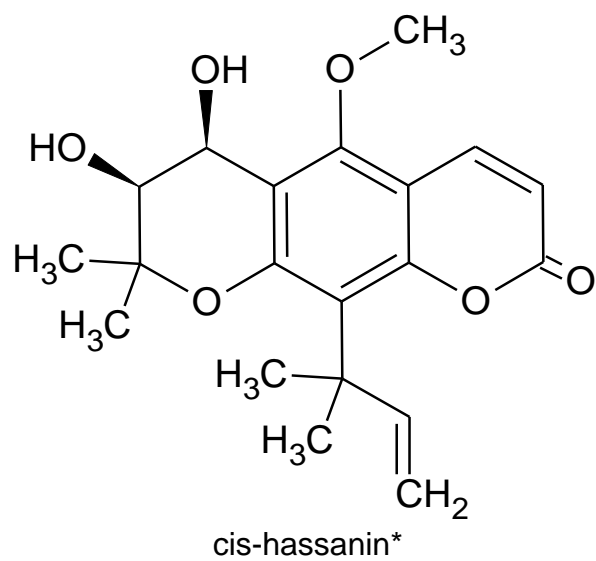
Raíz [94]

$C_{19}H_{20}O_5$

328,3591

C. medica

Casca da raíz [12]



C. grandis x *C. paradisi*

Raíz [96]

$C_{20}H_{24}O_6$

360,4009

C. hassaku

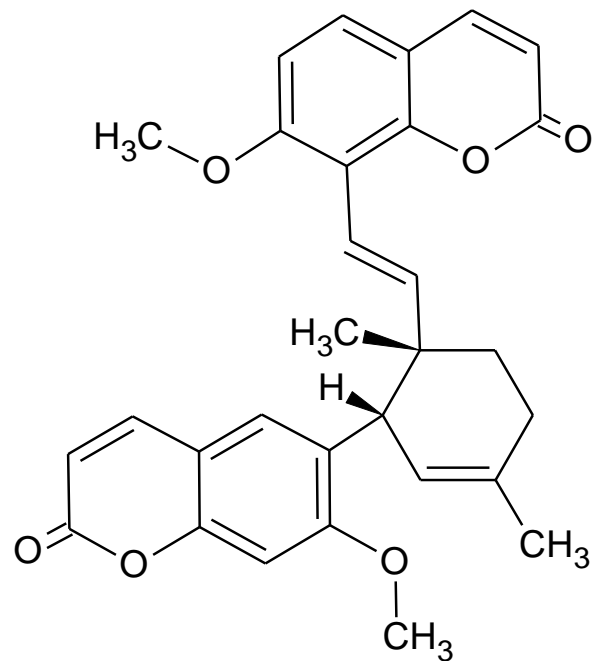
Raíz [96]

<p>trans-hassanin*</p>	<i>C. grandis</i> x <i>C. paradisi</i>	Raíz [96]	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	360,4009
	<i>C. hassaku</i>	Raíz [96]		
	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerine</i>	Raíz [66]		
<p>Clausarin</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerine</i>	Raíz [66]	C ₂₄ H ₂₈ O ₄	380,4767
	<i>C. limonia</i>	Raíz [9]		
	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [76],[65]		
	<i>C. depressa</i>	Casca da raíz [84]		
	<i>C. medica</i>	Casca da raíz [12]		

<p>The structure shows a central benzene ring with a furan ring fused at the 1-position. The furan ring has a 2,2-dimethyl-3-hydroxypropyl group at the 2-position and a 2,2-dimethyl-3-allylpropyl group at the 5-position. The benzene ring has a 2,2-dimethyl-3-allylpropyl group at the 4-position and a 2,2-dimethyl-3-hydroxypropyl group at the 6-position. The furan ring also has a carbonyl group at the 3-position.</p>	<p><i>C. paradisi x C. tangerine</i></p>	<p>Raíz [66]</p>	<p>$C_{24}H_{30}O_6$</p>	<p>414,9414</p>
<p><i>trans</i>-Clausarinol*</p>				
<p>The structure is similar to trans-Clausarinol* but with a different furan ring substitution. The furan ring has a 2,2-dimethyl-3-hydroxypropyl group at the 2-position and a 2,2-dimethyl-3-allylpropyl group at the 5-position. The benzene ring has a 2,2-dimethyl-3-allylpropyl group at the 4-position and a 2,2-dimethyl-3-hydroxypropyl group at the 6-position. The furan ring also has a carbonyl group at the 3-position.</p>	<p><i>C. hassaku</i></p>	<p>Raíz [96]</p>	<p>$C_{24}H_{28}O_5$</p>	<p>396,4761</p>
<p>Hassanidin</p>	<p><i>C. paradisi x C. tangerine</i></p>	<p>Raíz [66]</p>		

	<i>C. hassaku</i>	Raíz [94]	$C_{24}H_{28}O_5$	396,4761
Oxaclausarin				
	<i>C. tamurana</i> x <i>C. kinokuni</i>	Raíz e casca da raíz [82]	$C_{24}H_{28}O_4$	380,4767
Kinocoumarin				
	<i>(C. tamurana</i> x <i>C. sinensis)</i> x <i>C. tamurana</i>	Raíz [79]		

	<i>C. medica</i>	Casca do caule [12]	$C_{22}H_{18}O_8$	410,3735
Citrumedin A				
	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [76]	$C_{30}H_{28}O_6$	484,5397
Thamnosin				



Bisparasin

C. paradisi x
C. sinensis

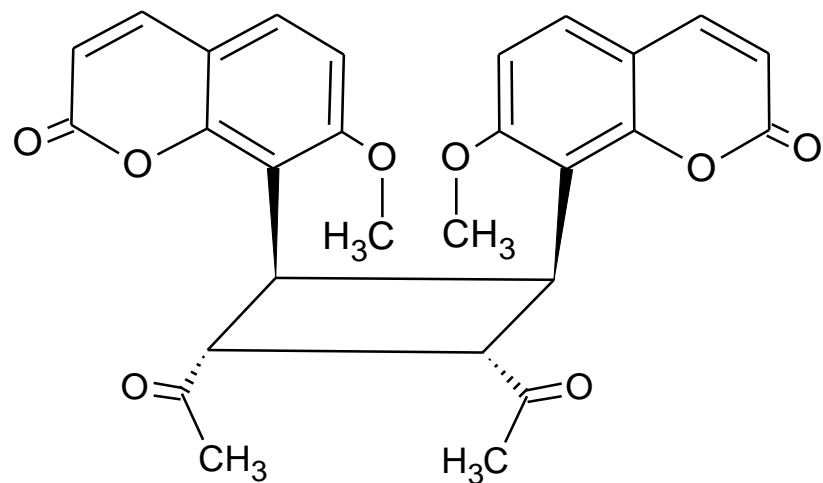
Raíz [79]

$C_{30}H_{28}O_6$

484,5397

(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

Raíz [79]



Bisosthenon

C. funadoko

Raíz e casca da
raíz [90]

C. flaviculpus
x *C. tamurana*

Raíz e casca da
raíz [90]

$C_{28}H_{24}O_8$

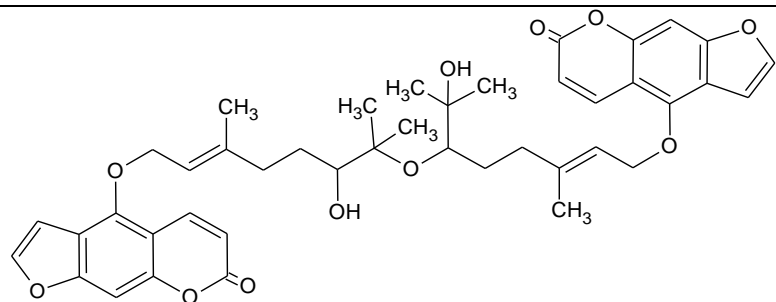
488,4853

(*C. unshiu* x *C.*
sinensis) x *C.*
iyu

Raíz e casca da
raíz [90]

C. paradisi x
C. tangerine

Raíz [66]



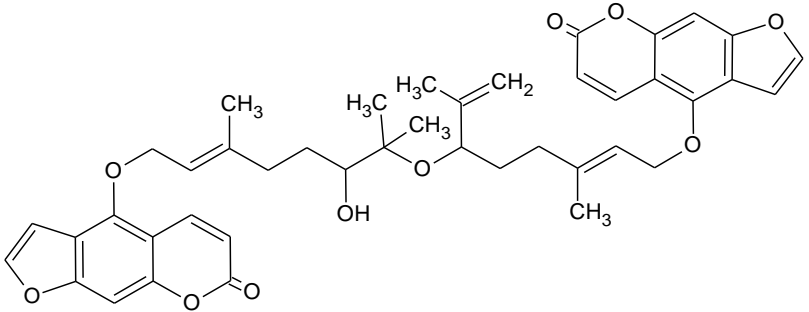
Paradisin A

C. paradisi

Suco [92]

$C_{42}H_{46}O_{11}$

726,8080



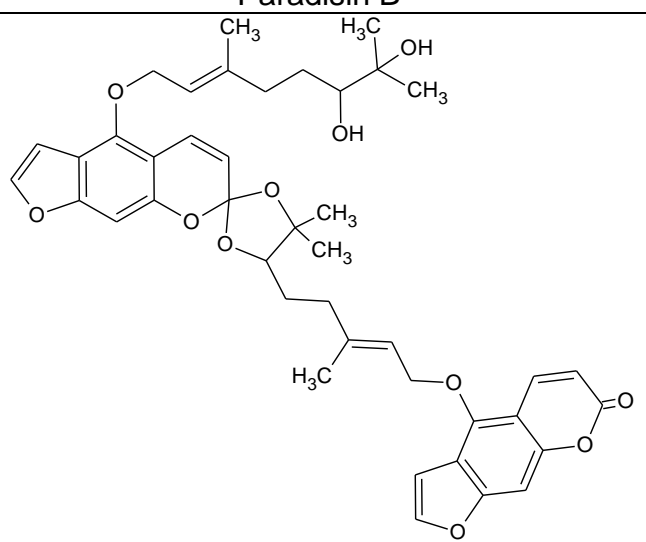
Paradisin B

C. paradisi

Suco [92]

$C_{42}H_{44}O_{10}$

708,7927



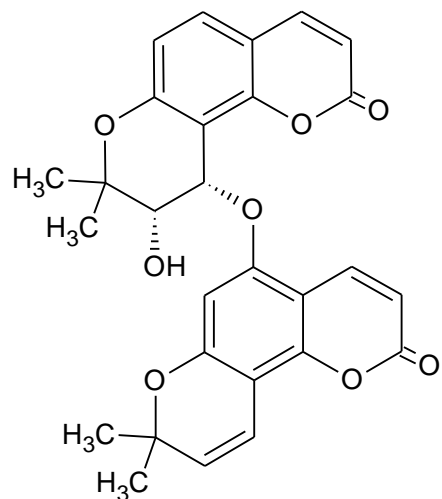
Paradisin C

C. paradisi

Suco [92]

$C_{42}H_{46}O_{11}$

726,8080



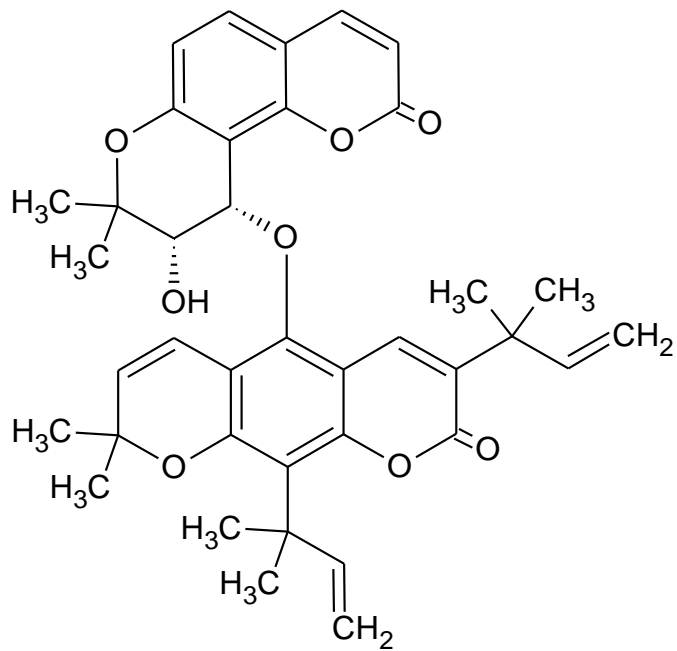
Khelmarin D*

C. paradisi x
C. tangerine

Raíz [66]

$C_{28}H_{24}O_8$

488,4853



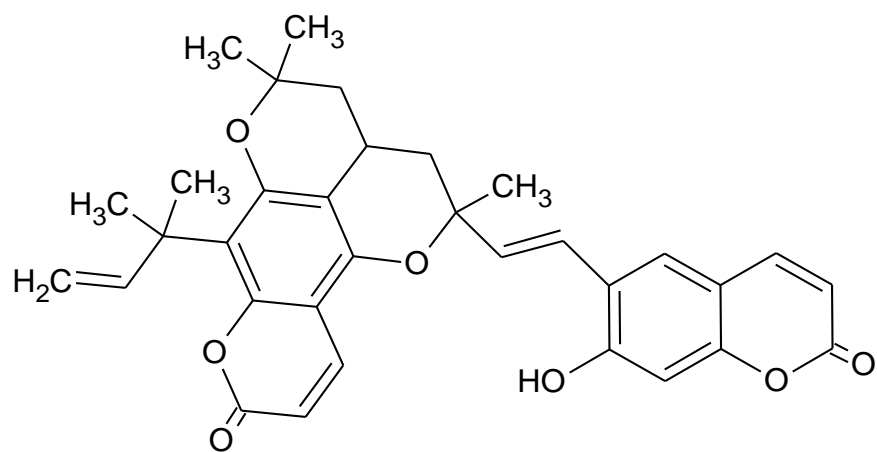
Khelmarin C*

C. hassaku

Raíz [97]

$C_{38}H_{40}O_8$

624,7194



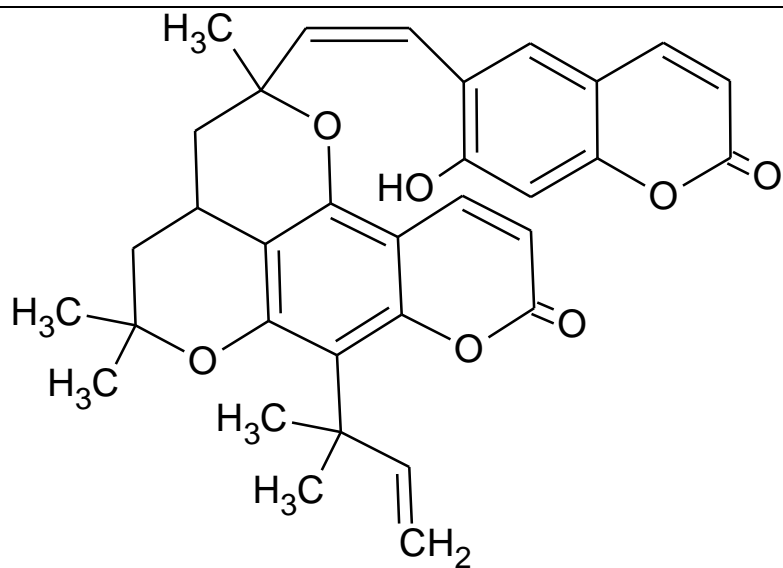
Citrumarin D

C. hassaku

Raíz [98]

$C_{33}H_{32}O_7$

540,6029



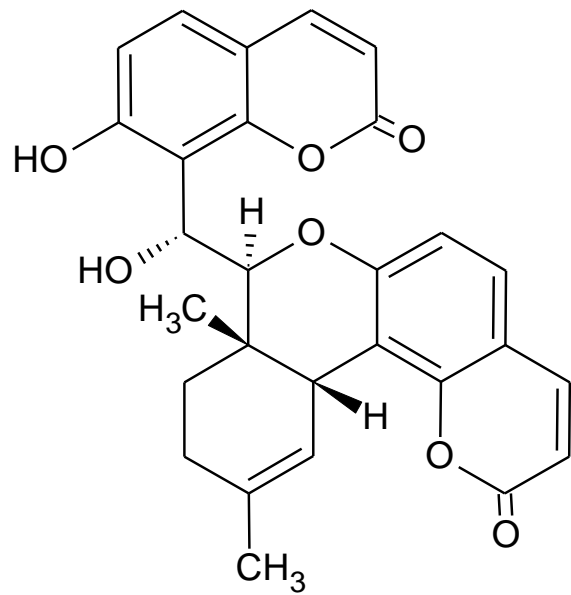
Citrumarin C

C. hassaku

Raíz [98]

$C_{33}H_{32}O_7$

540,6029



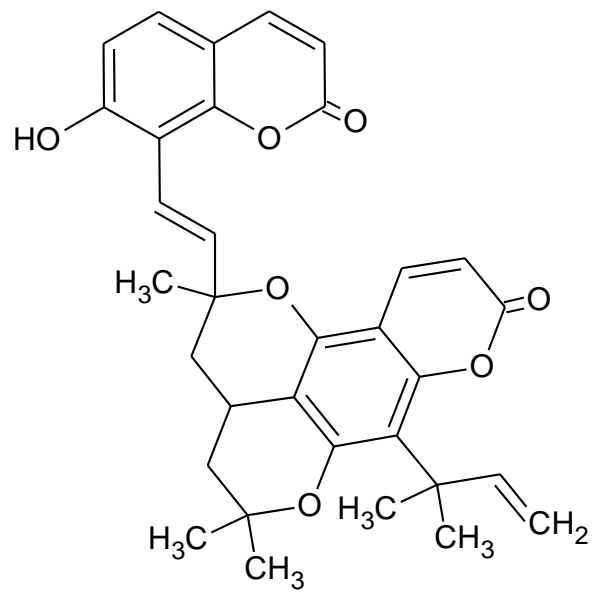
Hassamarin

C. hassaku

Raíz [99]

C₂₈H₂₄O₇

472,4859



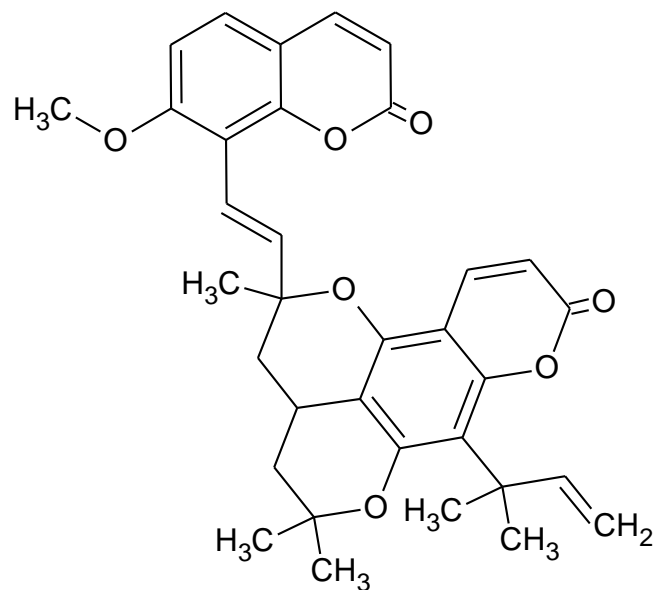
Citrumarin B

C. hassaku

Raíz [98]

C₃₃H₃₂O₇

540,6029



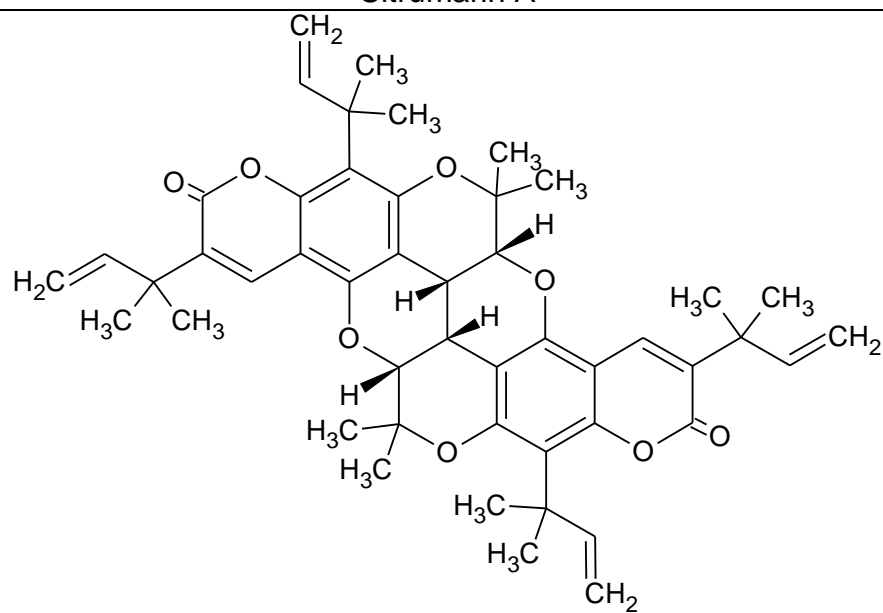
Citrumarin A

Poncirus trifoliata x
C. paradisi

Raíz [98]

C₃₄H₃₄O₇

554,6295



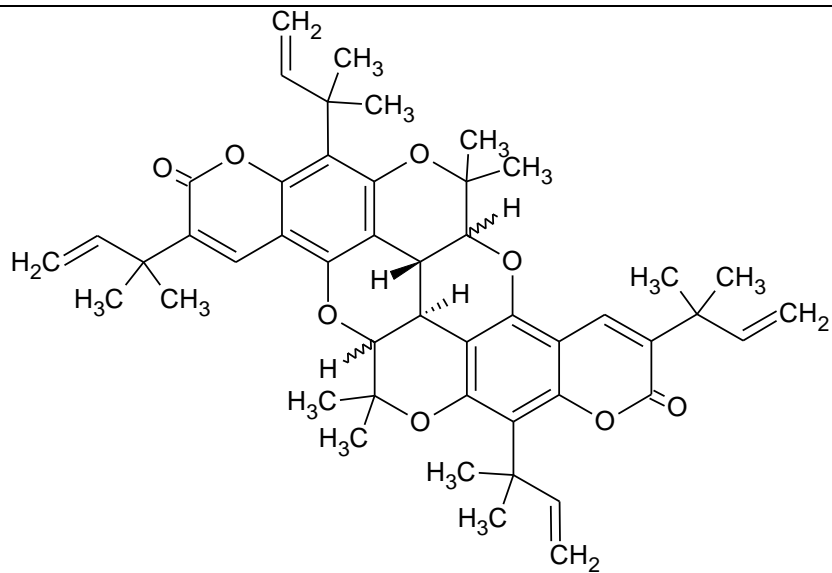
Claudimerin A

C. hassaku

Raíz [100],[101]

C₄₈H₅₄O₈

758,9375



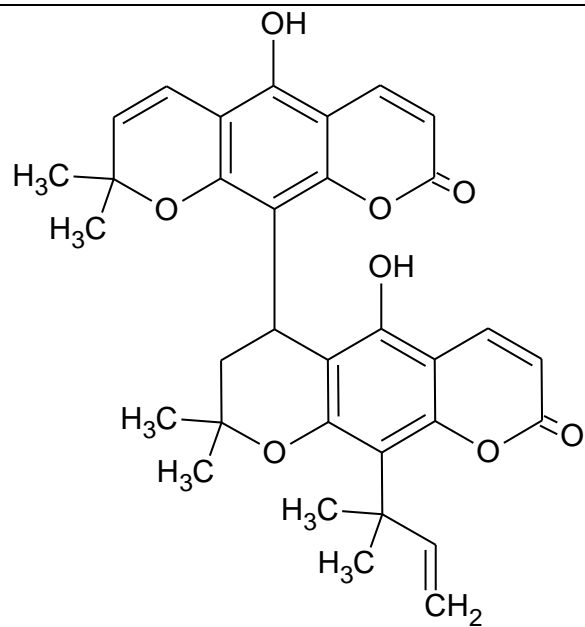
Claudimerin B

C. hassaku

Raíz [100]

C₄₈H₅₄O₈

758,9375



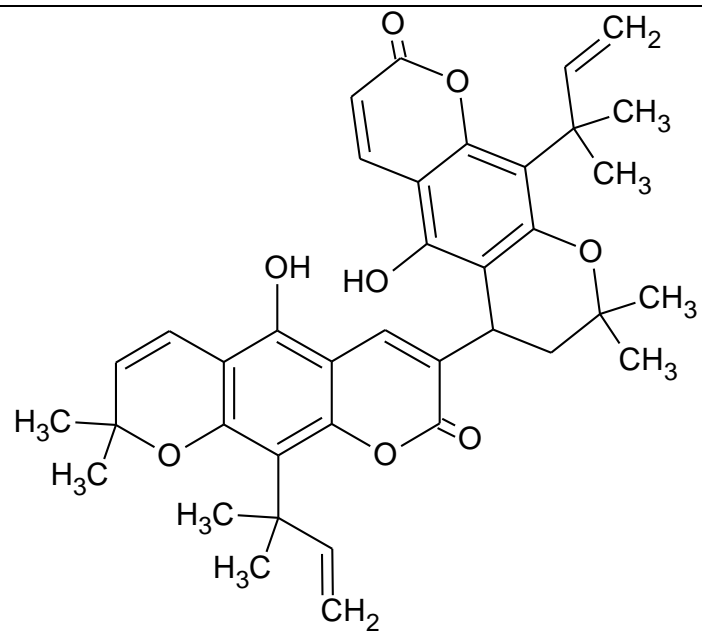
Nordenletin

C. hassaku

Raíz [94]

C₃₃H₃₂O₈

556,6023



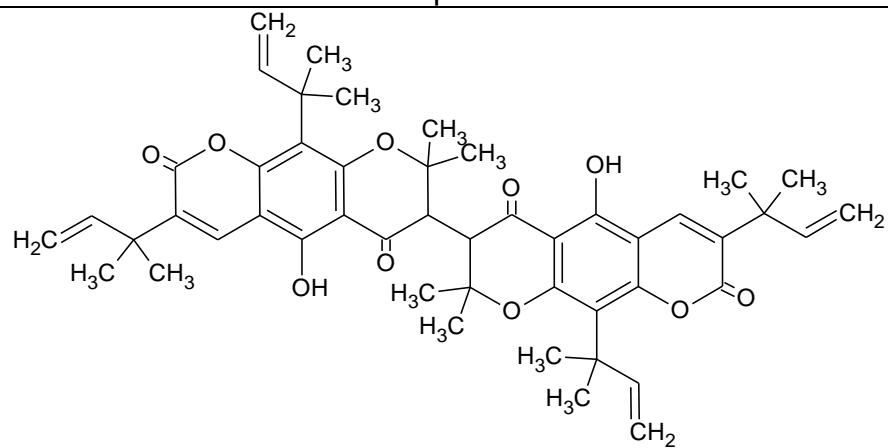
Bisnorponcitrin

C. hassaku

Raíz [97]

$C_{38}H_{40}O_8$

624,7194



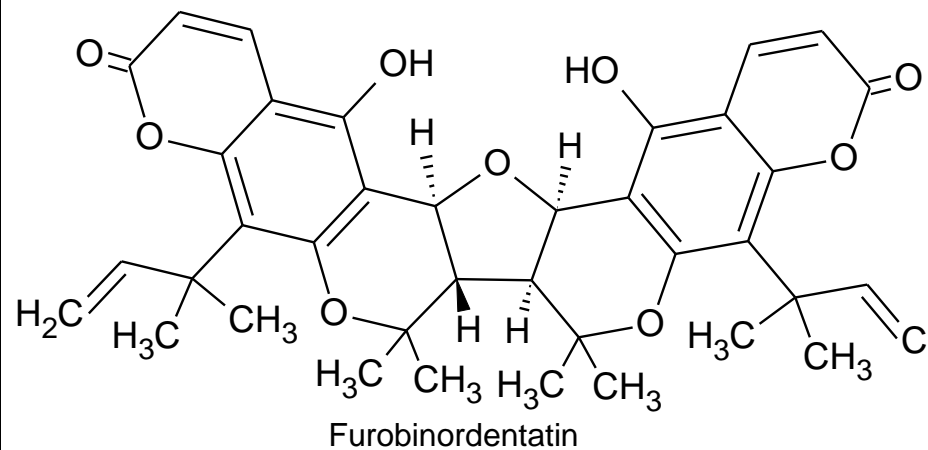
Bishassadin

C. hassaku

Raíz [97]

$C_{48}H_{54}O_{10}$

790,9363

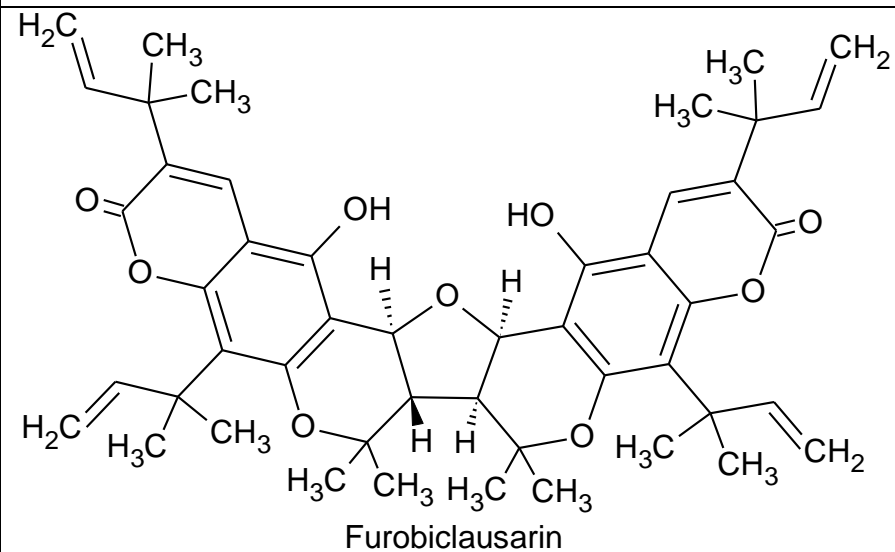


C. yuko

Raíz [102],[103]

$C_{38}H_{40}O_9$

640,7188

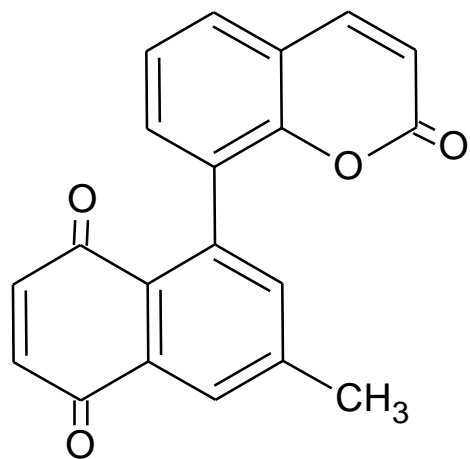


C. hassaku

Raíz [102]

$C_{48}H_{56}O_9$

776,9528



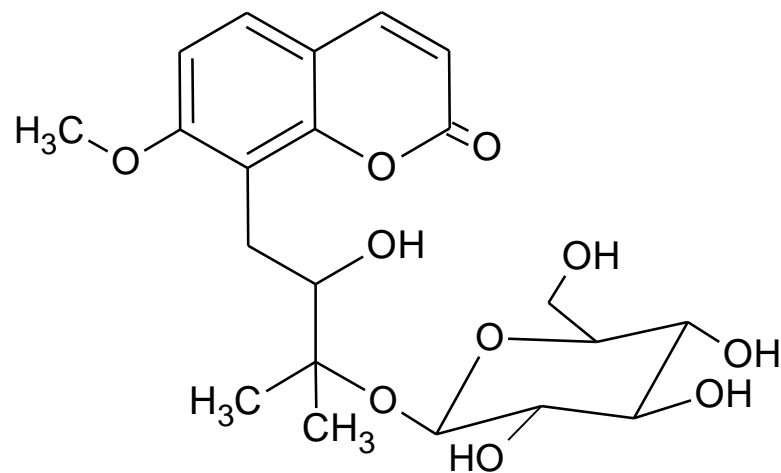
Pummeloquinone

C. grandis x *C. paradisi*

Raíz [104]

$C_{20}H_{12}O_4$

316,3068



13-O-β-D-Glucopiranoside Meranzin hydrate

C. aurantium

Flavado [85] e
casca do fruto [88]

C. paradisi

Flavado [85]

$C_{21}H_{28}O_{10}$

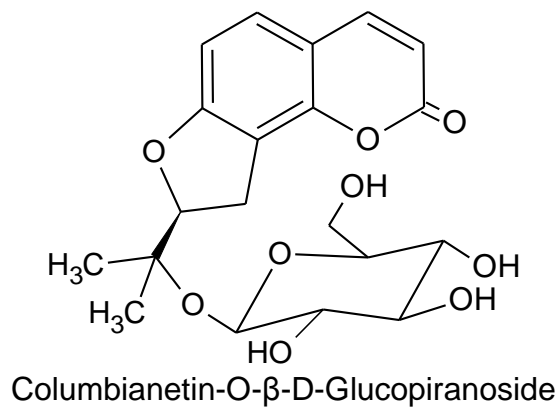
440,4410

C. grandis

Flavado [85]

C. reticulata

Casca do galho
[21]

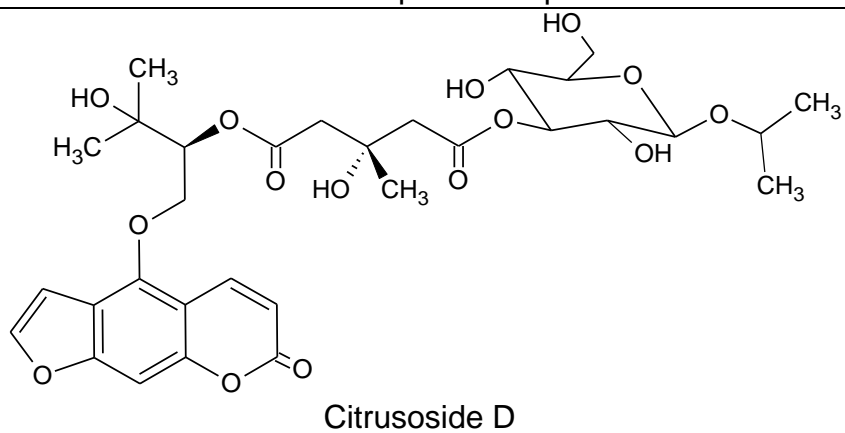


C. aurantium

Flavedo [85]

C₂₀H₂₄O₉

408,3991

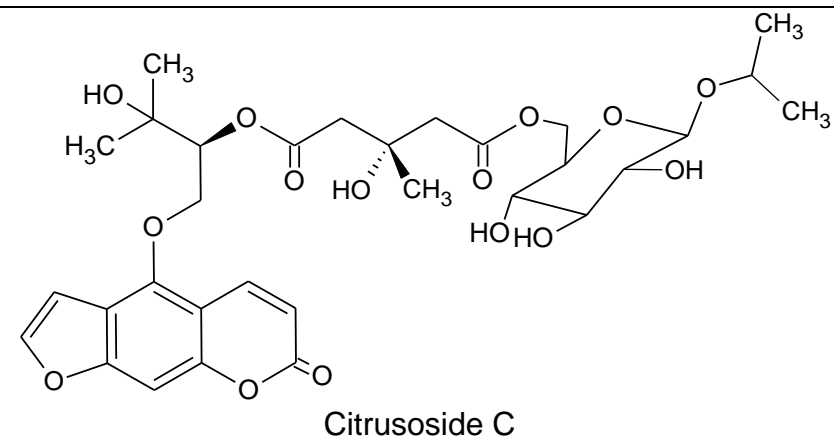


C. hystrix

Casca do fruto [6]

C₃₁H₄₀O₁₅

652,6403

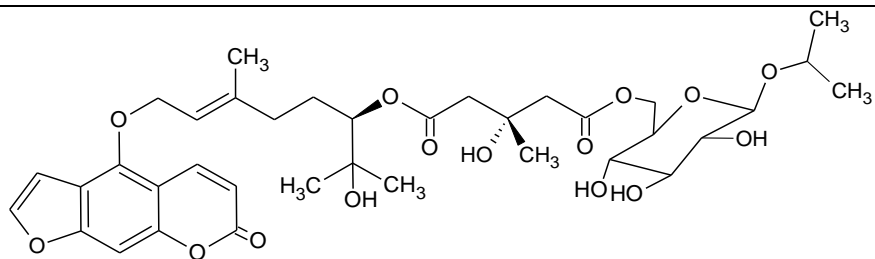


C. hystrix

Casca do fruto [6]

C₃₁H₄₀O₁₅

652,6403



Citrusoside B

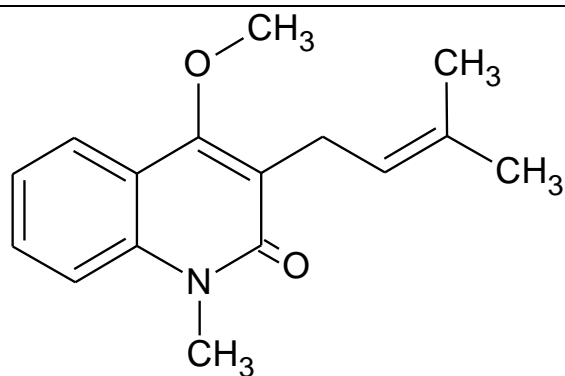
C. hystrix

Casca do fruto [6]

$C_{36}H_{48}O_{15}$

720,7573

Alcaloides



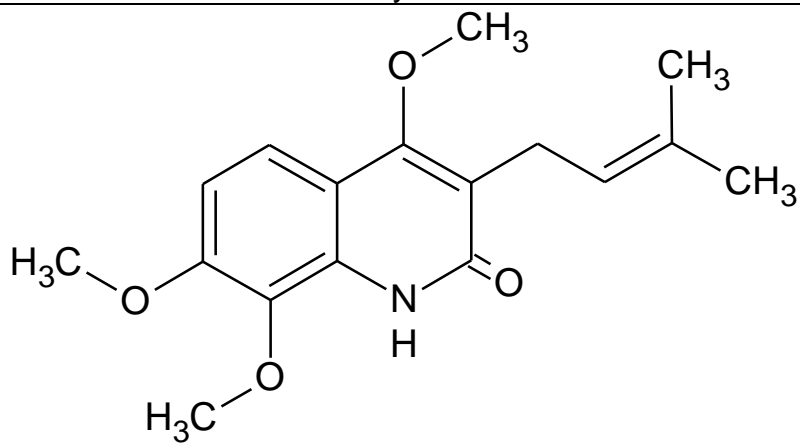
N-Methylatanine

C. grandis

Casca da raiz [65]

$C_{16}H_{19}NO_2$

257,3275



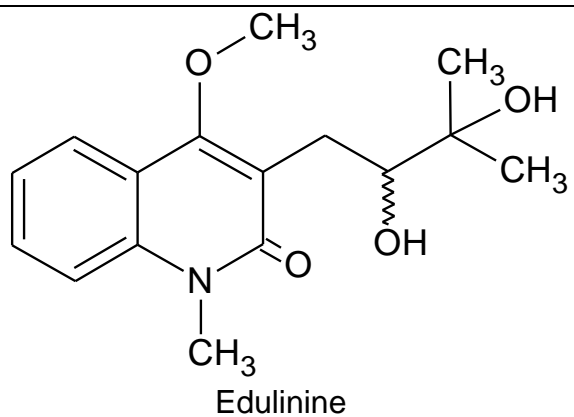
Preskimmianine

C. grandis

Casca da raiz [65]

$C_{17}H_{21}NO_4$

303,3529

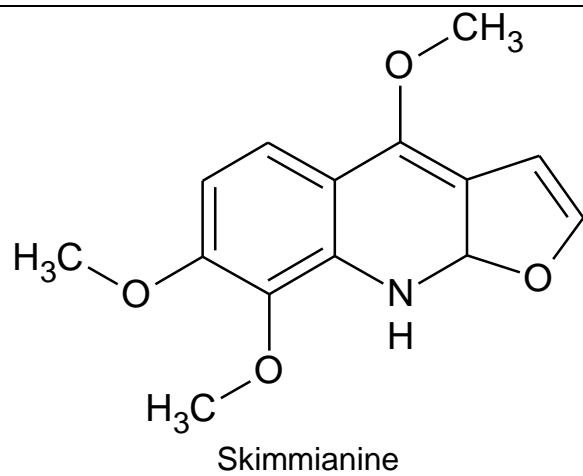


C. macroptera

Tronco [57]

$C_{16}H_{21}NO_4$

291,3422



C. aurantium

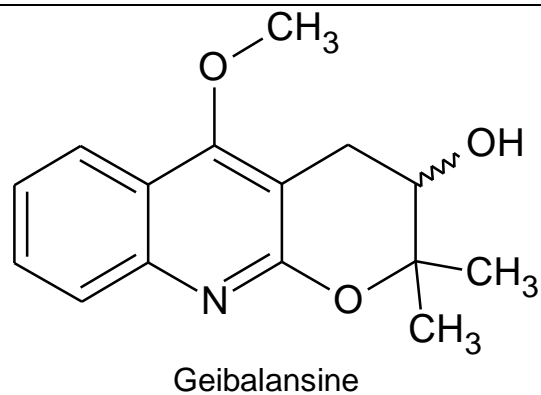
Folhas e caule[105]

$C_{14}H_{15}NO_4$

261,2732

C. unshiu

Caule[105]

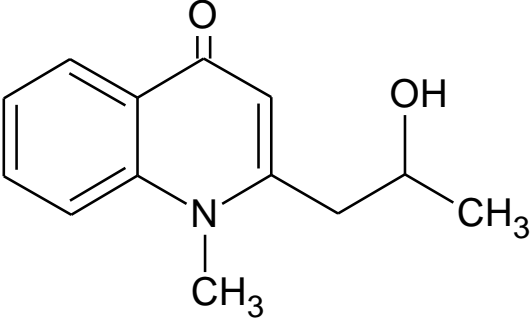
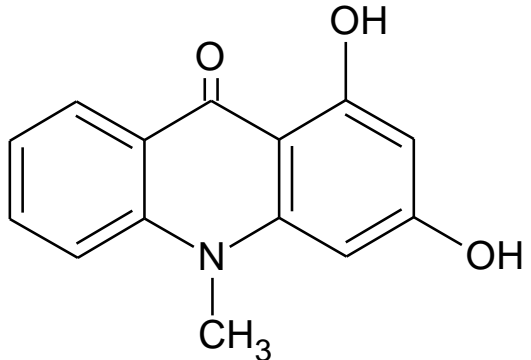
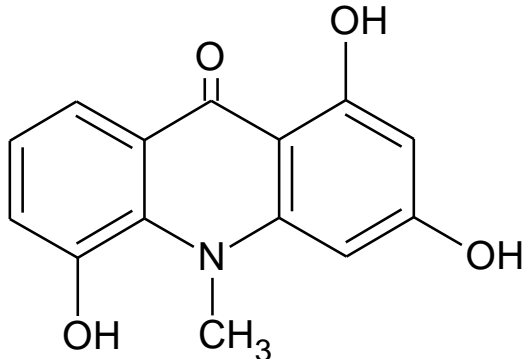


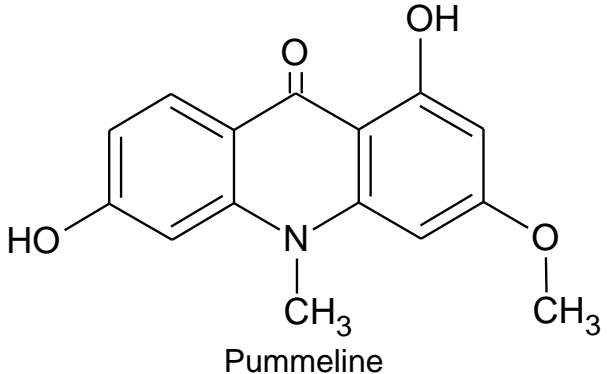
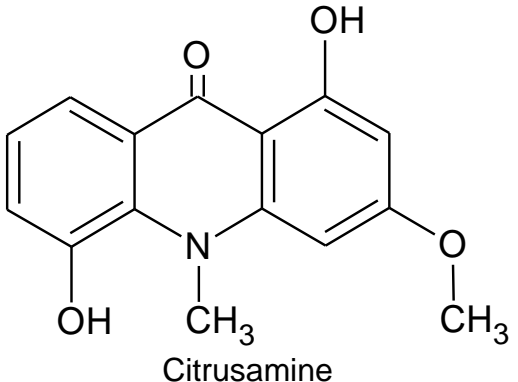
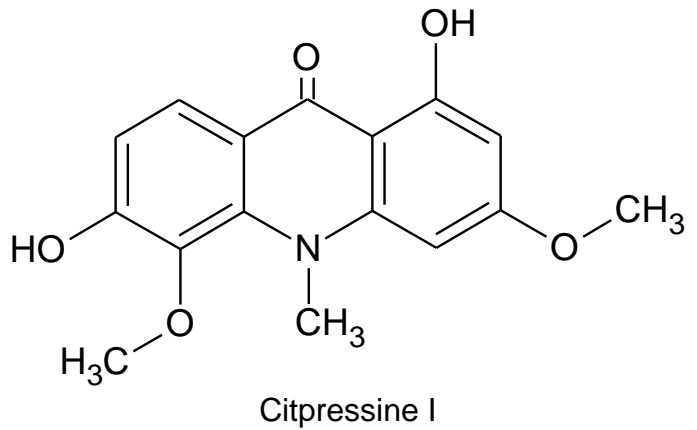
C. grandis

Casca do tronco [39]

$C_{15}H_{17}NO_3$

259,3003

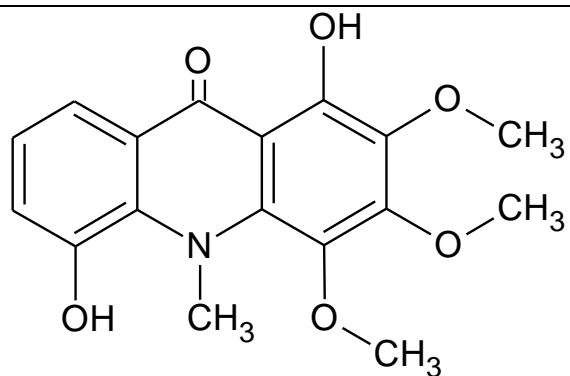
	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]	$C_{13}H_{15}NO_2$	217,2637
	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{14}H_{11}NO_3$	241,2420
	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{14}H_{11}NO_4$	257,2414

 <p>Pummeline</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{15}H_{13}NO_4$	271,2680
 <p>Citrusamine</p>	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	Raíz [66]	$C_{15}H_{13}NO_4$	271,2680
 <p>Citpressine I</p>	<i>C. grandis</i> <i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i> <i>C. depressa</i> <i>C. hystrix</i> (<i>C. tamurana</i> x <i>C. sinensis</i>) x <i>C. tamurana</i>	Casca da raíz [64],[65],[76] e casca do tronco [77] Raíz [66] Casca da raíz [84] Raíz [35] Raíz [79]	$C_{16}H_{15}NO_5$	301,294

	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [64],[65],[76] e casca do caule [106]	$C_{16}H_{15}NO_5$	301,294
Grandisine I				
	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [64],[65],[76]	$C_{16}H_{15}NO_5$	301,294
Grandisine II				
	<i>C. depressa</i>	Casca da raíz [84]		
Citpressine II	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [64],[65],[76] e casca do tronco [77]	$C_{17}H_{17}NO_5$	315,3205
	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]		

	<p><i>(C. tamurana x C. sinensis) x C. tamurana</i></p>	<p>Raíz [79]</p>	<p>$C_{16}H_{15}NO_5$</p>	<p>301,294</p>			
<p>5-Hydroxyaborinine</p>		<p><i>C. reticulata</i></p>	<p>Tronco [38]</p>	<p>$C_{16}H_{15}NO_6$</p>	<p>317,2934</p>		
<p>Citruscidone</p>		<p><i>C. hystrix</i></p>	<p>Raíz [35]</p>	<p><i>C. paradisi x C. tangerina</i></p>	<p>Raíz [66]</p>	<p>$C_{16}H_{15}NO_6$</p>	<p>317,2934</p>
<p>Citramine</p>	<p><i>C. reticulata</i></p>	<p>Casca do galho [21]</p>					

<p>Chemical structure of Atalafoline: <chem>CN1C(=O)c2cc(OC)c(O)c2C1=O</chem></p>	<i>C. grandis</i>	Casca do tronco [77]	$C_{17}H_{17}NO_6$	331,3199
<p>Chemical structure of Citrusinine II: <chem>CN1C(=O)c2cc(O)c(O)c2C1=O</chem></p>	<i>C. sinensis</i>	Casca da raíz	$C_{15}H_{13}NO_5$	287,2674
Citrusinine II	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]		
<p>Chemical structure of Citrusinine I: <chem>CN1C(=O)c2cc(O)c(OC)c2C1=O</chem></p>	<i>C. sinensis</i>	Casca da raíz [5]		
Citrusinine I	<i>C. grandis</i>	Casca da raíz [65] e casca do caule [106]		
	<i>C. nobilis</i>	Casca da raíz [4]	$C_{16}H_{15}NO_5$	301,294
	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]		
	<i>C. reticulata</i>	Casca do galho [21] e tronco [38]		



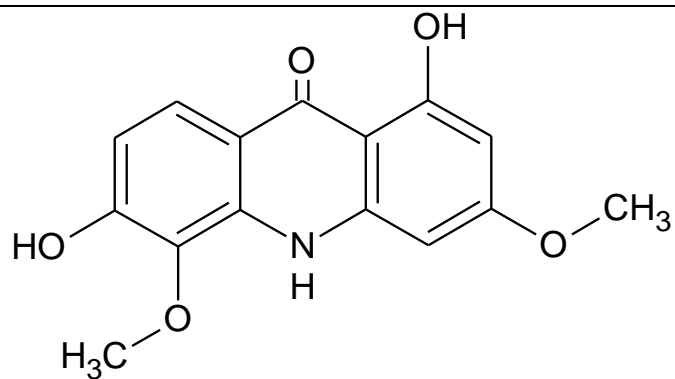
Citbrasinine

C. sinensis

Casca da raiz [5]

$C_{17}H_{17}NO_6$

331,3199



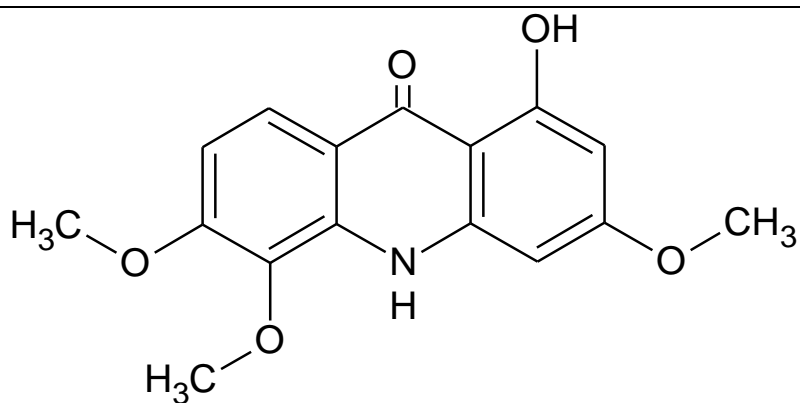
Natsucitrine I

*C. paradisi x
C. tangerina*

Raiz [66]

$C_{15}H_{13}NO_5$

287,2674



Natsucitrine II

C. grandis

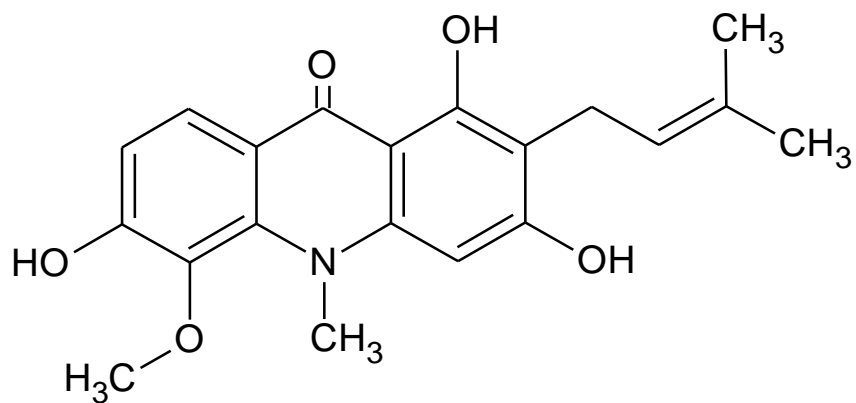
Casca da raiz [76]
e casca do caule
[106]

$C_{16}H_{15}NO_5$

301,294

*C. paradisi x
C. tangerina*

Raiz [66]



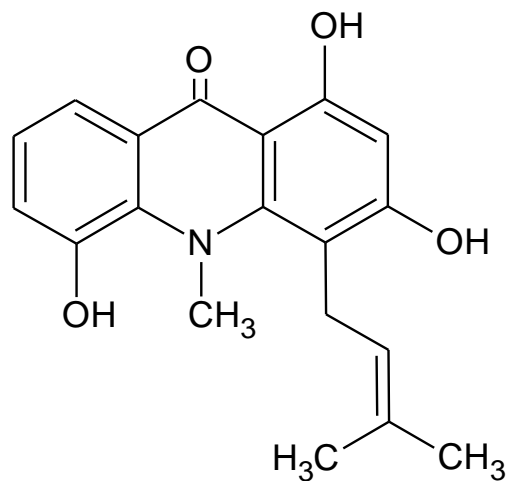
Buntanine

C. grandis

Casca da raiz [64]
e casca do tronco
[39]

$C_{20}H_{21}NO_5$

355,3844



Glycocitrine I

C. paradisi x
C. tangerina

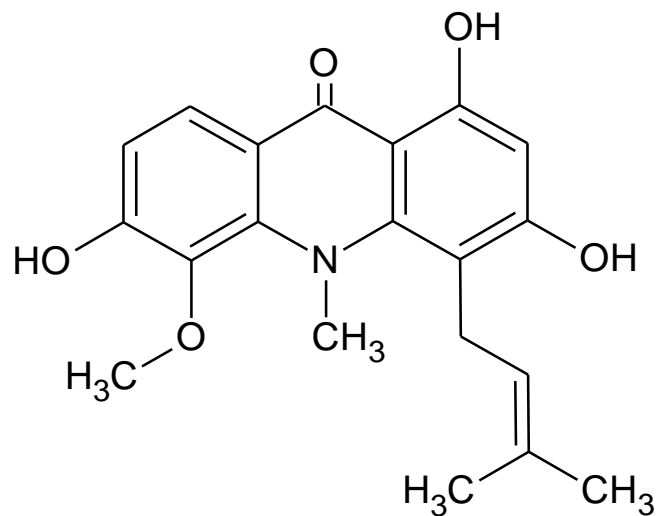
Raiz [66]

$C_{19}H_{19}NO_4$

325,3584

C. grandis

Casca da raiz
[64],[65],[76] e
casca do caule
[106]



Prenylcitpressine

C. depressa

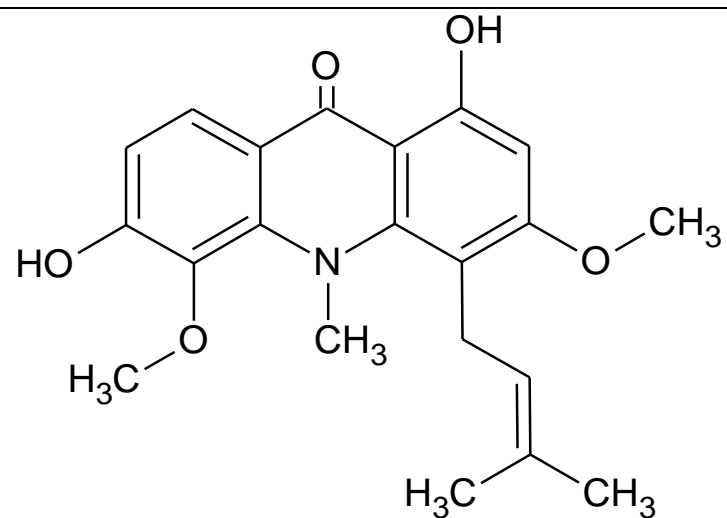
Casca da raíz [84]

$C_{20}H_{21}NO_5$

355,3844

C. grandis

Casca da raíz
[64],[65]



Grandisinine

C. paradisi x
C. tangerina

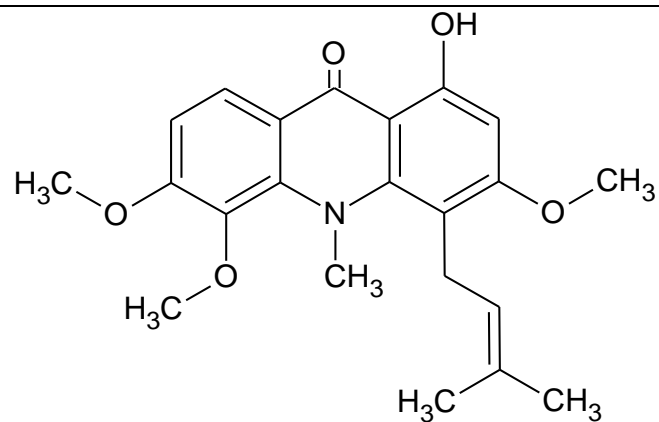
Raíz [66]

$C_{21}H_{23}NO_5$

369,4110

C. grandis

Casca da raíz
[64],[65],[76] e
casca do tronco
[77]



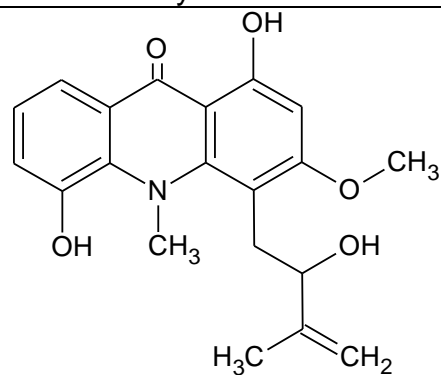
Baiyumine B

C. grandis

Casca da raiz
[64],[107]

$C_{22}H_{25}NO_5$

383,4376



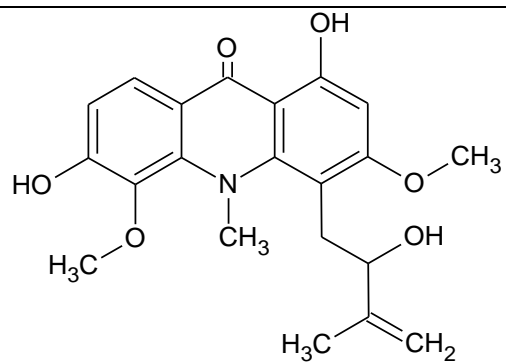
Marshmine

C. paradisi x
C. tangerina

Raiz [66]

$C_{20}H_{21}NO_5$

355,3844



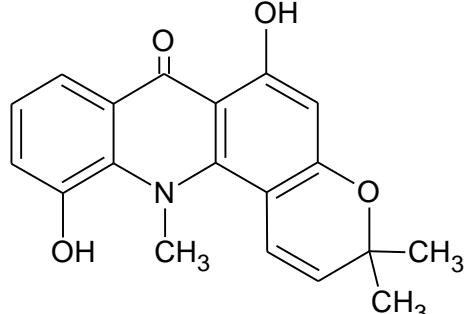
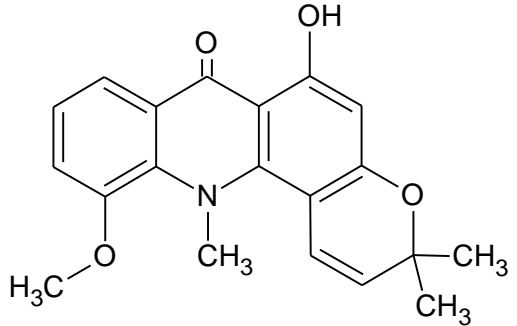
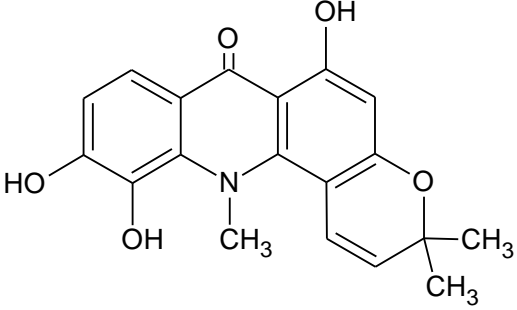
Buntanmine A

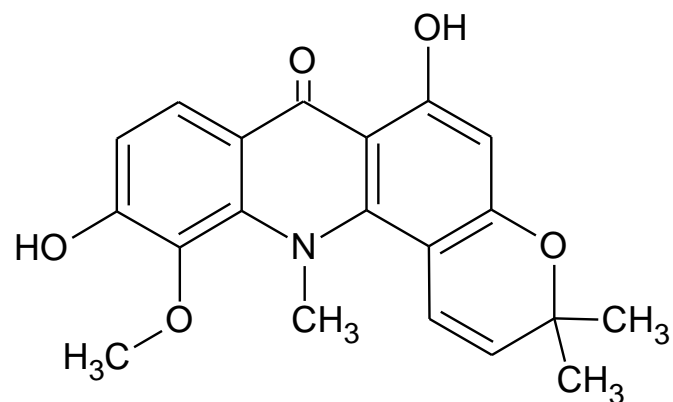
C. grandis

Casca do tronco
[77]

$C_{21}H_{23}NO_6$

385,4104

 <p>5-Hydroxynoracronycine</p>	<p><i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i> <i>C. depressa</i> <i>C. grandis</i> <i>C. nobilis</i> <i>C. hystrix</i> <i>C. limonia</i> <i>C. reticulata</i></p>	<p>Raíz [66] Casca da raíz [84] Casca da raíz [64],[65],[76], casca do caule [106] e casca do tronco [77] Casca da raíz [4] Raíz [35] Caule e raíz [9] Casca do galho [21]</p>	<p>$C_{19}H_{17}NO_4$</p>	<p>323,3425</p>
 <p>Baiyumine A</p>	<p><i>C. hystrix</i> <i>C. grandis</i></p>	<p>Raíz [35] Casca da raíz [64],[107]</p>	<p>$C_{20}H_{19}NO_4$</p>	<p>337,3691</p>
 <p>Citracridone III</p>	<p><i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i> <i>C. grandis</i> <i>C. reticulata</i></p>	<p>Raíz [66] Casca do caule [106] Casca do galho [21]</p>	<p>$C_{19}H_{17}NO_5$</p>	<p>339,3419</p>



Citracridone I

C. paradisi x
C. tangerina
(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana
C. sinensis

Raíz [66]

Raíz [79]

Casca da raíz [5]
Casca da raíz
[64],[65],[76] e
casca do tronco
[77]

C. grandis

C. nobilis
C. depressa
C. hystrix
C. sinensis x
Poncirus
trifoliata

Casca da raíz [4]
Casca da raíz [84]
Raíz [35]

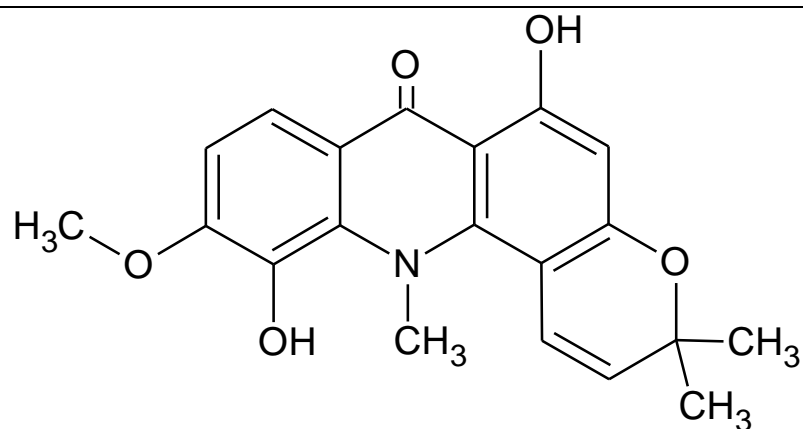
Raíz [7]

C. reticulata

Casca do galho
[21]

$C_{20}H_{19}NO_5$

353,3685



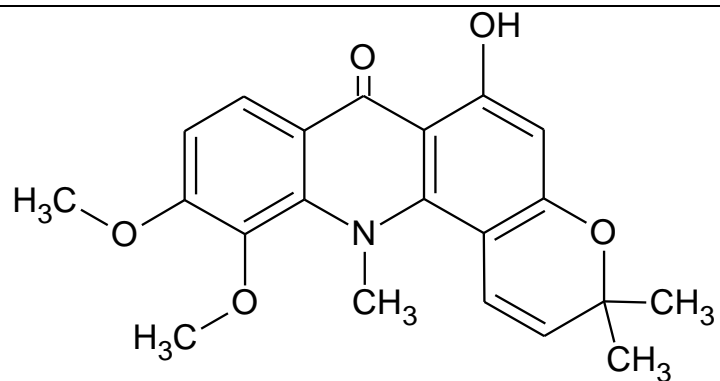
2,2'-Dimethyl-(pyrano 5',6':3:4)-1,5-dihydroxy-6-methoxy-10-methyl acridone

C. decumana

Raíz [95]

$C_{20}H_{19}NO_5$

353,3685



Citracridone II

C. paradisi x C. tangerina

Raíz [66]

C. depressa

Casca da raíz [84]

C. grandis

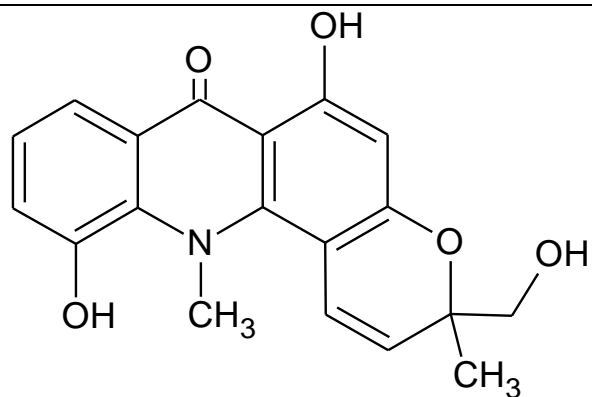
Casca da raíz [64],[65],[76]

$C_{21}H_{21}NO_5$

367,3951

C. decumana

Raíz [95]



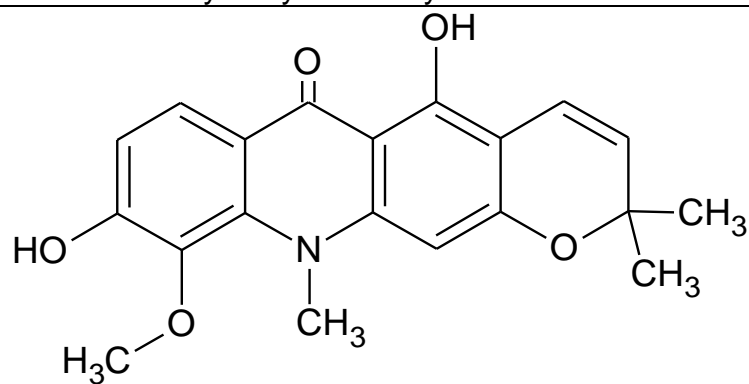
5-Hydroxynoracronycine alcohol

C. grandis

Casca do caule [106]

$C_{19}H_{17}NO_5$

339,3419



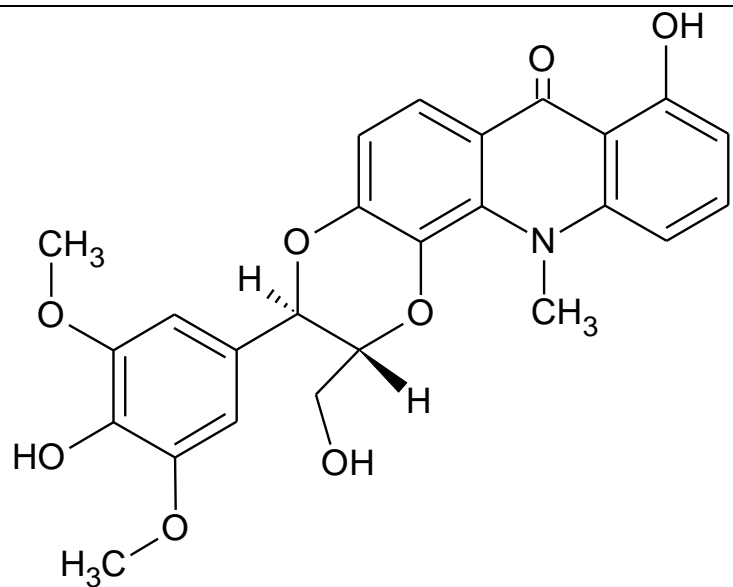
Honyumine

C. grandis

Casca da raíz [76] e casca do tronco [39]

$C_{20}H_{19}NO_5$

353,3685



Acrignine A

C. paradisi x
C. tangerina

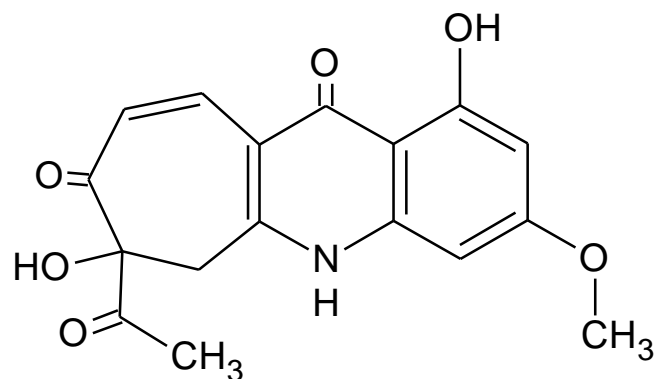
Raíz [66]

$C_{25}H_{23}NO_8$

465,4520

C. grandis

Raíz [108]



Citrapone C

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

C. paradisi

Casca do caule
[109]

(*C. unshiu* x *C. sinensis*) x *C. iyo*

Casca da raíz
[109]

$C_{17}H_{15}NO_6$

329,3041

C. flaviculpus
x *C. tamurana*

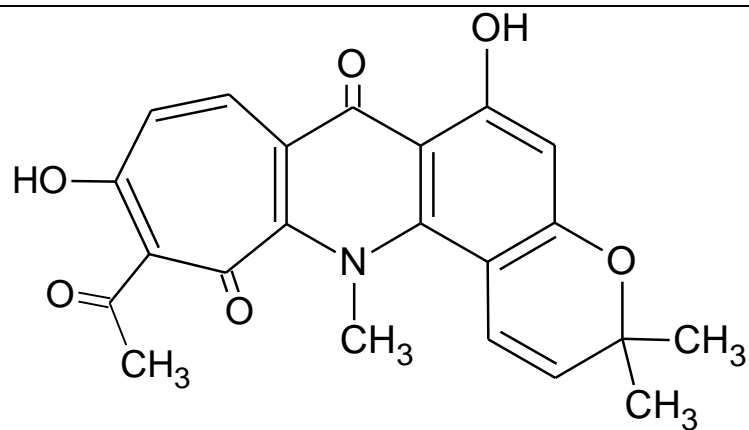
Casca da raíz
[109]

C. paradisi x
C. sineisis

Casca da raíz
[109]

(*C. tamurana* x
C. sinensis) x
C. tamurana

Raíz [79]



Citrapone A

C. grandis

Casca da raíz
[109]

C. natsudaidai

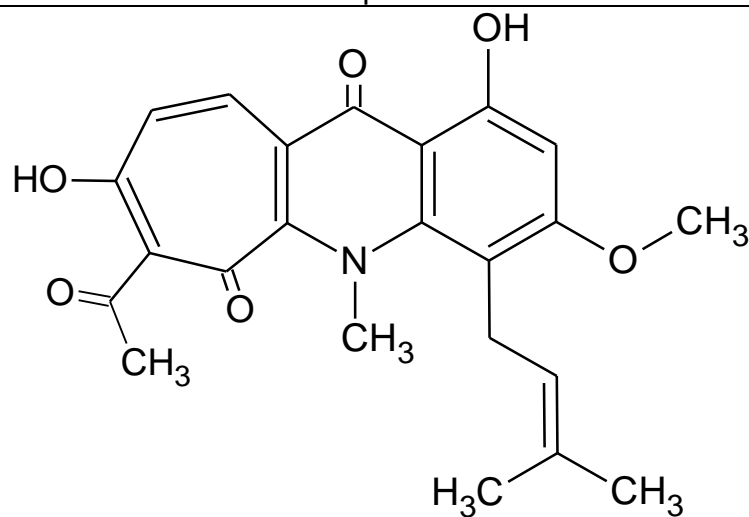
Raíz [109]

$C_{22}H_{19}NO_6$

393,3893

C. nobilis

Casca da raíz [4]



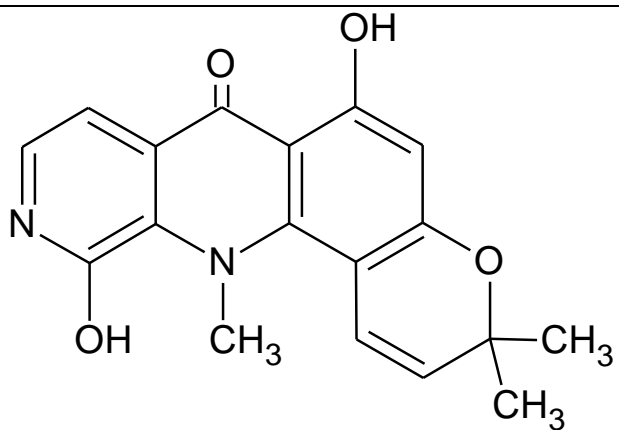
Citrapone B

C. grandis

Casca da raíz
[109]

$C_{23}H_{23}NO_6$

409,4318



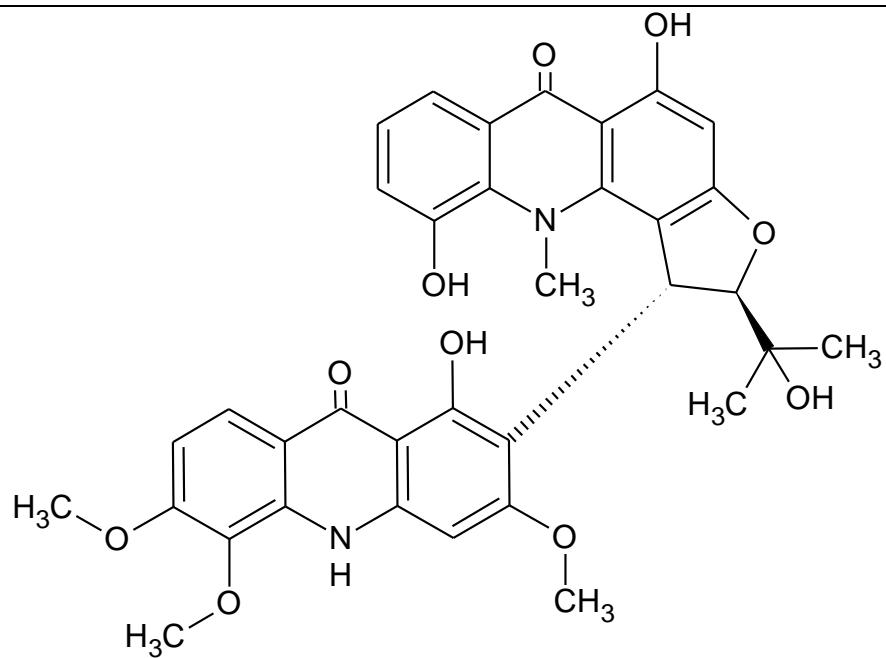
C. paradisi

Raíz [110]

$C_{18}H_{16}N_2O_4$

324,3306

Azacridone A



C. paradisi

Raíz [111],[112]

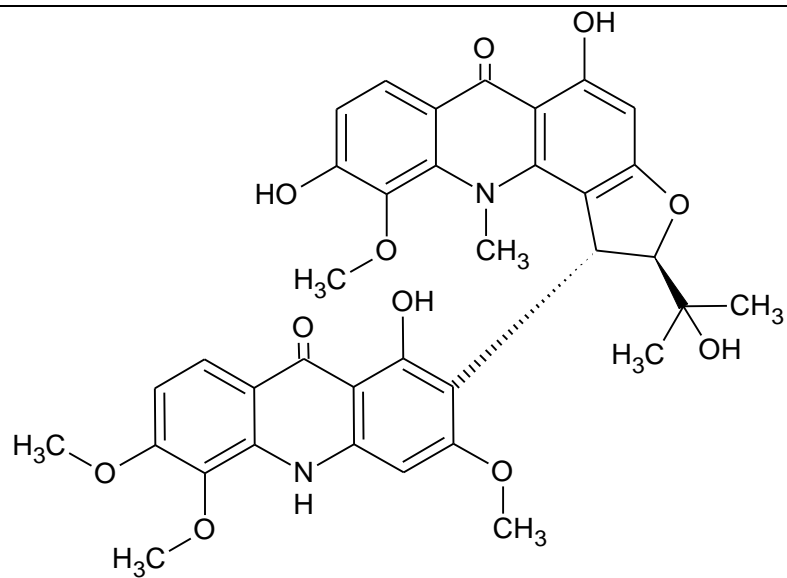
$C_{35}H_{32}N_2O_{10}$

640,6359

C. grandis

Raíz [111]

Citbismine A



Citbismine B

C. paradisi

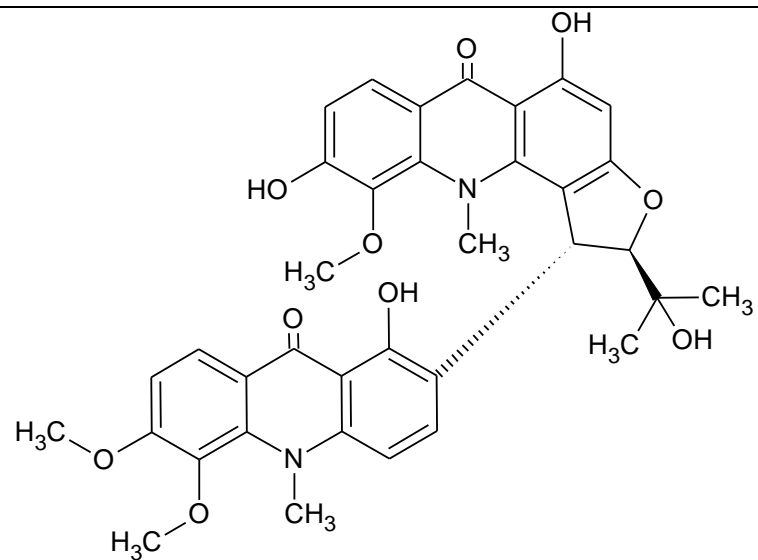
Raíz [111]

$C_{36}H_{34}N_3O_{11}$

670,6619

C. grandis

Raíz [111]



Citbismine C

C. paradisi

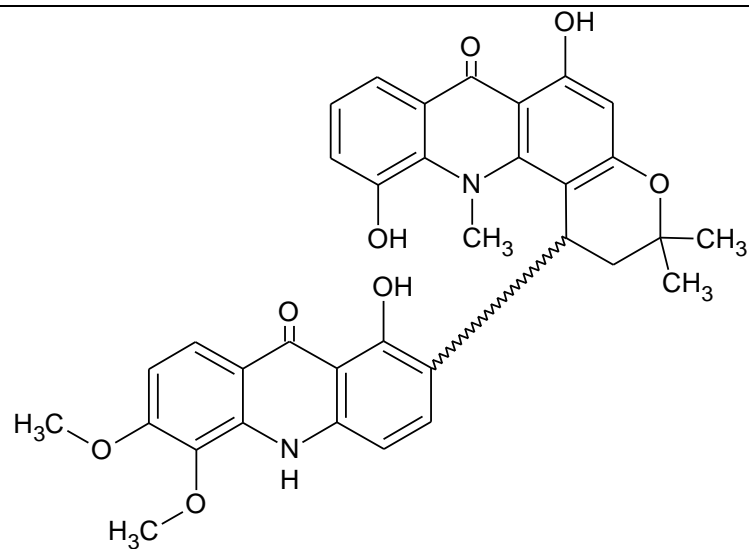
Raíz [111]

$C_{36}H_{34}N_2O_{10}$

654,6625

C. grandis

Raíz [111]



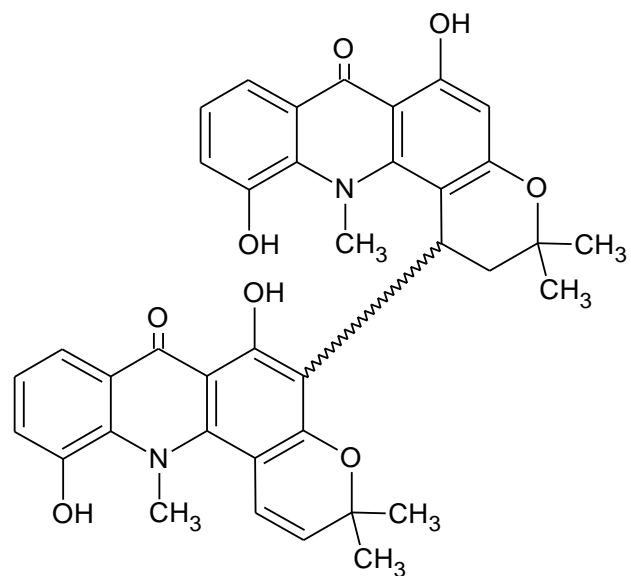
Butanbismine

C. grandis

Casca do tronco
[113]

$C_{34}H_{30}N_2O_8$

594,6106



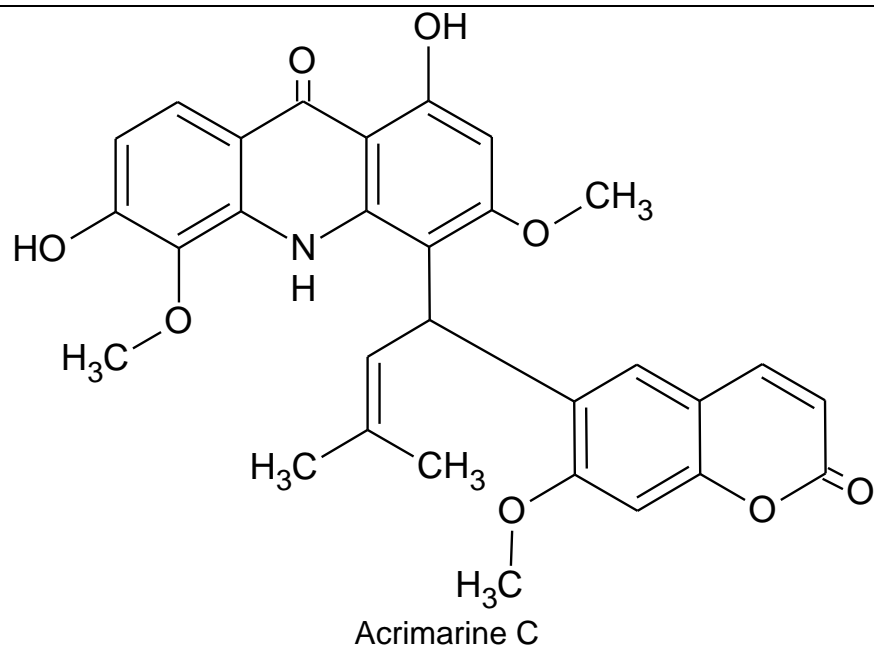
bis-5-Hydroxynoracronycine

C. paradisi

Raíz [114]

$C_{28}H_{34}N_2O_8$

646,6851



C. funadoko

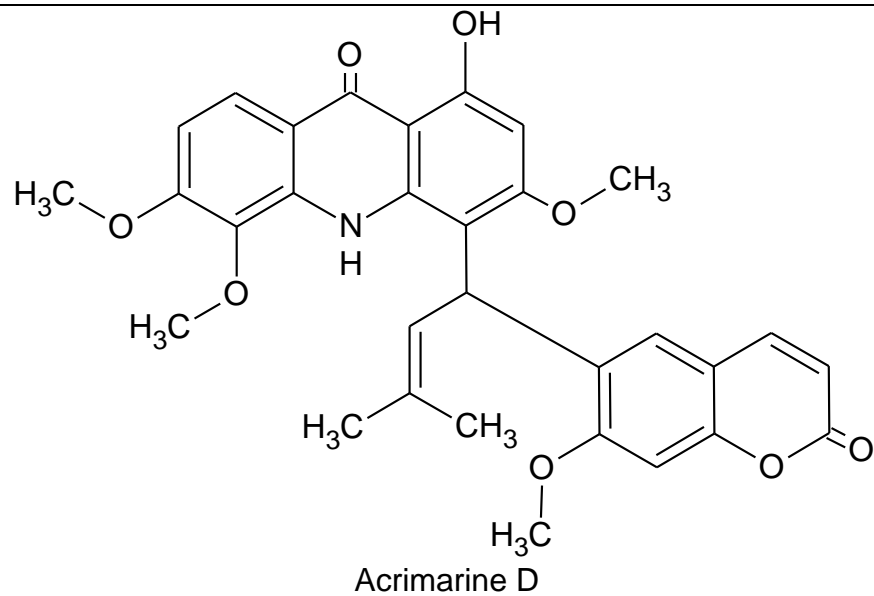
Raíz [115]

$C_{30}H_{27}NO_8$

529,5372

*C. paradisi x
C. tangerina*

Raíz [66]

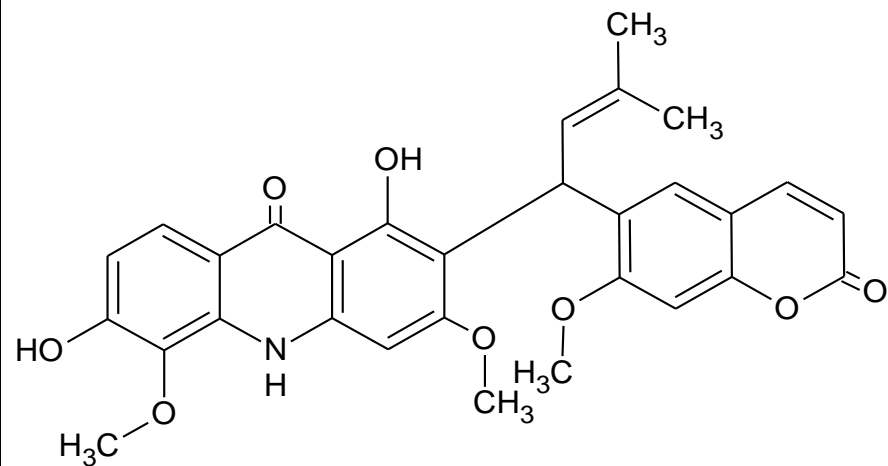


*C. paradisi x
C. tangerina*

Raíz [66]

$C_{32}H_{31}NO_8$

557,5904



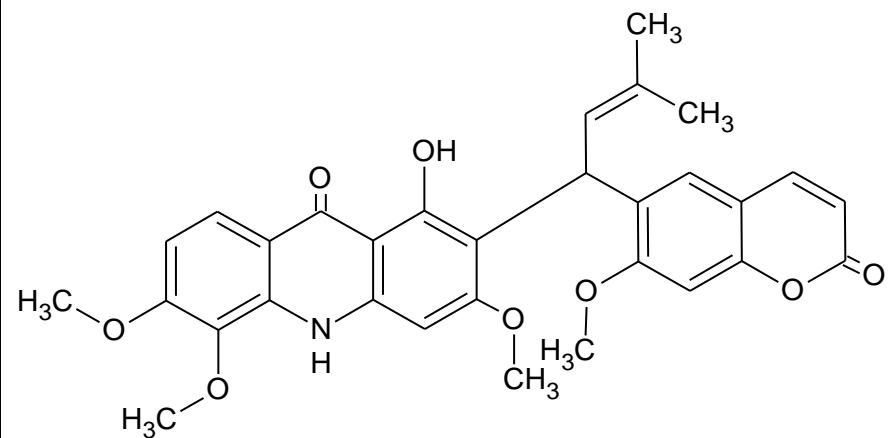
Acrimarine E

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

$C_{30}H_{27}NO_8$

529,5372



Acrimarine B

C. funadoko

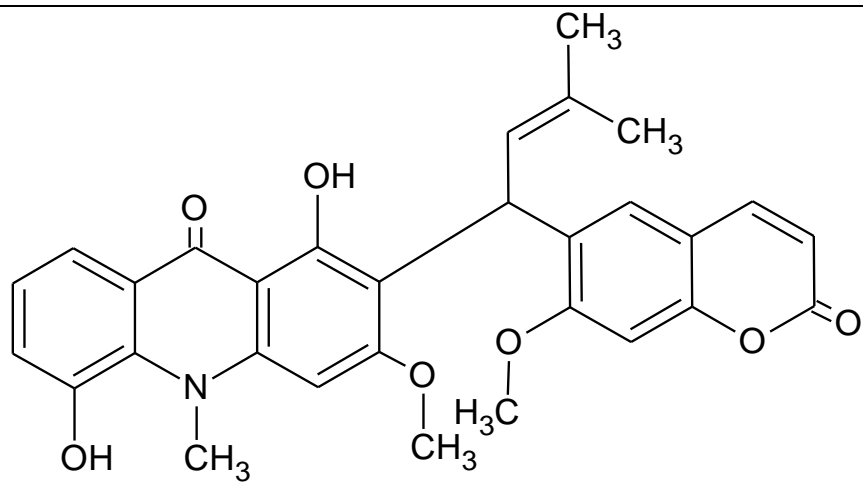
Raíz [115]

$C_{30}H_{27}NO_8$

529,5372

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]



Acrimarine H

C. paradisi x
C. tangerina

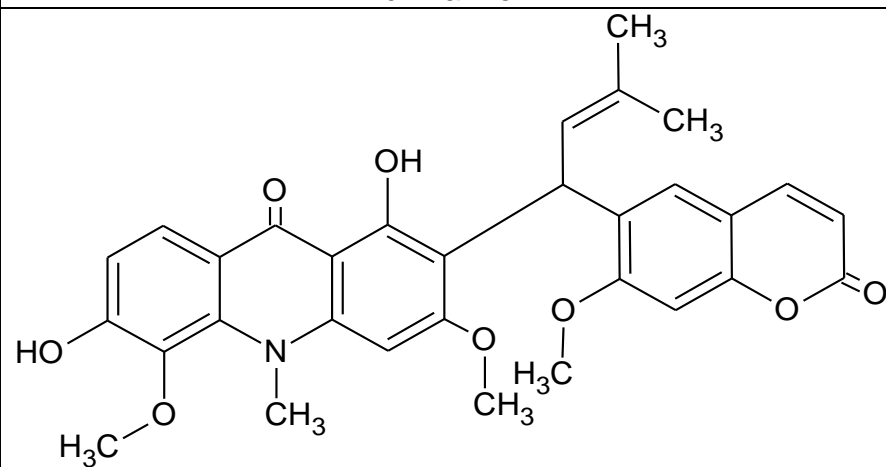
Raíz [66]

$C_{30}H_{27}NO_7$

513,5378

(*C. unshiu* x *C. sinensis*) X *C. iyo*

Raíz [71]



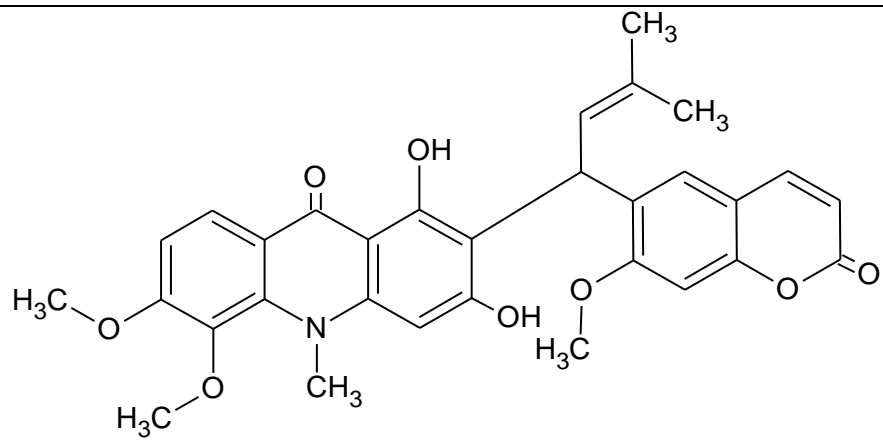
Acrimarine F

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

$C_{31}H_{29}NO_8$

543,5638



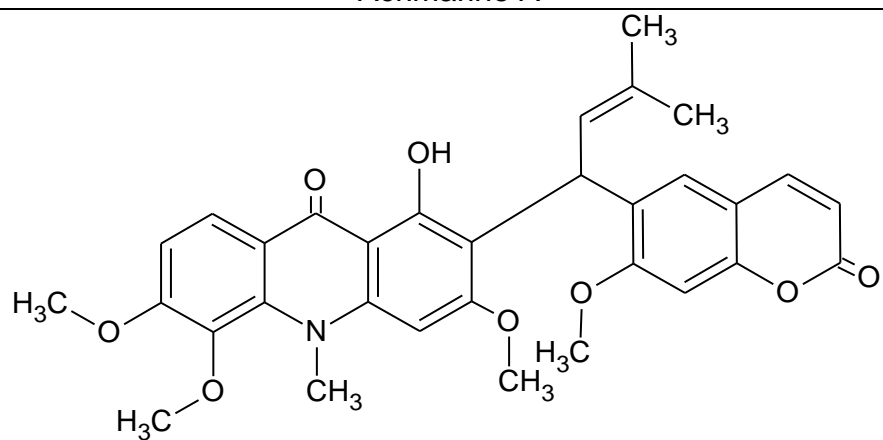
Acrimarine A

C. funadoko

Raíz [115]

$C_{31}H_{25}NO_8$

543,5638



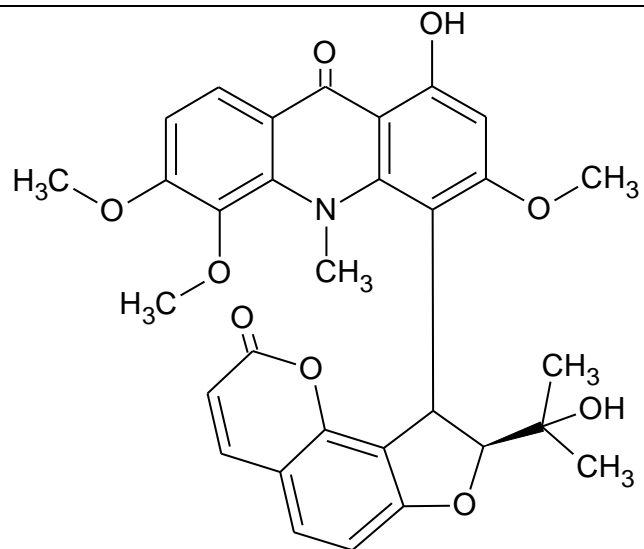
Acrimarine N

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

$C_{32}H_{31}NO_8$

557,5904



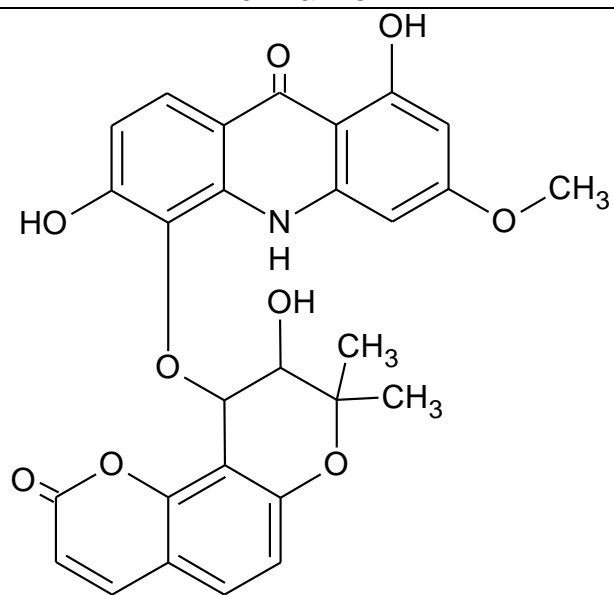
Acrimarine K

C. paradisi

Raíz [116]

$C_{31}H_{29}NO_9$

559,5632



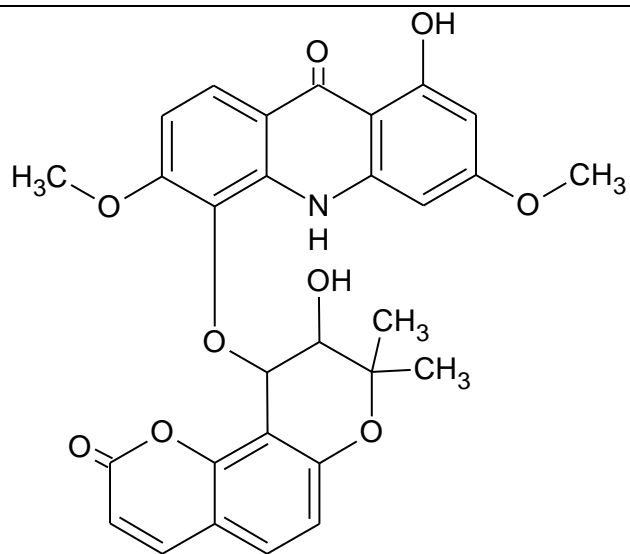
Neoacrimarine J

C. paradisi

Raíz [116]

$C_{28}H_{23}NO_9$

517,4835



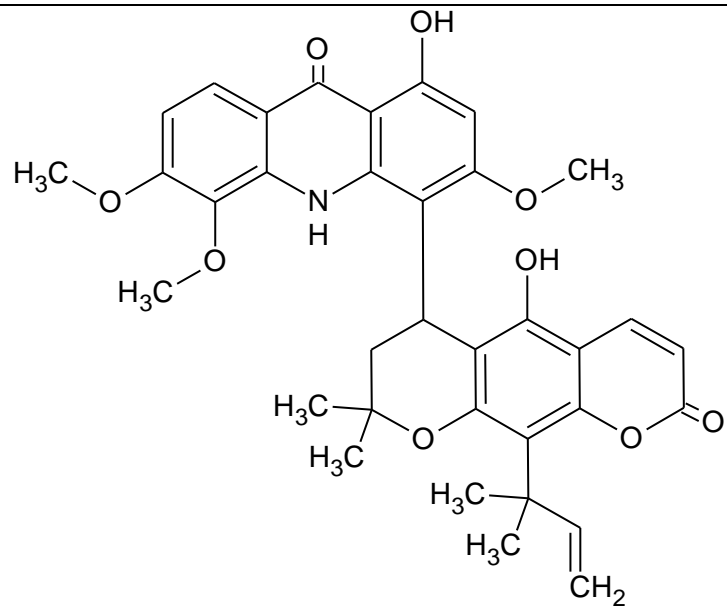
Neoacrimarine I

C. paradisi

Raíz [116]

$C_{29}H_{25}NO_9$

531,5101



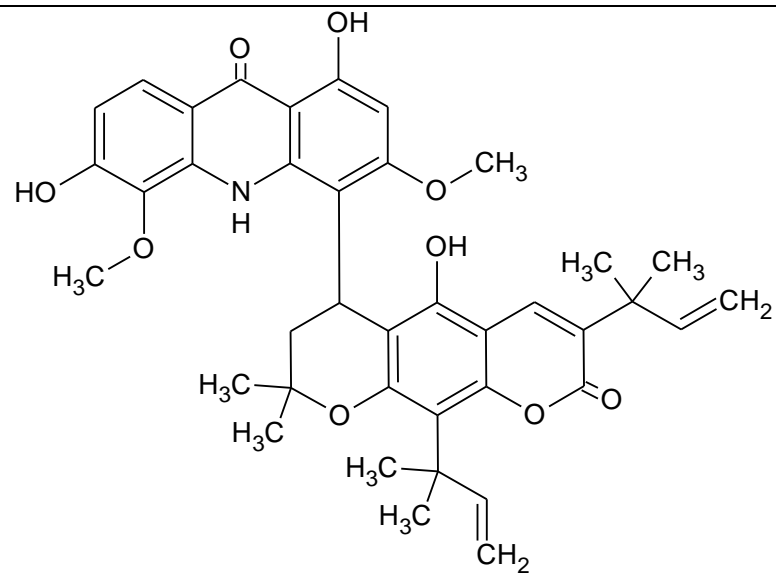
Neoacrimarine E

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

$C_{35}H_{35}NO_9$

613,6537



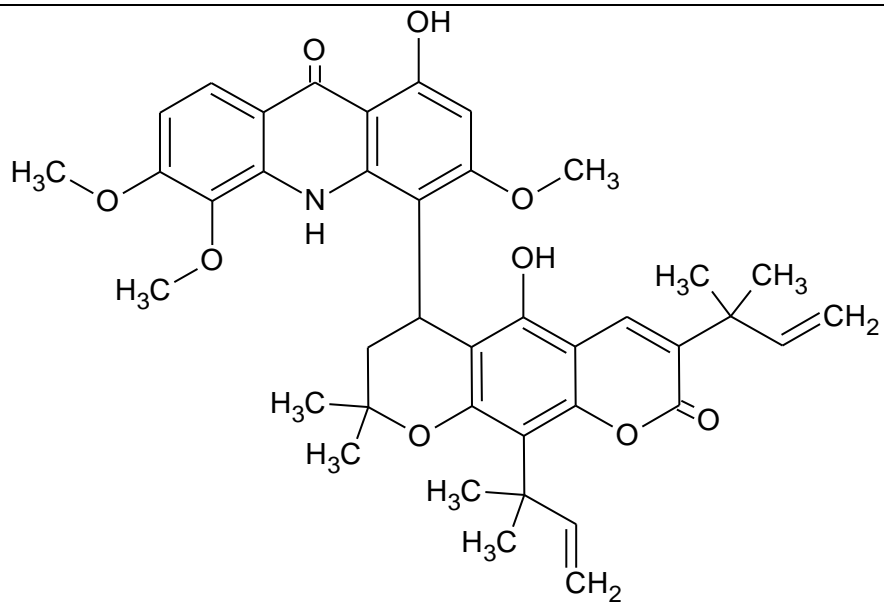
Neoacrimarine B

*C. paradisi x
C. tangerina*

Raíz [66]

$C_{39}H_{41}NO_9$

667,7441



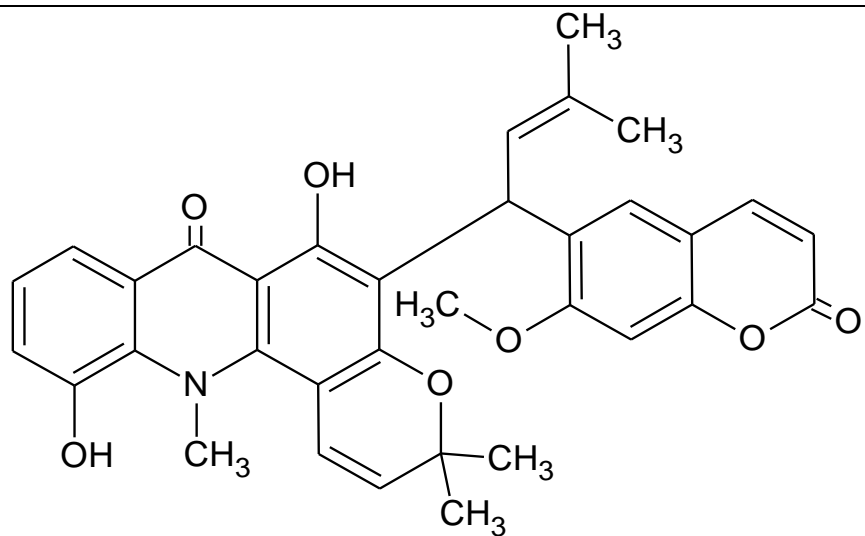
Neoacrimarine A

*C. paradisi x
C. tangerina*

Raíz [66]

$C_{40}H_{43}NO_9$

681,7707



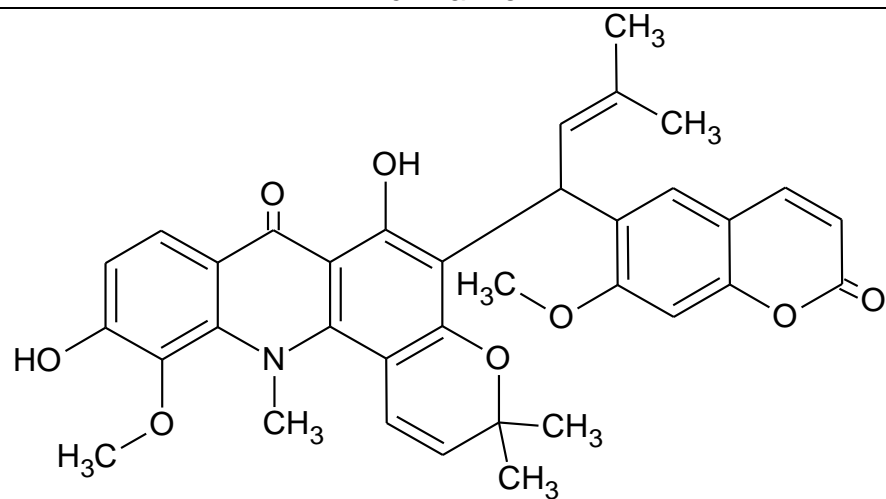
Acrimarine I

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

$C_{34}H_{31}NO_7$

565,6124



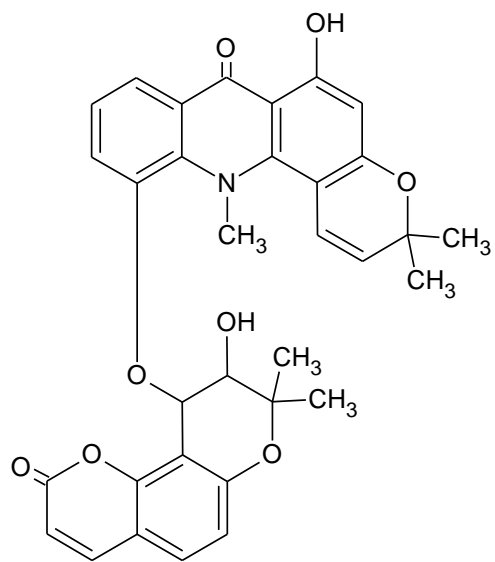
Acrimarine J

C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

$C_{35}H_{33}NO_8$

595,6384



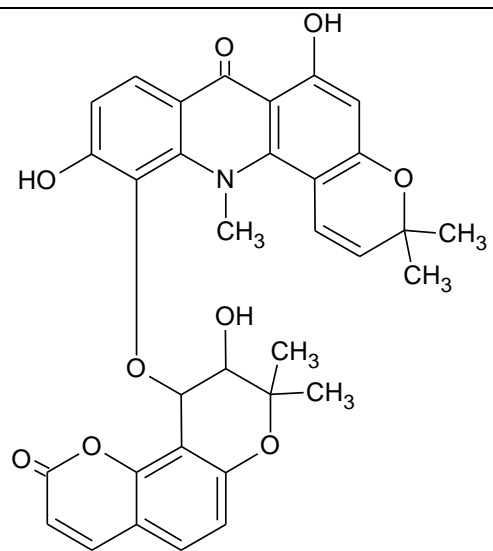
Neoacrimarine H

C. paradisi

Raíz [116]

$C_{33}H_{29}NO_8$

567,5852



Neoacrimarine C

C. paradisi x
C. tangerina

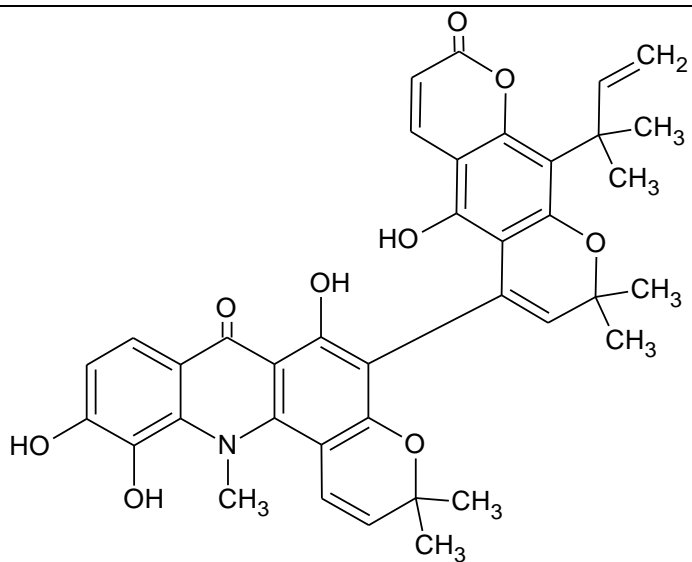
Raíz [66]

$C_{33}H_{29}NO_9$

583,5846

C. hassaku

Raíz [117]



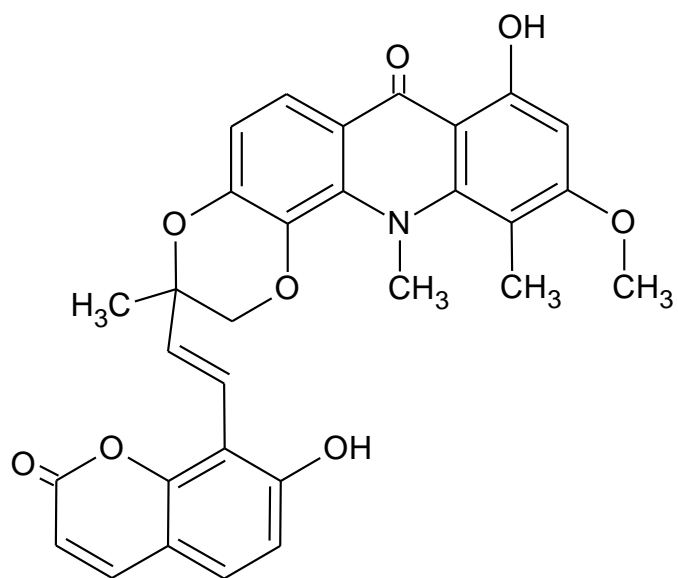
Neoacrimarine D

C. hassaku

Raíz [117]

$C_{38}H_{35}NO_9$

649,6858



Dioxinoacrimarine A

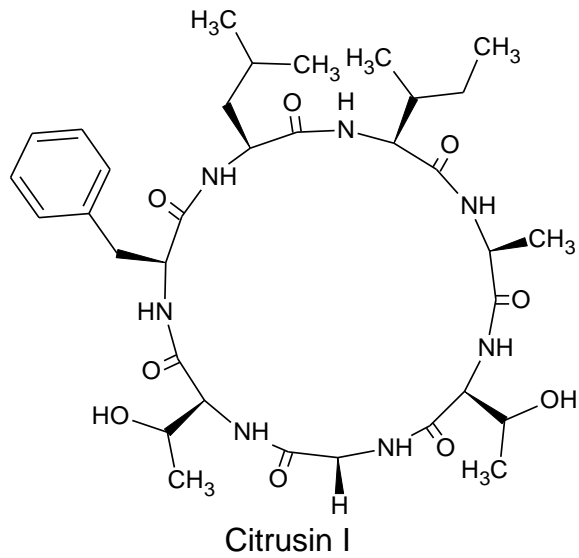
C. paradisi x
C. tangerina

Raíz [66]

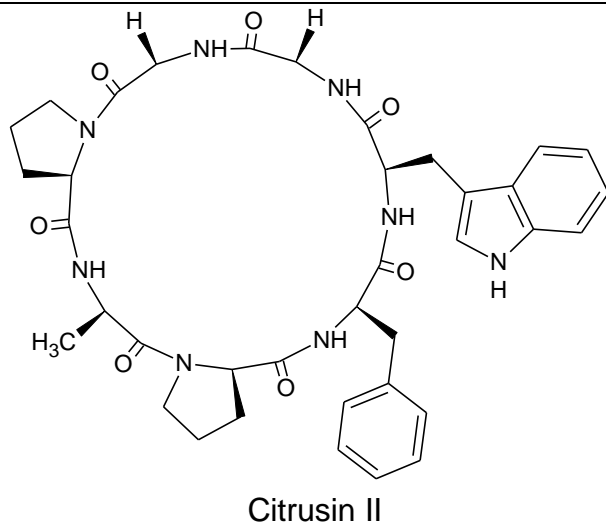
$C_{30}H_{25}NO_8$

527,5214

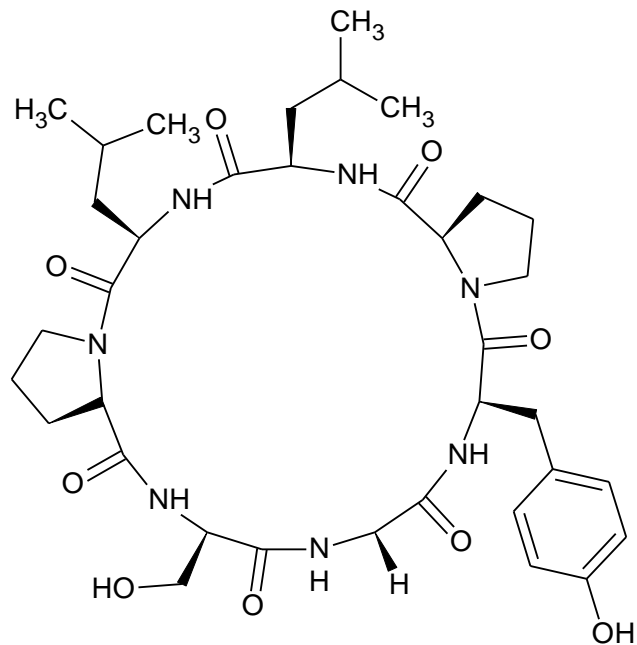
Ciclopeptídeo



<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [118],[119] e folha [120]		
<i>C. aurantium</i>	Fruto [121]		
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [119]	C ₃₅ H ₅₅ N ₇ O ₉	717,8527
<i>C. sulcata</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. shukokan</i>	Casca do fruto [119]		

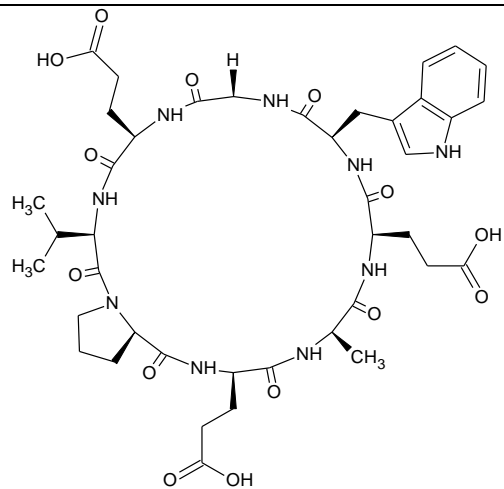


<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [118],[119]	C ₃₇ H ₄₄ N ₈ O ₇	712,7846
<i>C. natsudaidai</i>	Casca do fruto [118],[119]		



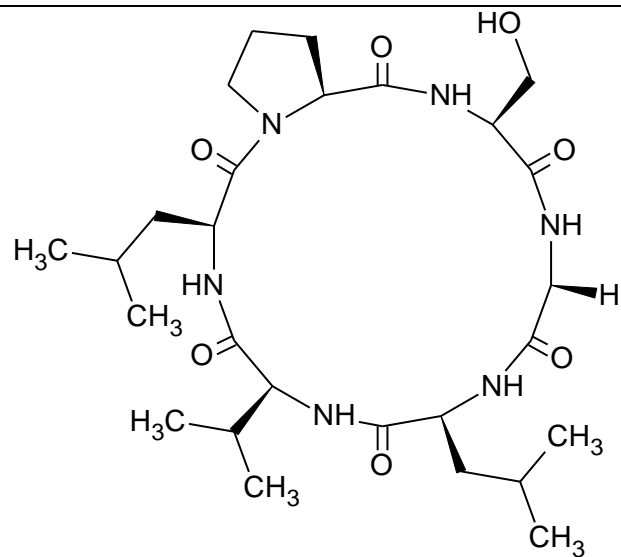
Citrusin III

<i>C. unshiu</i>	Melaço***[41]		
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [118],[119]		
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29]		
<i>C. aurantium</i>	Fruto [121]		
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. sulcata</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [119]	$C_{36}H_{53}N_7O_9$	727,8475
<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. shukokan</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. sphaerocarpa</i>	Casca do fruto [119]		
<i>C. iyo</i>	Casca do fruto [119]		



Citrusin IV

<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [118],[119]	$C_{41}H_{55}N_9O_{14}$	897,9273
--------------------	----------------------------	-------------------------	----------



Citrusin V

C. aurantium

Fruto [121]

C. sulcata

Casca do fruto
[119]

C. paradisi

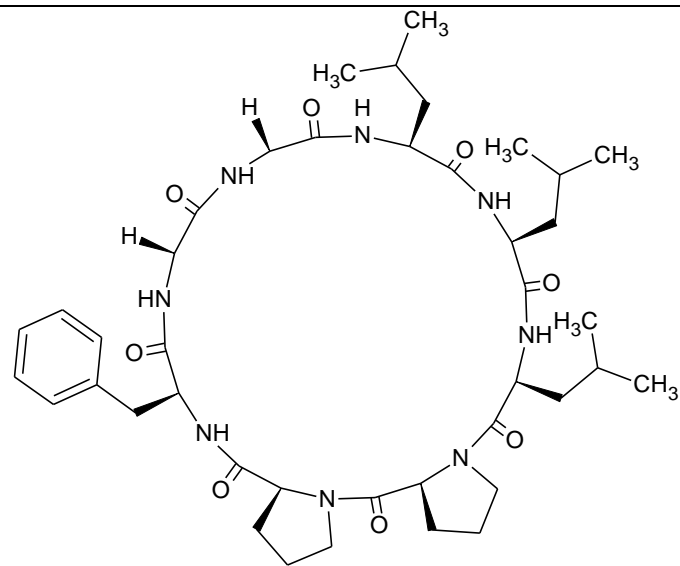
Casca do fruto
[119]

$C_{27}H_{46}N_6O_7$

566,6901

C. iyo

Casca do fruto
[119]



Citrusin VI

C. aurantium

Fruto [121]

C. sulcata

Casca do fruto
[119]

$C_{41}H_{62}N_8O_8$

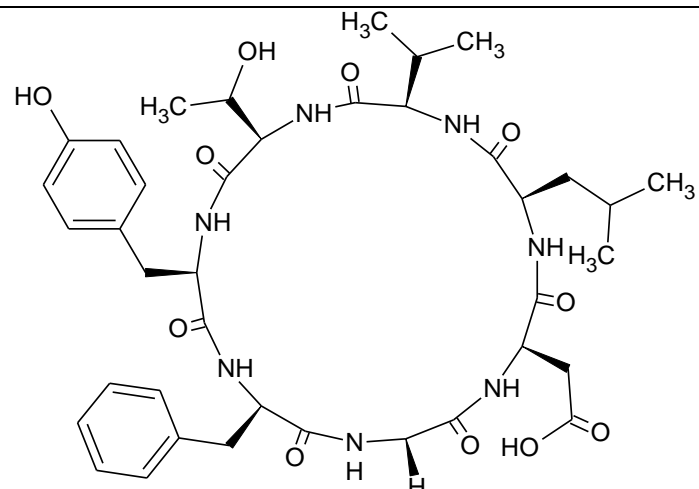
794,9797

C. grandis

Casca do fruto
[119]

C. shukokan

Casca do fruto
[119]



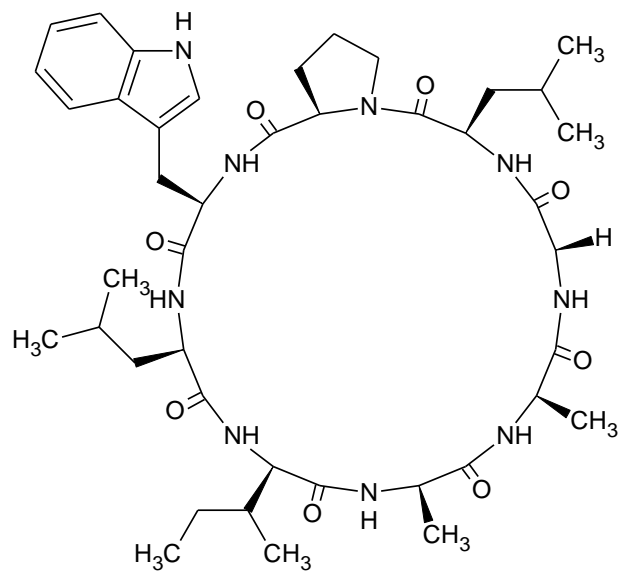
Citrusin VII

C. medica

Casca do fruto
[119],[122]

$C_{39}H_{53}N_7O_{11}$

795,8784



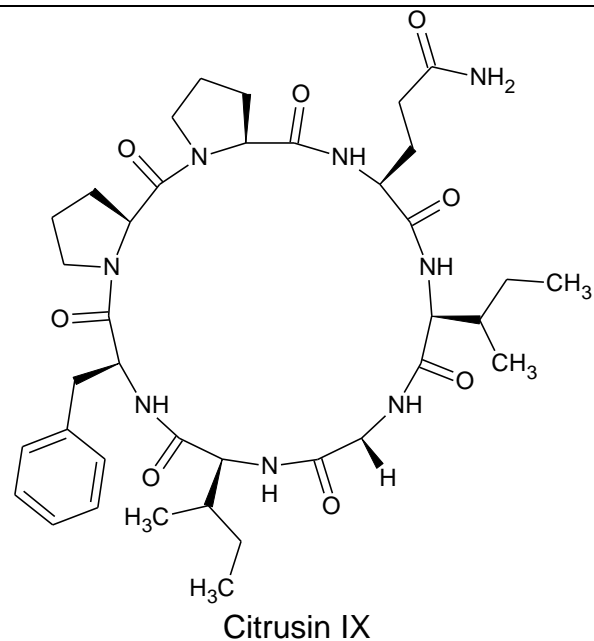
Citrusin VIII

C. medica

Casca do fruto
[119],[122]

$C_{42}H_{63}N_9O_8$

822,0051



C. sudachi

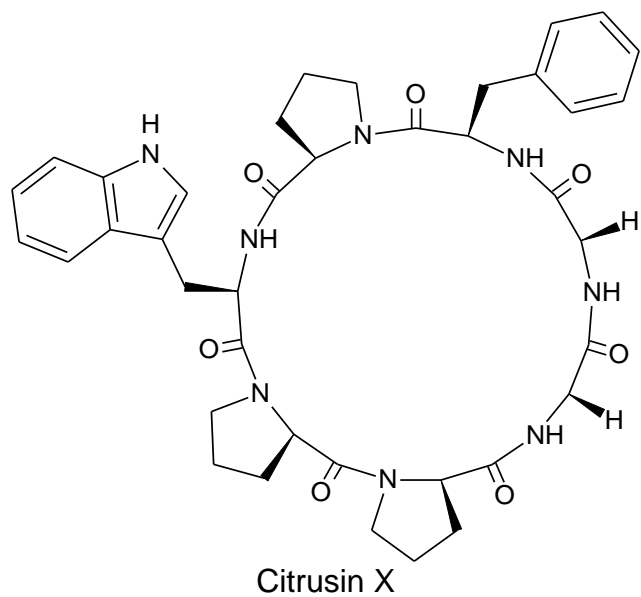
Casca do fruto [29]

$C_{38}H_{56}N_8O_8$

752,9000

C. paradisi

Casca do fruto
[119]

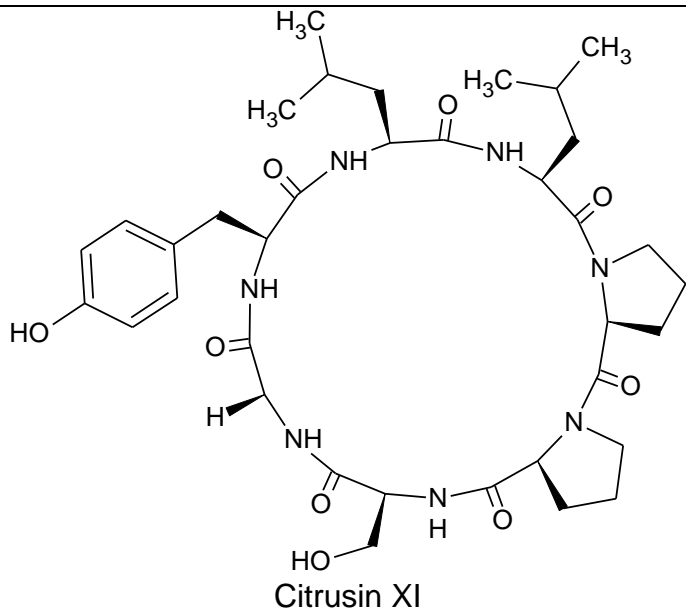


C. grandis

Casca do fruto
[119]

$C_{39}H_{46}N_8O_7$

738,8319

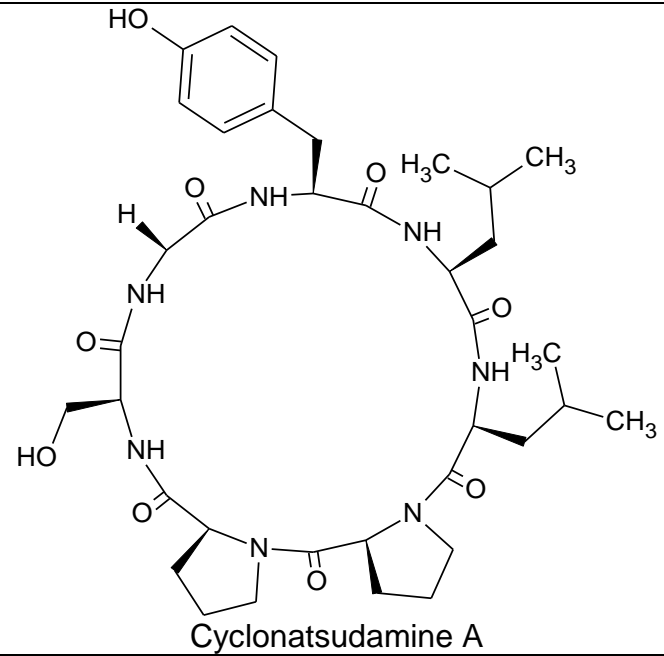


C. unshiu

Fruto [123]

$C_{36}H_{53}N_7O_9$

727,8475

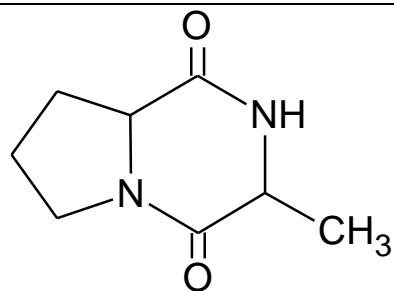


C. natsudaidai

Casca do fruto [124]

$C_{26}H_{53}N_7O_9$

727,8475



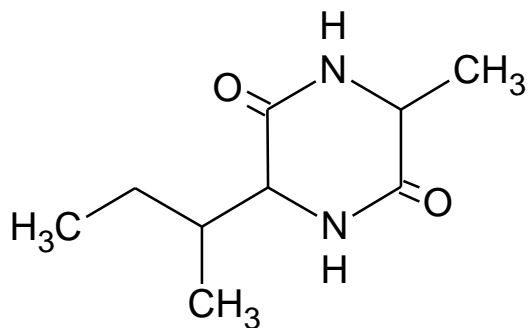
Cyclo-(Pro-Ala)

C. aurantium

Fruto [121]

C₈H₁₂N₂O₂

168,1930



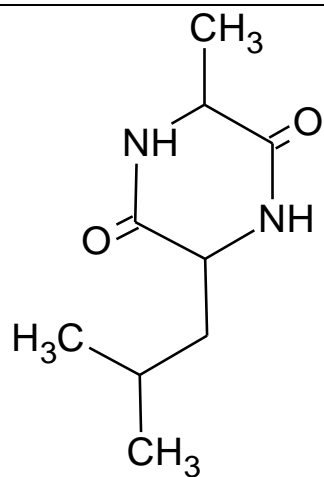
Cyclo-(Ala-Ile)

C. aurantium

Fruto [121]

C₉H₁₆N₂O₂

184,2355



Cyclo-(Ala-Leu)

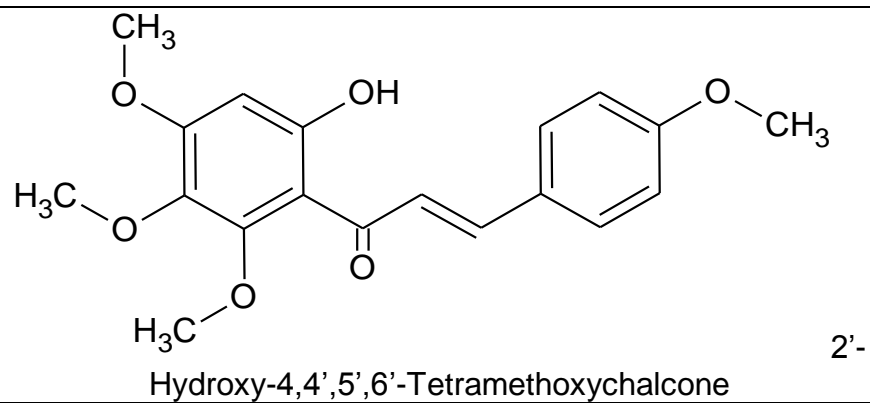
C. aurantium

Fruto [121]

C₉H₁₆N₂O₂

184,2355

Flavanoides

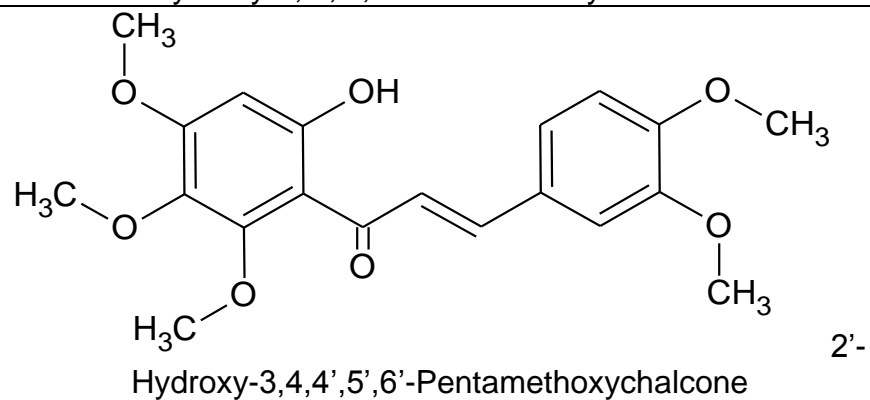


C. kinokuni

Casca do fruto [15]

$C_{19}H_{20}O_6$

344,3585

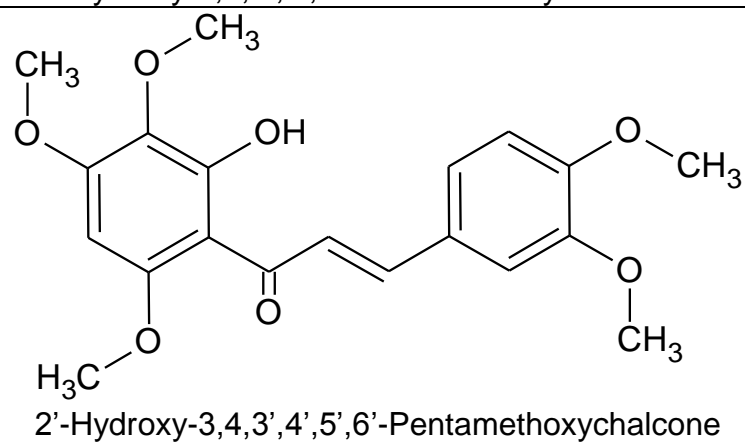


C. sinensis

Casca do fruto
[125]

$C_{20}H_{22}O_7$

374,3844

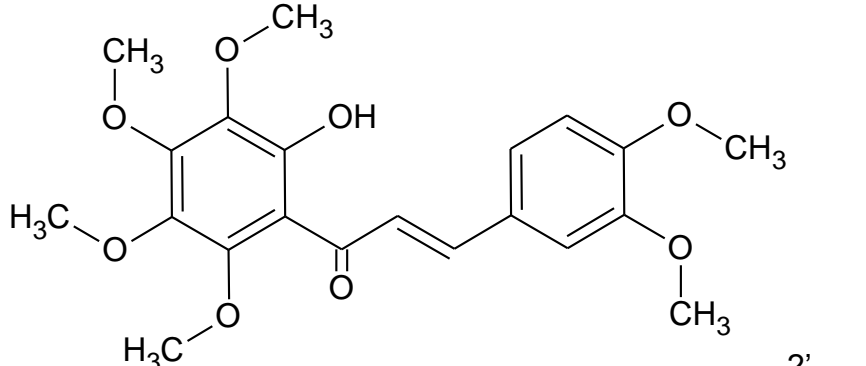
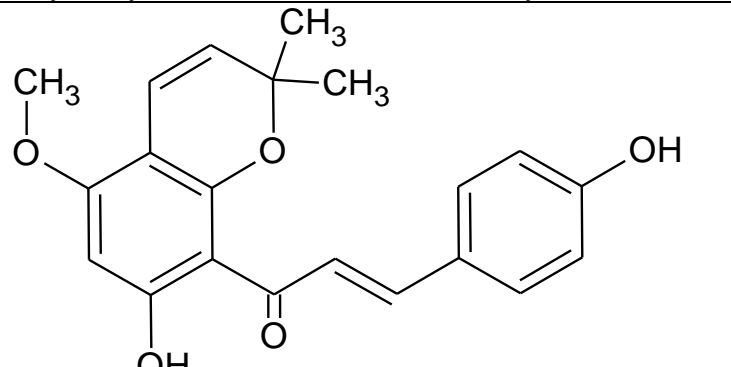
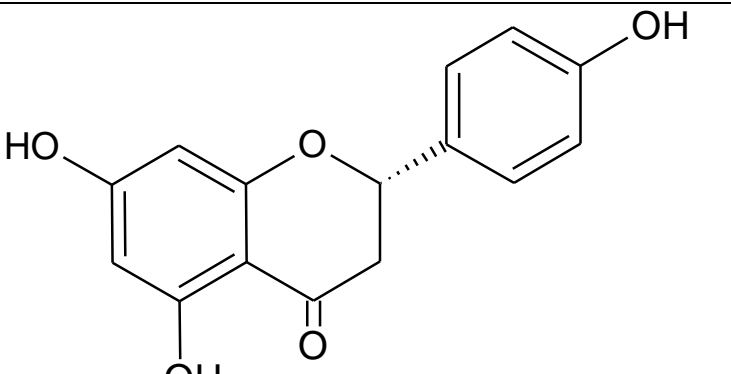


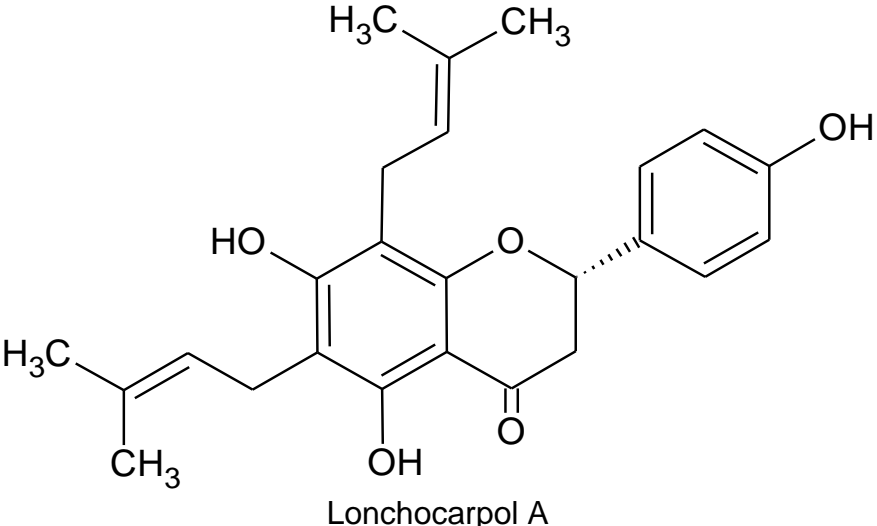
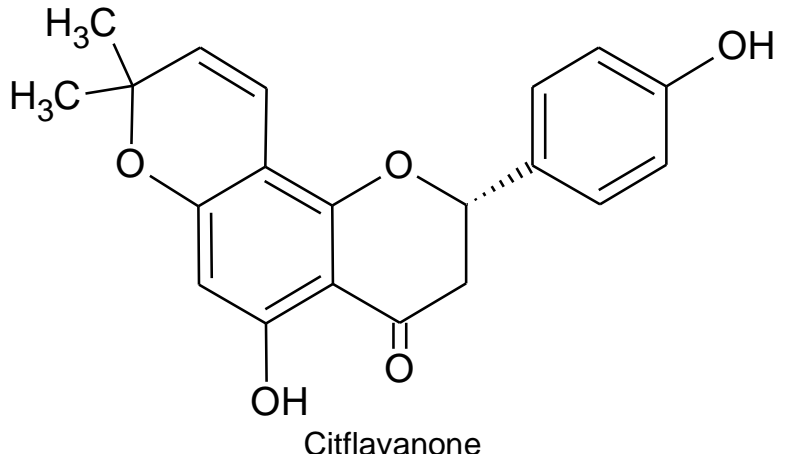
C. kinokuni

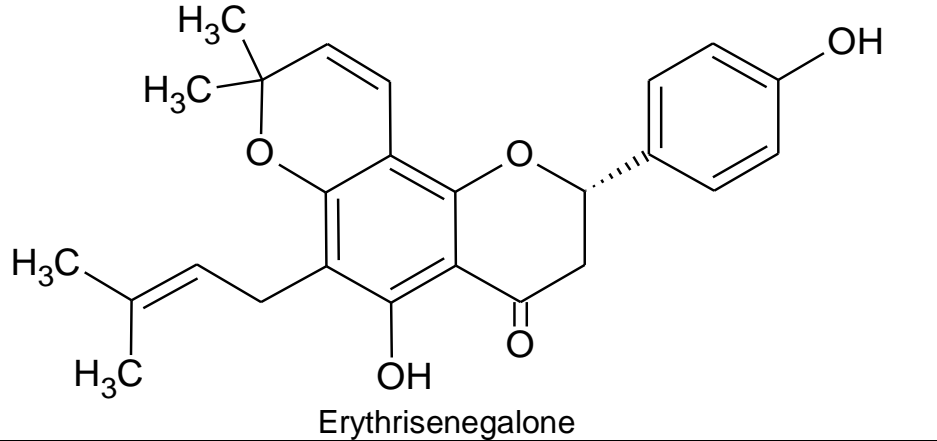
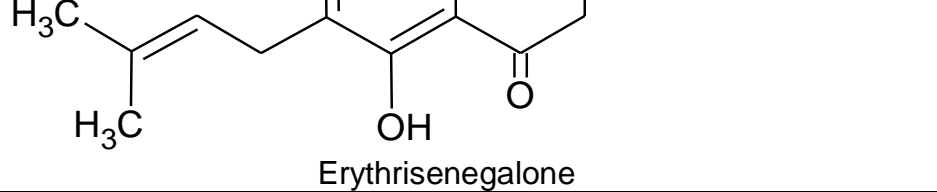
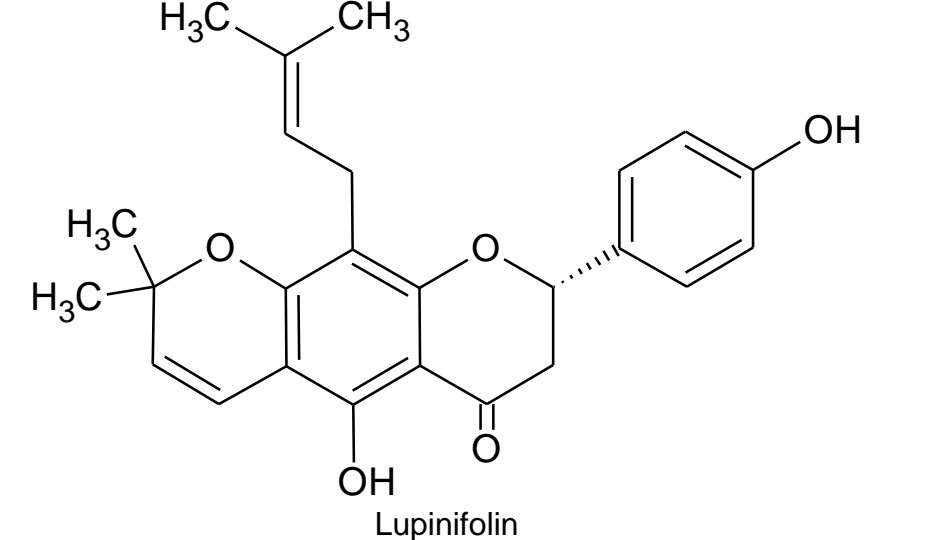
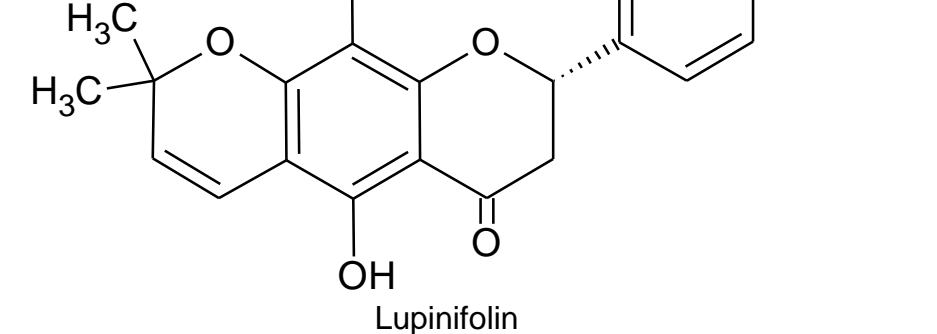
Casca do fruto [15]

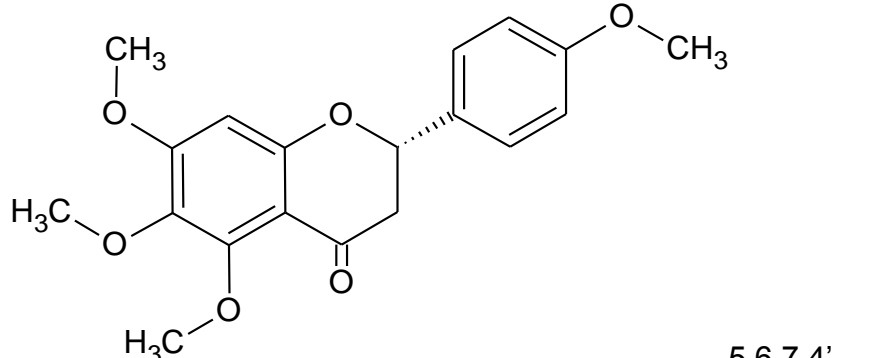
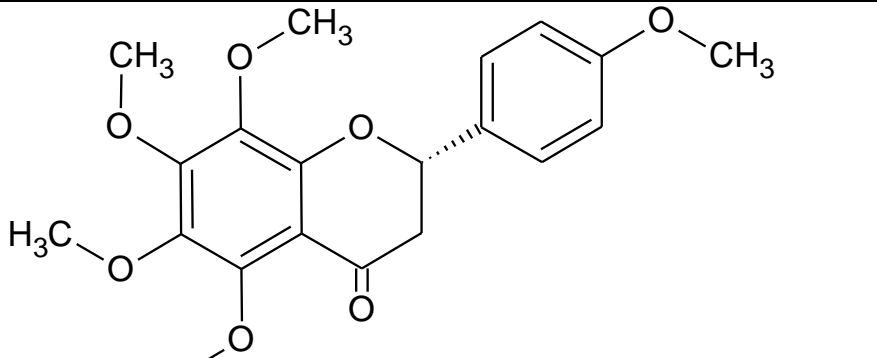
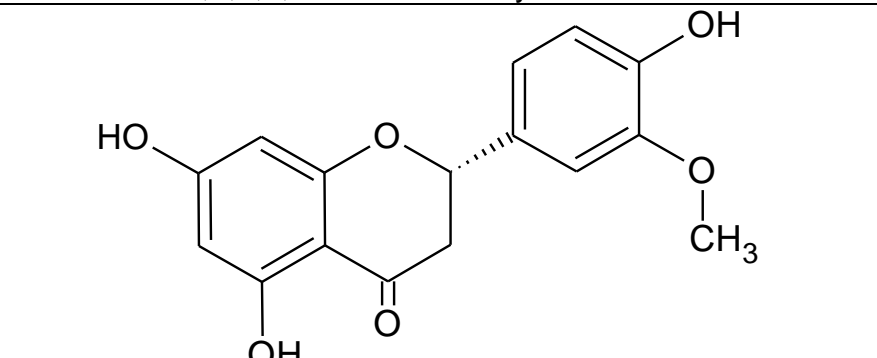
$C_{20}H_{22}O_7$

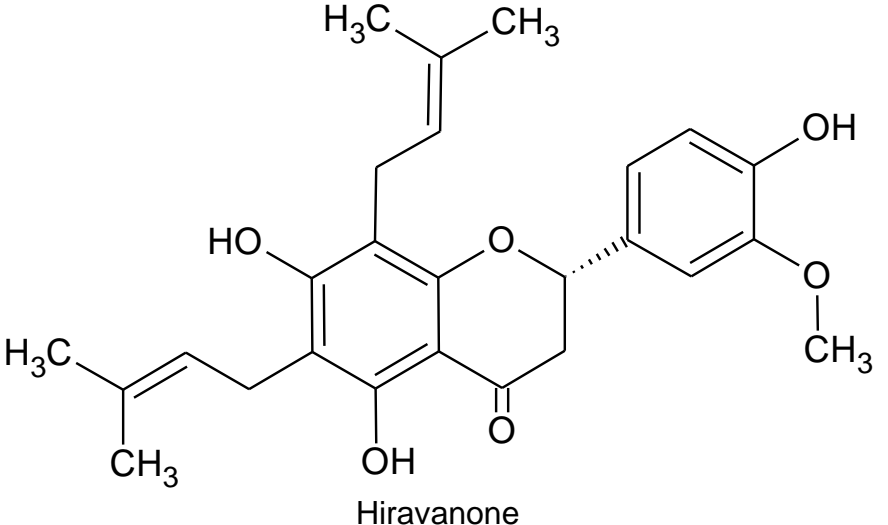
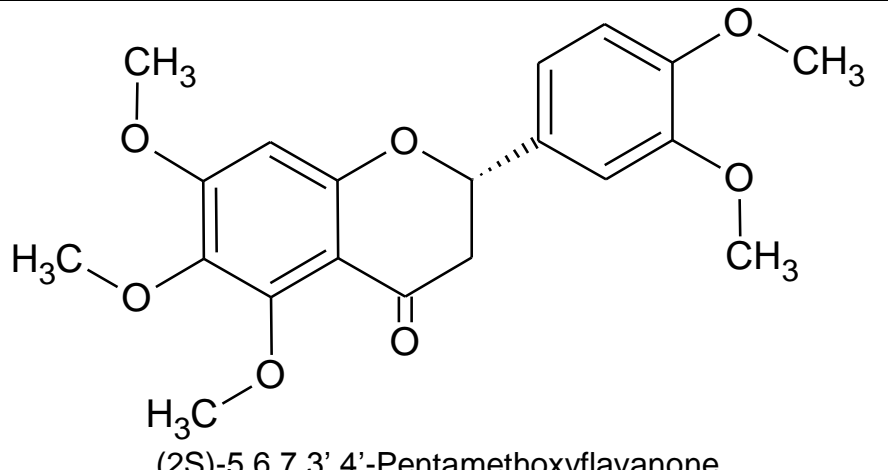
374,3844

 <p>Hydroxy-3,4,3',4',5',6'-Hexamethoxychalcone</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p>Casca do fruto [125]</p> <p><i>C. kinokuni</i></p> <p>Casca do fruto [15]</p>	<p>$C_{21}H_{24}O_8$</p> <p>404,4101</p>
 <p>Citronobutin</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p>Casca da raiz [126]</p> <p><i>C. nobilis</i></p> <p>Casca da raiz [126]</p>	<p>$C_{21}H_{20}O_5$</p> <p>352,3805</p>
 <p>Naringenin</p>	<p><i>C. paradisi</i></p> <p>Suco [127]</p> <p><i>C. aurantium</i></p> <p>Frutos [128]</p>	<p>$C_{15}H_{12}O_5$</p> <p>272,2527</p>

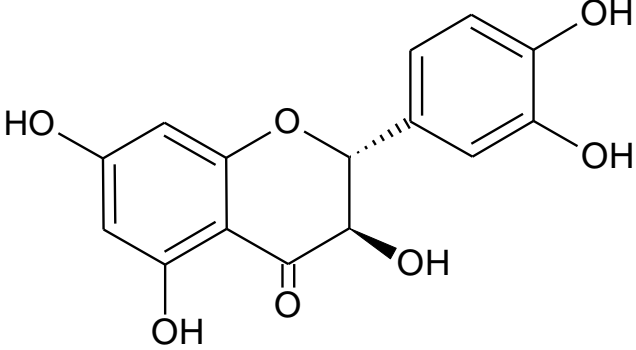
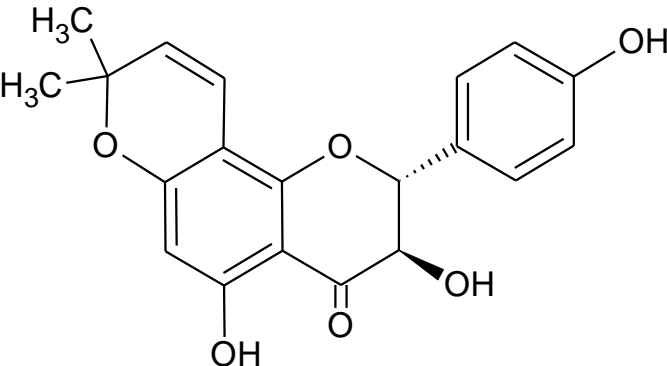
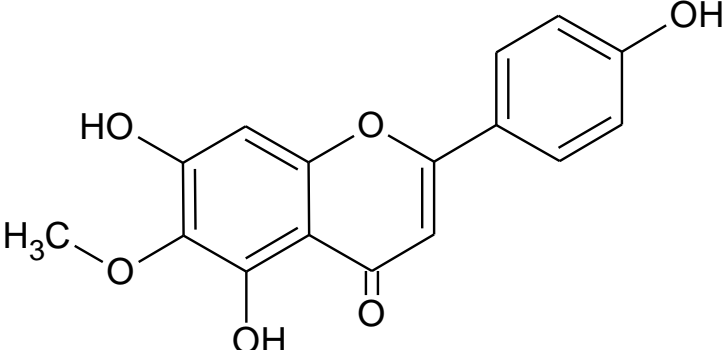
 <p>Lonchocarpol A</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca da raiz [126]	$C_{25}H_{28}O_5$	408,4868
	<i>C. medica</i>	Casca do caule [12]		
 <p>Citflavanone</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca da raiz [126]		
	<i>C. nobilis</i>	Casca da raiz [126]		
	<i>C. natsudaikai</i>	Casca da raiz [68]		
	<i>C. tamurana x</i> <i>C. kinokuni</i>	Casca da raiz [68]	$C_{20}H_{28}O_5$	338,3539
	<i>C. medica</i>	Casca do caule [12]		
	<i>C. paradisi x</i> <i>C. tangerina</i>	Raiz [66]		
	<i>C. reticulata</i>	Casca do galho [21]		

 <p>The structure of Erythrisenegalone features a central benzene ring with a hydroxyl group at the 4-position. It is substituted with a 2,2-dimethyl-1,3-dioxane ring at the 1-position, a 2-hydroxy-6-oxo-1,3-dioxane ring at the 2-position, and a 3-methylbut-3-enyl chain at the 3-position.</p> <p>Erythrisenegalone</p>	<i>C. limonia</i>	Caule e raiz [9]	$C_{25}H_{26}O_5$	406,4709
 <p>The structure of Erythrisenegalone features a central benzene ring with a hydroxyl group at the 4-position. It is substituted with a 2,2-dimethyl-1,3-dioxane ring at the 1-position, a 2-hydroxy-6-oxo-1,3-dioxane ring at the 2-position, and a 3-methylbut-3-enyl chain at the 3-position.</p> <p>Erythrisenegalone</p>	<i>C. medica</i>	Casca da raiz e casca do caule [12]	$C_{25}H_{26}O_5$	406,4709
 <p>The structure of Lupinifolin features a central benzene ring with a hydroxyl group at the 4-position. It is substituted with a 2,2-dimethyl-1,3-dioxane ring at the 1-position, a 2-hydroxy-6-oxo-1,3-dioxane ring at the 2-position, and a 3-(2-methylprop-1-en-1-yl)propyl chain at the 3-position.</p> <p>Lupinifolin</p>	<i>C. limonia</i>	Caule e raiz [9]	$C_{25}H_{26}O_5$	406,4709
 <p>The structure of Lupinifolin features a central benzene ring with a hydroxyl group at the 4-position. It is substituted with a 2,2-dimethyl-1,3-dioxane ring at the 1-position, a 2-hydroxy-6-oxo-1,3-dioxane ring at the 2-position, and a 3-(2-methylprop-1-en-1-yl)propyl chain at the 3-position.</p> <p>Lupinifolin</p>	<i>C. medica</i>	Casca da raiz e casca do caule [12]	$C_{25}H_{26}O_5$	406,4709

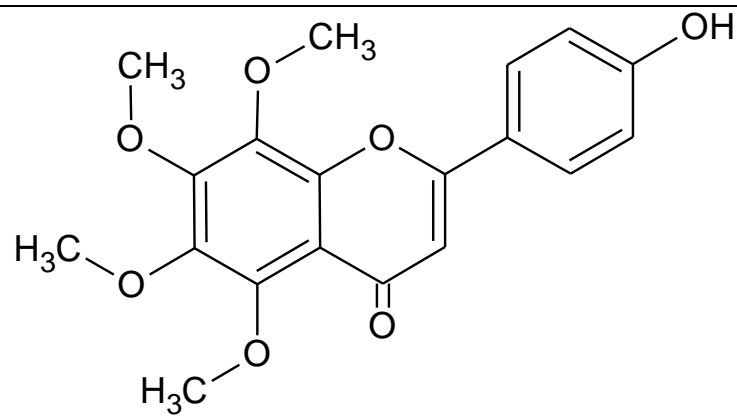
 <p style="text-align: center;">Tetramethoxyflavone</p> <p style="text-align: center;">5,6,7,4'-</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125]	$C_{19}H_{20}O_6$	344,3585
 <p style="text-align: center;">(2S)- 5,6,7,8,4'-Pentamethoxyflavone</p>	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]	$C_{20}H_{22}O_7$	374,3844
 <p style="text-align: center;">Hesperetin</p>	<i>C. paradisi</i> <i>C. aurantium</i>	Suco [127] Frutos [128]	$C_{16}H_{14}O_6$	302,2787

 <p style="text-align: center;">Hiravanone</p>	<i>C. tamurana</i> x <i>C. kinokuni</i>	Casca da raiz [68]	$C_{26}H_{30}O_6$	438,5126
 <p style="text-align: center;">(2S)-5,6,7,3',4'-Pentamethoxyflavanone</p>	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]	$C_{20}H_{22}O_7$	374,3844

	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]	$C_{20}H_{22}O_7$	374,3844
5,7,8,3',4'-pentamethoxyflavanone				
	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]		
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125]	$C_{20}H_{22}O_8$	390,3838
Hydroxy-6,7,8,3',4'-pentamethoxyflavanone (5-O-Demethylcitromitin)	<i>C. mitis</i>	Casca do fruto [129]		
	<i>C. mitis</i>	Casca do fruto [129]	$C_{21}H_{24}O_8$	404,4104
Citromitin				

 <p>Taxifolin</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [127]		
	<i>C. aurantifolia</i>	Suco [127]	$C_{15}H_{12}O_7$	304,2515
	<i>C. paradisi</i>	Suco [127]		
 <p>Yukovanol</p>	<i>C. paradisi x C. tangerina</i>	Raíz [66]		
	<i>C. hystrix</i>	Raíz [35]		
	<i>C. yuko</i>	Raíz [130]	$C_{20}H_{18}O_6$	354,3533
	<i>C. funadoko</i>	Raíz [130]		
	<i>C. hassaku x C. grandis</i>	Raíz [130]		
 <p>Dinatin</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturo [131]	$C_{16}H_{12}O_6$	300,2628

<p>5,4'-Dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone</p>	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [132]	$C_{17}H_{14}O_6$	314,2894
<p>Demethoxysudachitin</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturado [131] e casca do fruto [29]	$C_{17}H_{14}O_7$	330,2888
<p>Xanthomicrol</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturado [131] e casca do fruto [29]	$C_{18}H_{16}O_7$	344,3154



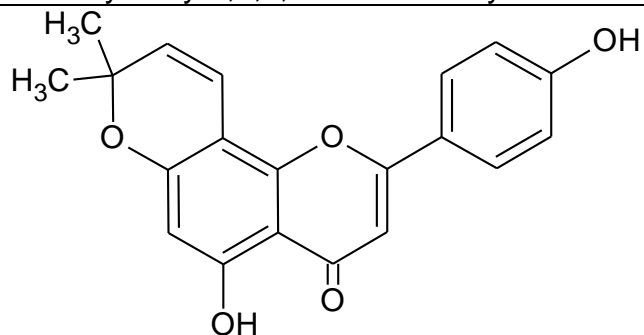
4'-Hydroxy-5,6,7,8-tetramethoxyflavone

C. reticulata

Casca do fruto
[132]

$C_{19}H_{18}O_7$

358,3420



Limonianin (Atalantoflavon)

C. limonia

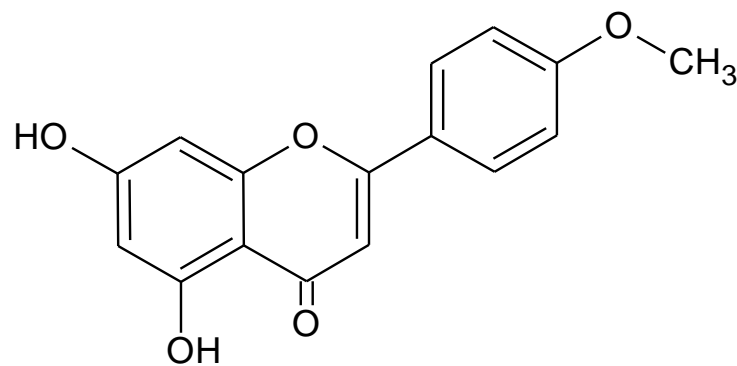
Caule e raiz [9]

$C_{20}H_{16}O_5$

336,3380

C. medica

Casca do caule
[12]



Acacetin

C. reticulata

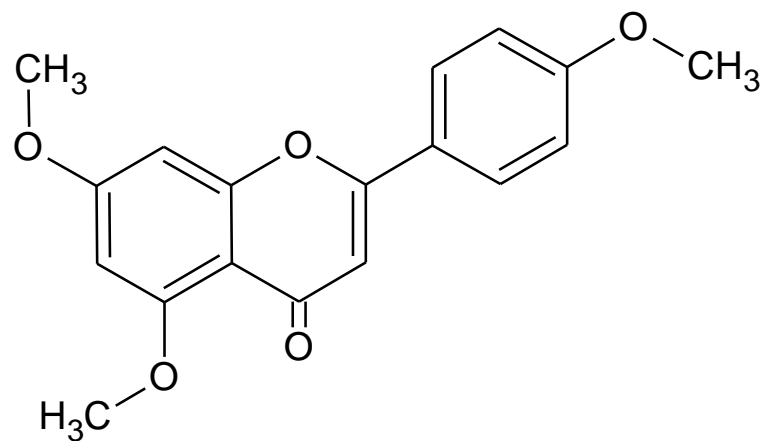
Suco [127]

$C_{16}H_{12}O_5$

284,2634

C. sinensis

Suco [127]



4',5,7-Trimethoxyflavone

C. reticulata

Casca do fruto
[132]

C. limon

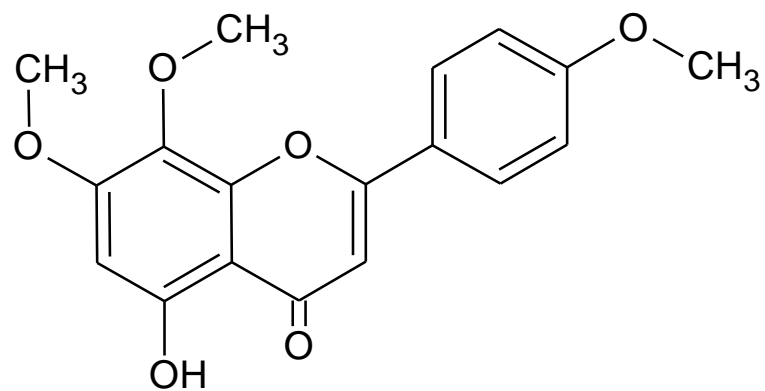
Óleo essencial
[80]

$C_{18}H_{16}O_5$

312,3166

C. hassaku

Casca do fruto
[133]



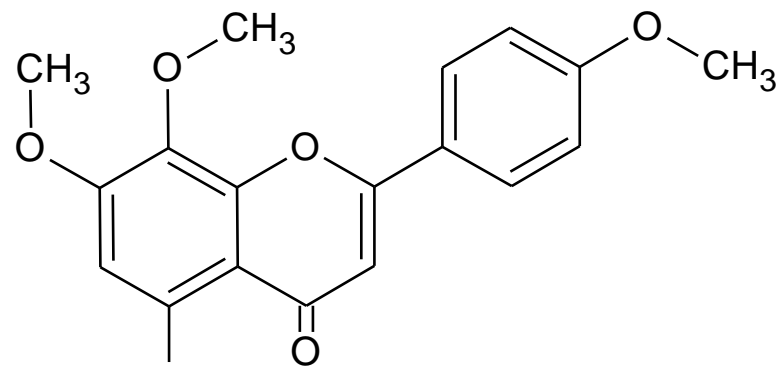
5-Hydroxy-7,8,4'-trimethoxyflavone

C. reticulata

Casca do fruto
[132]

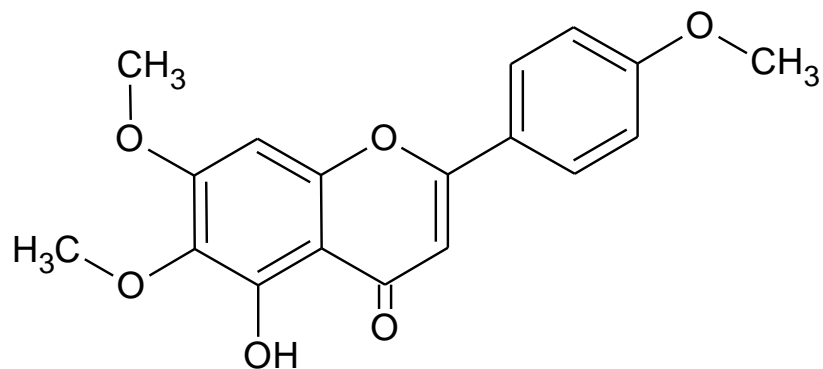
$C_{18}H_{16}O_6$

328,3160



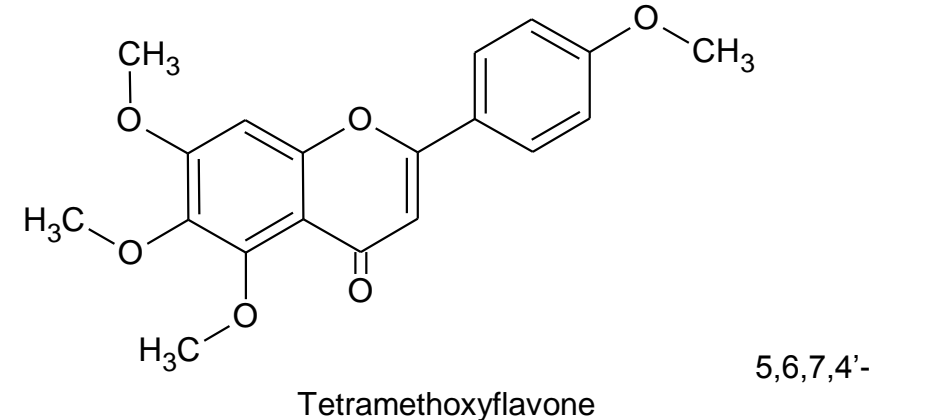
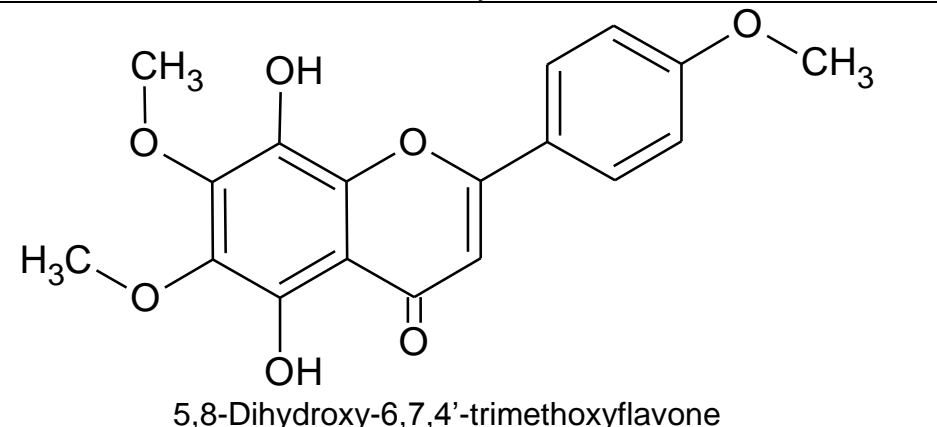
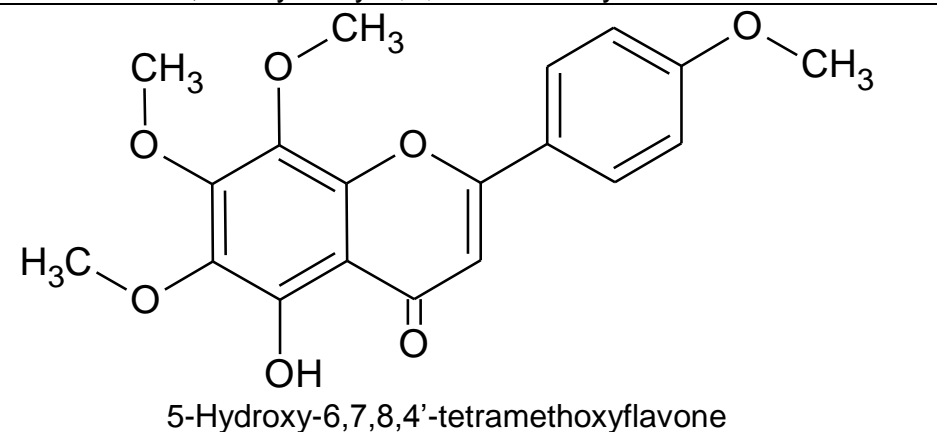
4',5,7,8-Tetramethoxyflavone (6-Demethoxytangeretin)

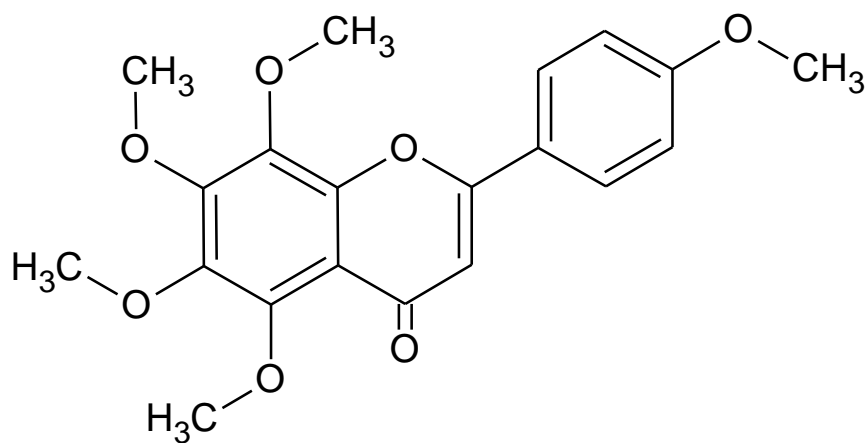
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [16],[128]		
<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]		
<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [21],[132]; e óleo essencial [134]		
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [133]	$C_{19}H_{18}O_6$	342,3426
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [10],[135]		
<i>C. reshni</i>	Casca do fruto fruto [135]		
<i>C. depressa</i>	Casca do fruto [136]		
<i>C. paradisi x C. reticulata</i>	Casca do fruto [10]		



5-Hydroxy-6,7,4'-Trimethoxyflavone

<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125]	$C_{18}H_{16}O_6$	328,3160
--------------------	----------------------	-------------------	----------

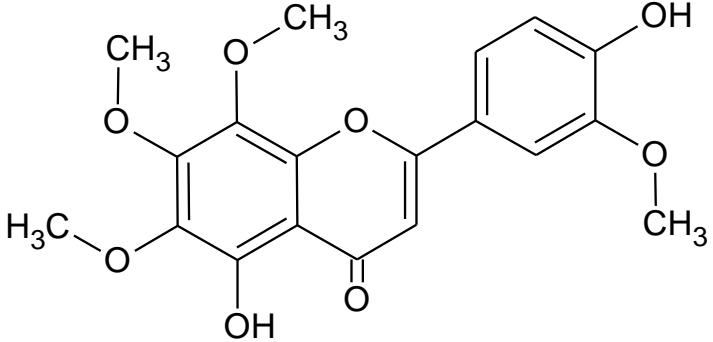
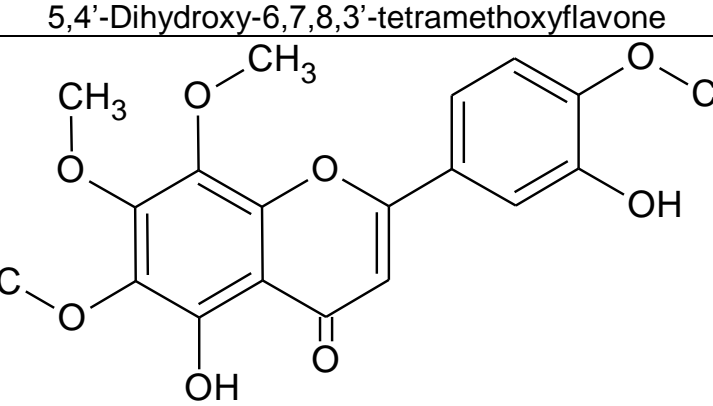
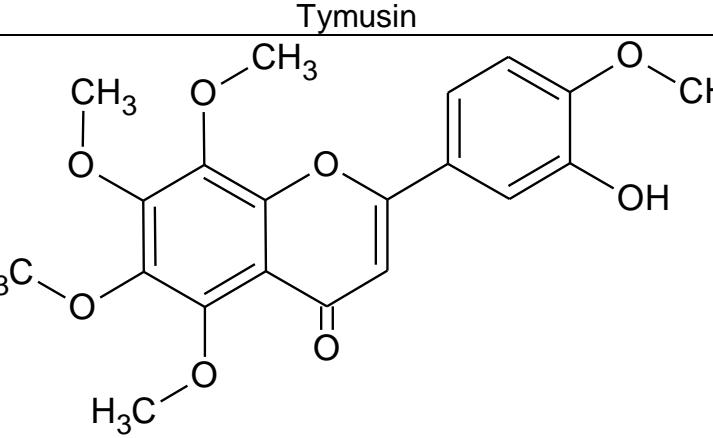
 <p style="text-align: center;">Tetramethoxyflavone</p> <p style="text-align: right;">5,6,7,4'-</p>	<p><i>C. reticulata</i> Óleo essencial [134]</p> <p><i>C. sinensis</i> Casca do fruto [10],[125] e folha [137]</p> <p><i>C. kinokuni</i> Casca do fruto [15] $C_{19}H_{18}O_6$ 342,3426</p> <p><i>C. paradisi x C. reticulata</i> Casca do fruto [10]</p>
 <p style="text-align: center;">5,8-Dihydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone</p>	<p><i>C. sinensis</i> Raízes [138] $C_{19}H_{18}O_7$ 358,3420</p>
 <p style="text-align: center;">5-Hydroxy-6,7,8,4'-tetramethoxyflavone</p>	<p><i>C. kinokuni</i> Casca do fruto [15]</p> <p><i>C. reticulata</i> Casca do fruto [132]</p> <p><i>C. jambhiri</i> Casca do fruto [139]</p> <p><i>C. sinensis</i> Casca do fruto [125] $C_{19}H_{18}O_7$ 358,3420</p> <p><i>C. paradisi x C. reticulata</i> Casca do fruto [10]</p>

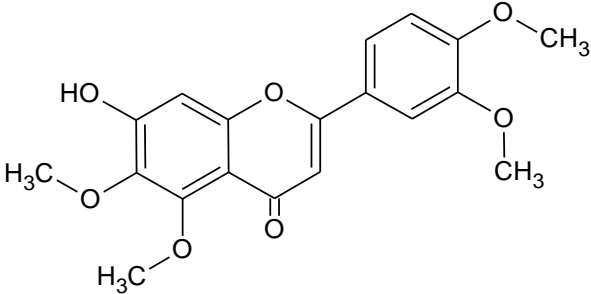
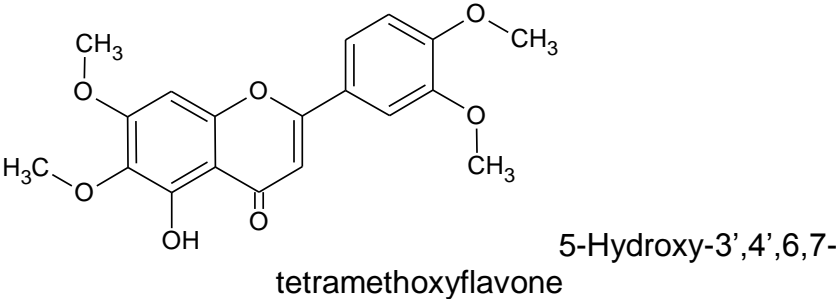
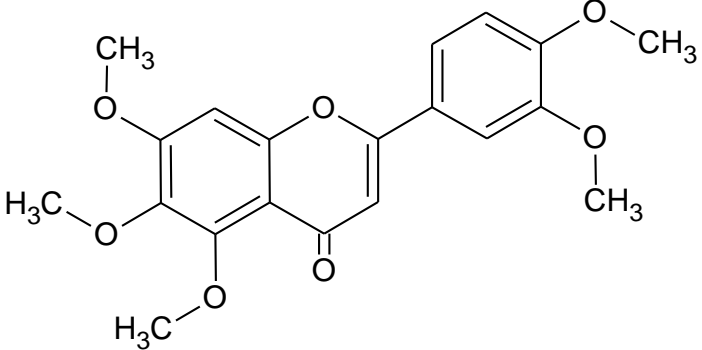


Tangeretin

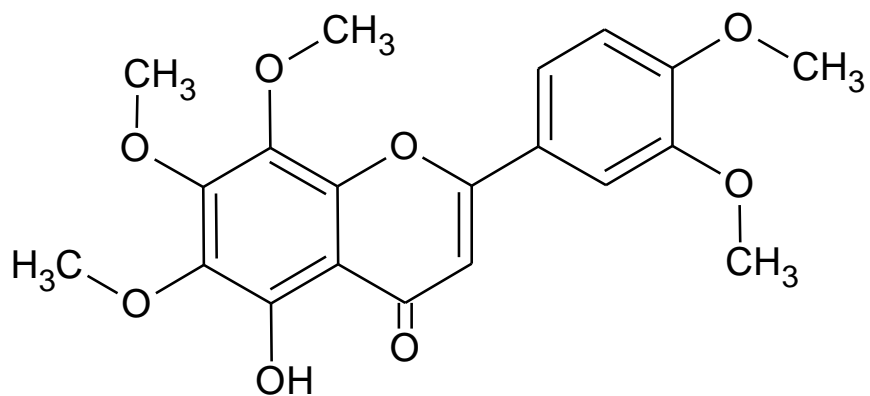
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125],[135]; suco [127]; fruto [140] e folha [9],[137]		
<i>C. depressa</i>	Casca do fruto [136]		
<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [88] e folha [137]		
<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [88] e fruto [140]		
<i>C. aurantifolia</i>	Casca do fruto [88]		
<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [88]; óleo essencial [134]; semente; polpa; casca do fruto [21],[141]; endocarpo; mesocarpo [141] e folha [21]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]		
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [133]		
<i>C. reshni</i>	Casca do fruto [135]		
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [16],[139]		

<p>Luteolin</p>	<i>C. limon</i>	Suco [127]	$C_{15}H_{10}O_6$	286,2363
	<i>C. aurantifolia</i>	Suco [127]		
<p>5,7,4'-Trihydroxy-6,3'-dimethoxyflavone</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturo [131] e casca do fruto [29]	$C_{17}H_{14}O_7$	330,2888
<p>Sudachitin</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturo [131] e casca do fruto [29]	$C_{18}H_{16}O_8$	360,3148
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [132]		

 <p>5,4'-Dihydroxy-6,7,8,3'-tetramethoxyflavone</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturo [131] e casca do fruto [29]	$C_{19}H_{18}O_8$	374,3414
 <p>Tymusin</p>	<i>C. reticulata</i>	Folha [21]	$C_{19}H_{18}O_8$	374,3414
 <p>3'-Hydroxy-4',5,6,7,8-Pentamethoxyflavone</p>	<i>C. reticulata</i>	Folha [142]	$C_{20}H_{20}O_8$	388,368

 <p>7-Hydroxy-3',4',5,6'-tetramethoxyflavone</p>	<i>C. reticulata</i>	Folha [142]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
 <p>5-Hydroxy-3',4',6,7-tetramethoxyflavone</p>	<i>C. sinensis</i>	Folha [9]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [132]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
	<i>C. sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Raíz [7]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
 <p>Sinensetin</p>	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [132]; óleo essencial [134] e suco [127]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [133]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. depressa</i>	Casca do fruto [136]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125],[135]; suco [127]; fruto [140] e folha [9],[137]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. reshni</i>	Casca do fruto [135]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. paradisi</i>	Fruto [140]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. aurantium</i>	Folha [137]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686

	<i>C. sinensis</i>	Folha [9]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
5-Hydroxy-3',4',7,8-tetramethoxyflavone				
	<i>C. sinensis</i>	Folha [9]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
5-Demethoxynobiletin				
	<i>C. sinensis</i>	Folha [137] e casca do fruto [10]		
6-Demethoxynobiletin	<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
	<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [133]		
	<i>C. paradisi x</i> <i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [10]		
	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [120]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
	<i>C. depressa</i>	Casca do fruto [136]		
	<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [139]		
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto [132]		
	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]		



5-Demethylnobiletin

C. sinensis

Folha [137] e
casca do fruto
[125]

C. kinokuni

Casca do fruto [15]

C. depressa

Casca do fruto
[136]

C. reticulata

Casca do fruto
[132],[21] e folha
[21]

C. jambhiri

Casca do fruto
[139]

C. paradisi x

C. reticulata

Casca do fruto [10]

C. aurantium

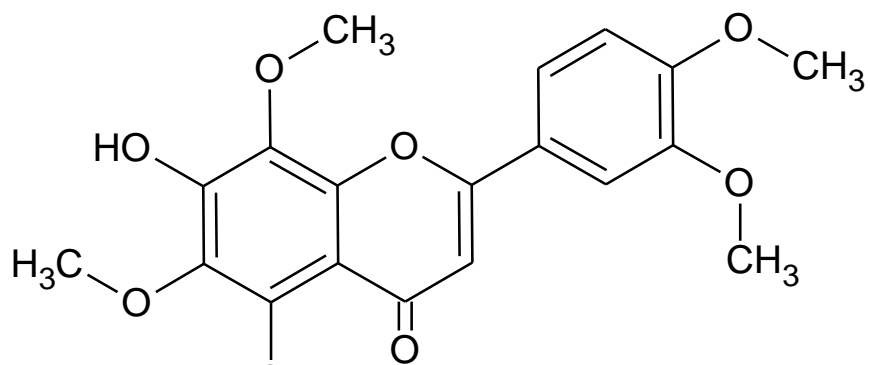
Folha [137]

C. reticulata

Óleo essencial
[134]

$C_{20}H_{20}O_8$

388,368



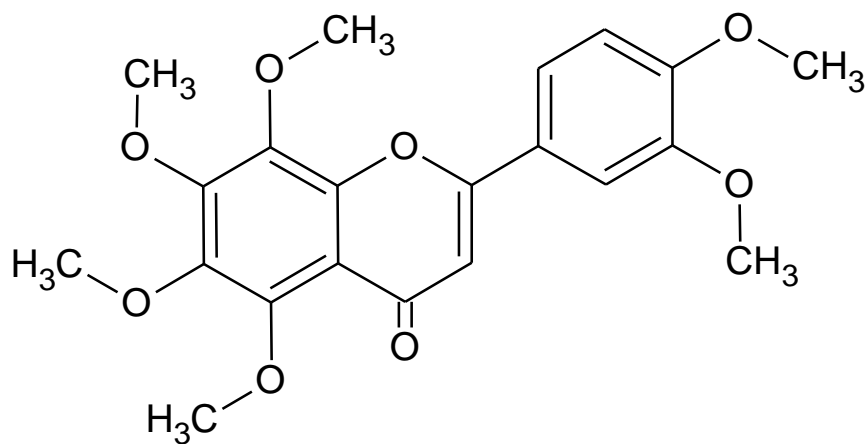
7-Hydroxy-5,6,8,3',4'-pentamethoxyflavone

C. kinokuni

Casca do fruto [15]

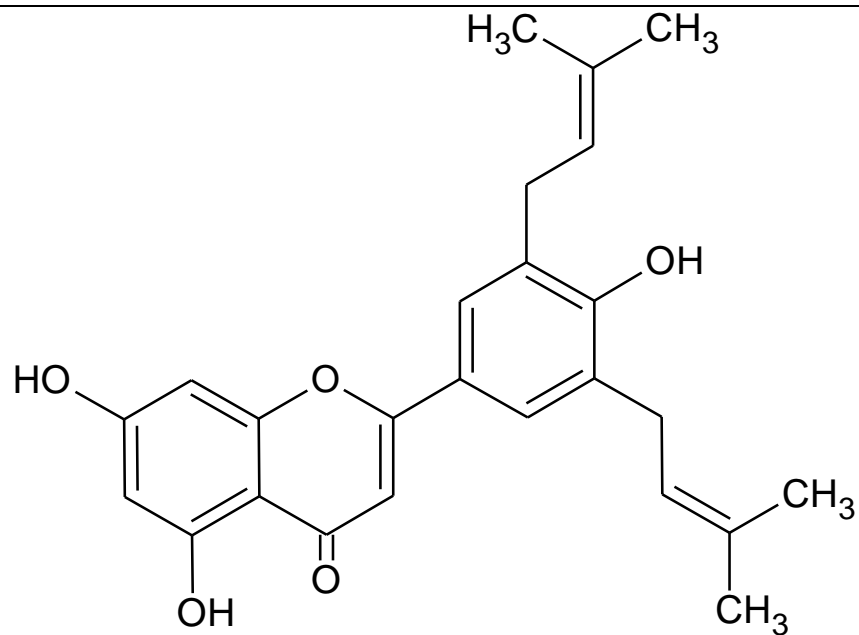
$C_{20}H_{20}O_8$

388,368



Nobiletin

<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]		
<i>C. aurantium</i>	Folha [137]; casca do fruto [88]		
<i>C. paradisi</i>	Casca do fruto [88]; fruto [140]		
<i>C. aurantifolia</i>	Casca do fruto [88]		
<i>C. reticulata</i>	Óleo essencial [134]; casca do fruto [21],[88], [141]; semente; polpa; mesocarpo; endocarpo [141] e folha [21]	$C_{21}H_{22}O_8$	402,3945
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125], [135]; folha [9],[137]; suco [127]; fruto [140] e caule [9]		
<i>C. reshni</i>	Casca do fruto [135]		
<i>C. depressa</i>	Casca do fruto [136]		
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [139]		



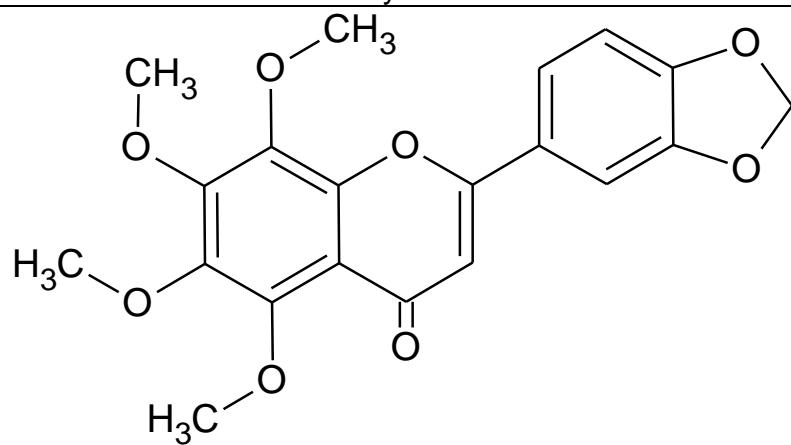
Honyucitrin

C. grandis

Casca da raíz [76]

$C_{25}H_{26}O_5$

406,4709



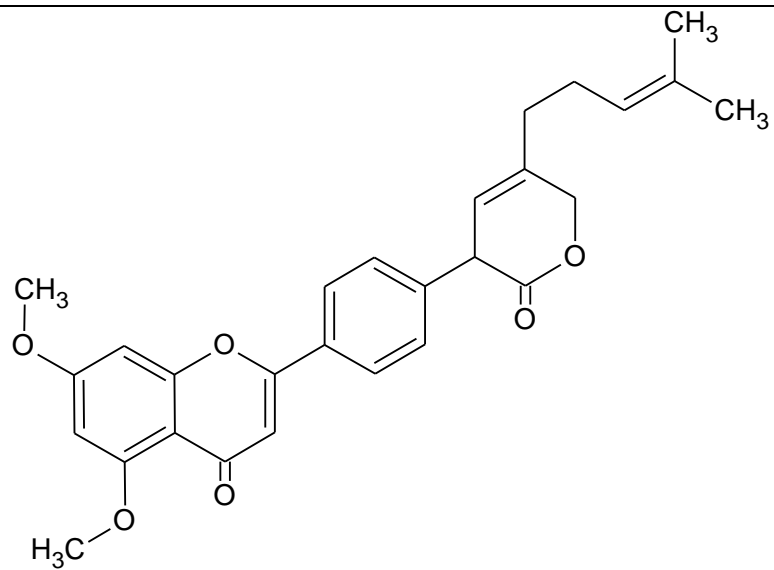
Lucidin dimethyl ether

C. reticulata

Fruto [143]

$C_{20}H_{18}O_8$

386,3521



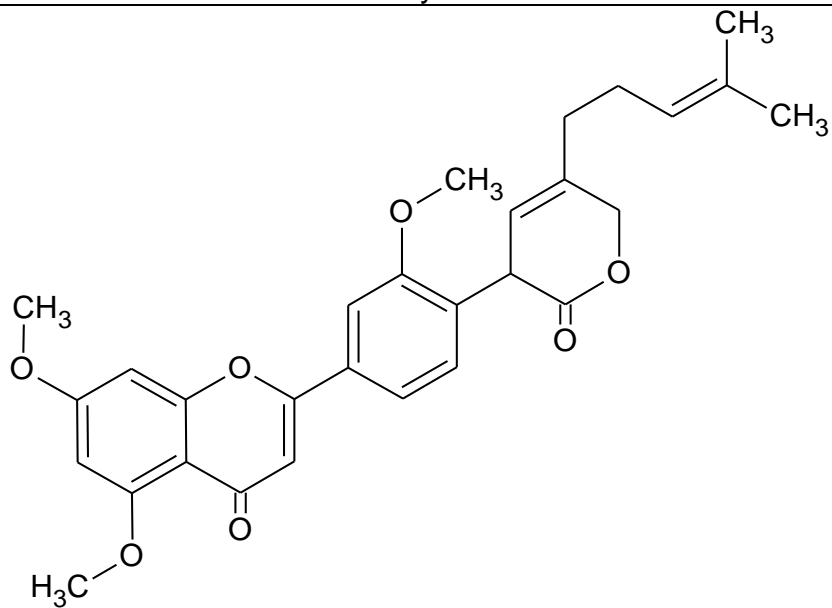
Limonflafonyl lactone A

C. limon

Casca do fruto
[144]

$C_{28}H_{28}O_6$

460,5183



Limonflafonyl lactone B

C. limon

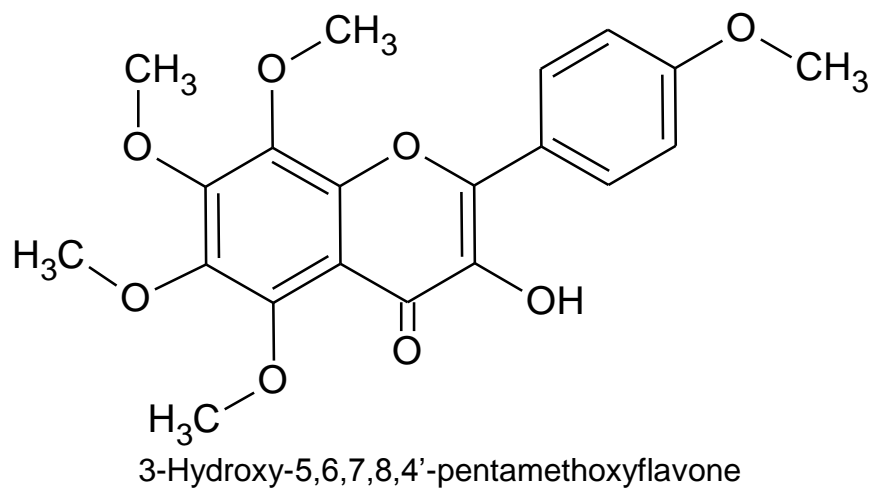
Casca do fruto
[144]

$C_{29}H_{30}O_7$

490,5443

	<i>C. aurantium</i>	Suco [127]	$C_{15}H_{10}O_6$	286,2363
Kaempferol	<i>C. aurantifolia</i>	Cultura celular de calo [145]		
	<i>C. paradisi</i>	Suco [127]	$C_{15}H_{10}O_7$	302,2357
Quercetin				
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
Hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone				

3-



C. sinensis

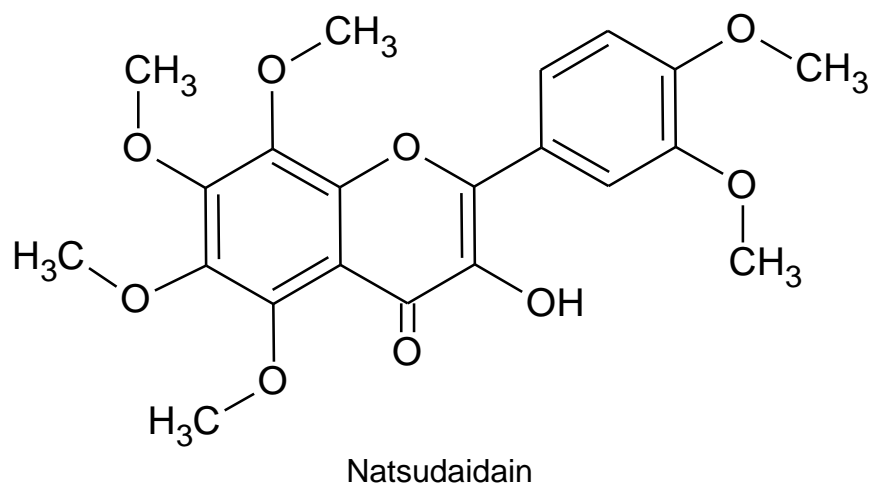
Casca do fruto
[125]

$C_{20}H_{20}O_8$

388,368

C. kinokuni

Casca do fruto [15]



C. aurantifolia

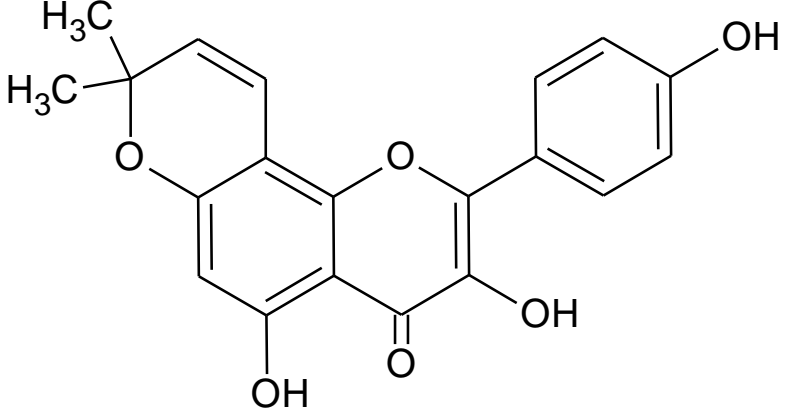
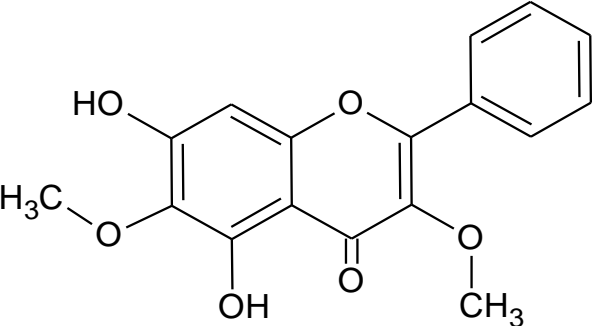
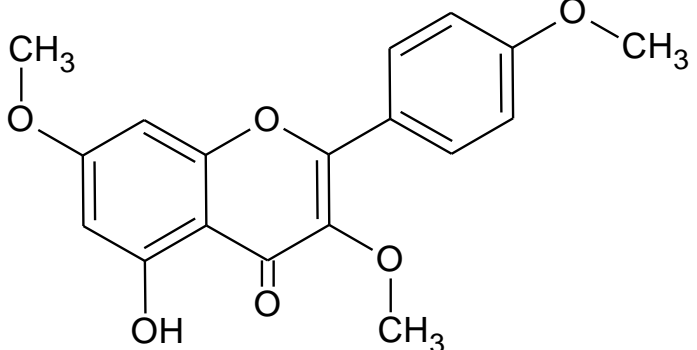
Suco [127]

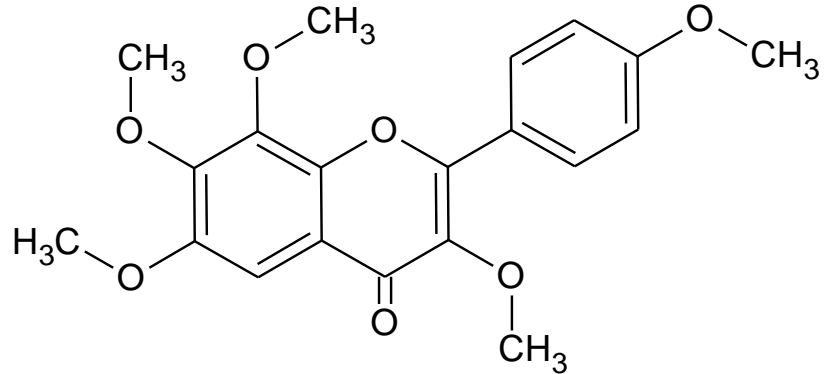
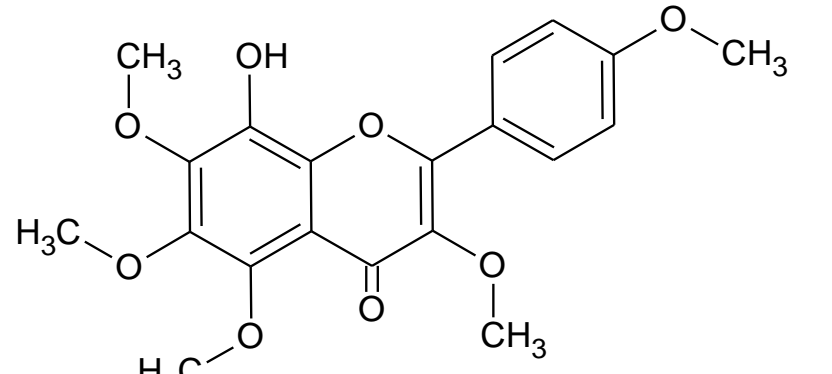
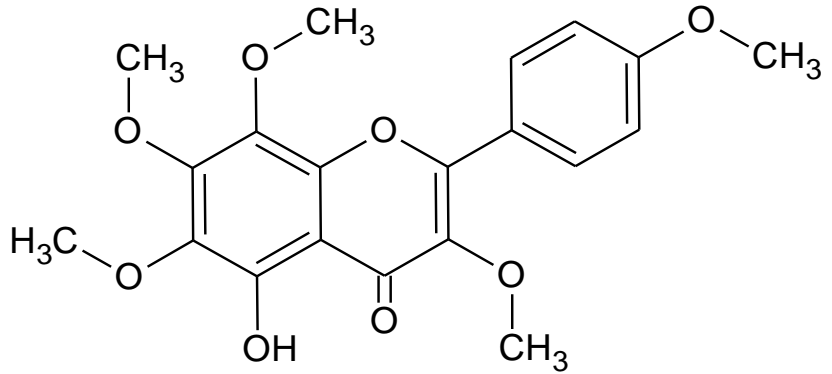
$C_{21}H_{22}O_9$

418,3939

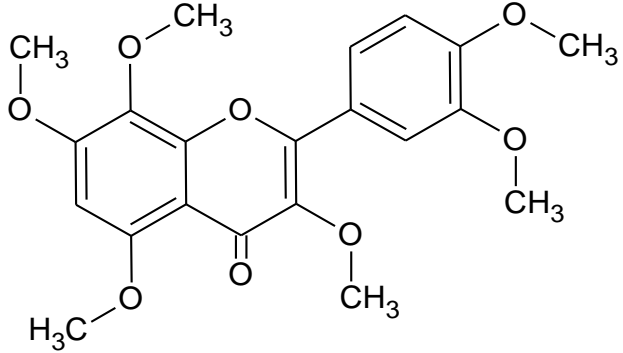
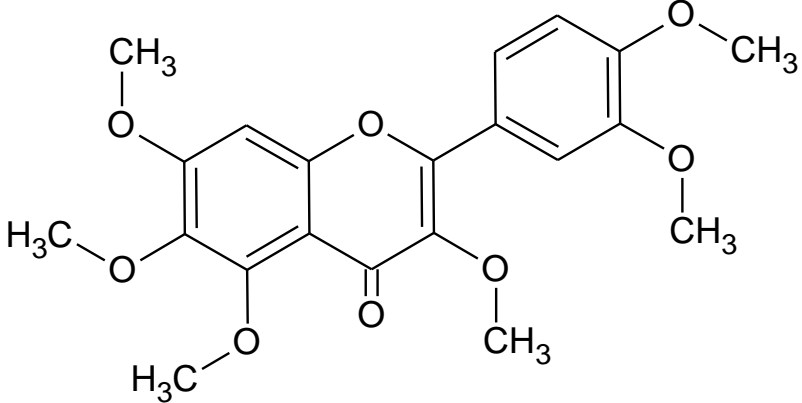
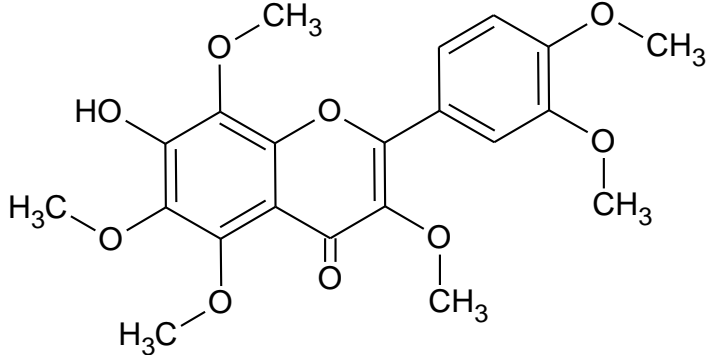
C. reticulata

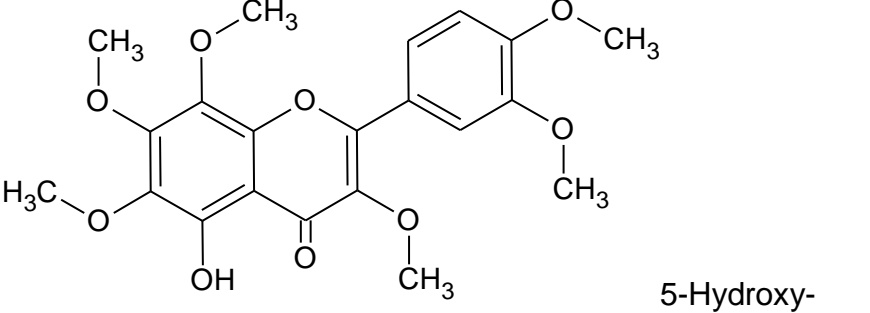
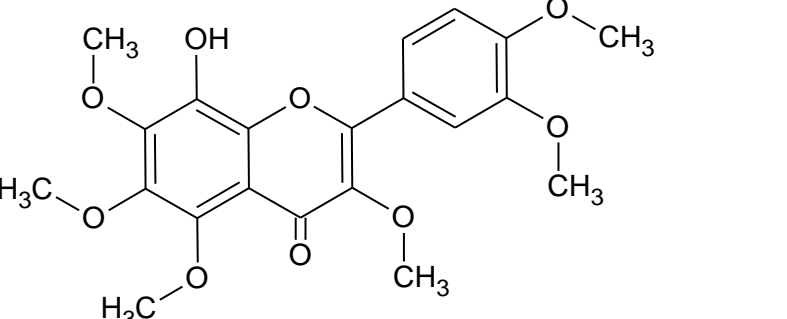
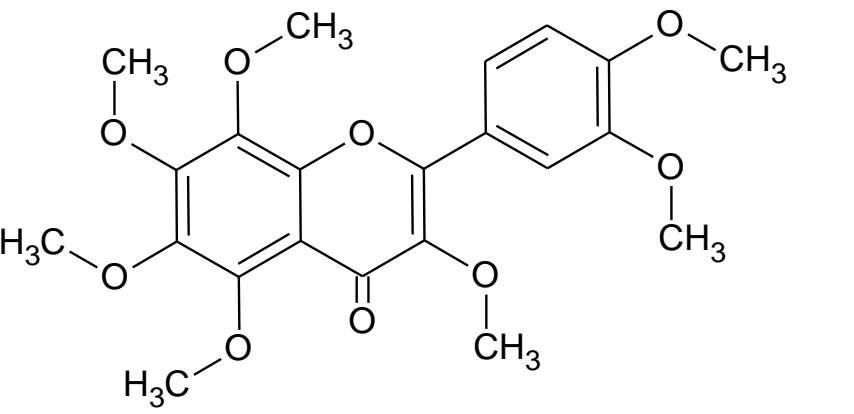
Casca do fruto [21]

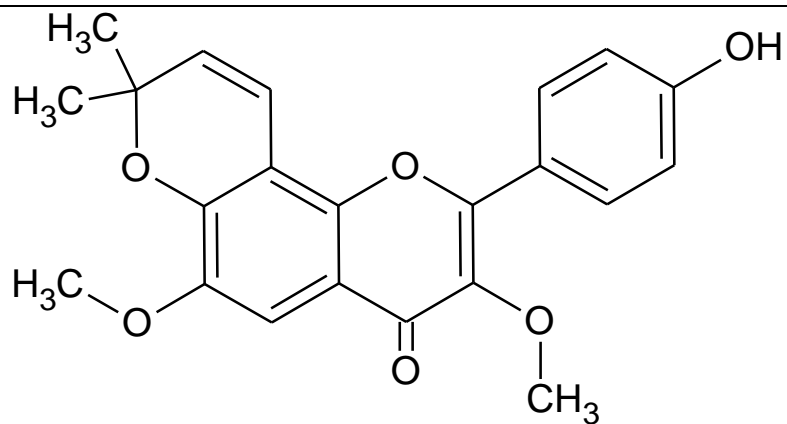
 <p style="text-align: center;">Citrusinol</p>	<p><i>C. nobilis</i></p> <p>Casca da raíz [4]</p>	<p>$C_{20}H_{16}O_6$</p> <p>352,3374</p>
 <p style="text-align: center;">3,6-Dimethoxy-5,7-dihydroxyflavone</p>	<p><i>C. reticulata</i></p> <p>Fruto [143]</p>	<p>$C_{17}H_{14}O_6$</p> <p>314,2894</p>
 <p style="text-align: center;">5-Hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone</p>	<p><i>C. grandis</i></p> <p>Pericarpo [34]</p>	<p>$C_{18}H_{16}O_6$</p> <p>328,3160</p>

 <p>Auranetin</p>	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [146]	$C_{20}H_{20}O_7$	372,3686
 <p>Hydroxy-3,4',5,6,7-pentamethoxyflavone</p>	<i>C. aurantifolia</i>	Casca do fruto [147]	$C_{20}H_{20}O_8$	388,368
 <p>5-hydroxy-auranetin</p>	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [146]	$C_{20}H_{20}O_8$	388,368

<p>5-Hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [125]	$C_{19}H_{18}O_7$	358,3420
<p>7- Hydroxy-3,5,6,3',4'-pentamethoxyflavone</p>	<i>C. tangerina</i>	Óleo essencial [134]	$C_{20}H_{20}O_8$	388,368
<p>5-Hydroxy-3,7,8,3',4'-pentamethoxyflavone</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [10],[125]	$C_{20}H_{20}O_8$	388,368

 <p>3,5,7,8,3',4'-Hexamethoxyflavone</p>	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [10]	$C_{21}H_{22}O_8$	402,3945
	<i>C. hasssaku</i>	Casca do fruto [133]		
 <p>Quercetogetin</p>	<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto [15]	$C_{21}H_{22}O_8$	402,3945
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [10],[125] e suco [127]		
	<i>C. paradisi x C. reticulata</i>	Casca do fruto [10]		
 <p>7-Hydroxy-3,5,6,8,3',4'-hexamethoxyflavone</p>	<i>C. tangerina</i>	Óleo essencial [134]	$C_{21}H_{22}O_9$	418,3939

 <p>5-Hydroxy- 3,6,7,8,3',4'-Hexamethoxyflavone</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. jambhiri</i></p>	<p>Casca do fruto [10],[125]</p> <p>Casca do fruto [17],[139]</p>	<p>$C_{21}H_{22}O_9$</p>	<p>418,3939</p>
 <p>8-Hydroxy-3,3',4',5,6,7-Hexamethoxyflavone</p>	<p><i>C. aurantifolia</i></p>	<p>Casca do fruto [147]</p>	<p>$C_{21}H_{22}O_9$</p>	<p>418,3939</p>
 <p>3,3',4',5,6,7,8-Heptamethoxyflavone</p>	<p><i>C. paradisi</i></p> <p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. reticulata</i></p> <p><i>C. aurantifolia</i></p> <p><i>C. hassaku</i></p> <p><i>C. jambhiri</i></p> <p><i>C. kinokuni</i></p>	<p>Suco [127] e fruto [140]</p> <p>Suco [127]; folha [9],[137]; casca do fruto [125] e fruto [140]</p> <p>Suco [127]</p> <p>Suco [127]</p> <p>Casca do fruto [133]</p> <p>Casca do fruto [139]</p> <p>Casca do fruto [15]</p>	<p>$C_{22}H_{24}O_9$</p>	<p>432,4205</p>



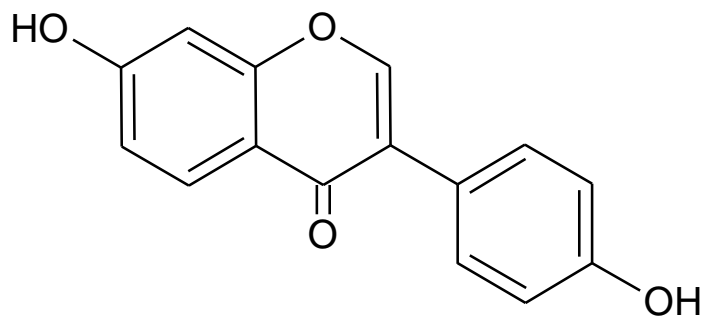
4'-Hydroxy-3,6-dimethoxy-6'',6''-dimethylchromeno(7,8,2'',3'')
flavone

C. reticulata

Fruto [143]

$C_{22}H_{20}O_6$

380,3906



Daidzen

C. wilsonii

Folha; broto e talo
[148]

C. macroptera

Folha; broto e talo
[148]

C. paradisi

Folha; broto e talo
[148]

C. taitensis

Folha; broto e talo
[148]

C. macrophylla

Folha; broto e talo
[148]

C. junos

Folha; broto e talo
[148]

C. jambhiri

Folha; broto e talo
[148]

C. ichangensis

Folha; broto e talo
[148]

C. hassaku

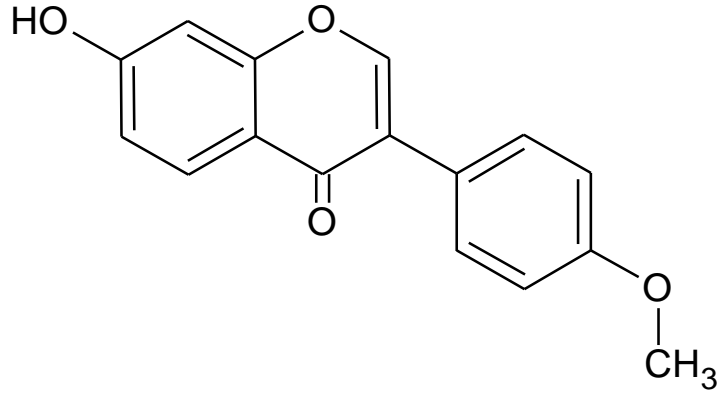
Folha; broto e talo
[148]

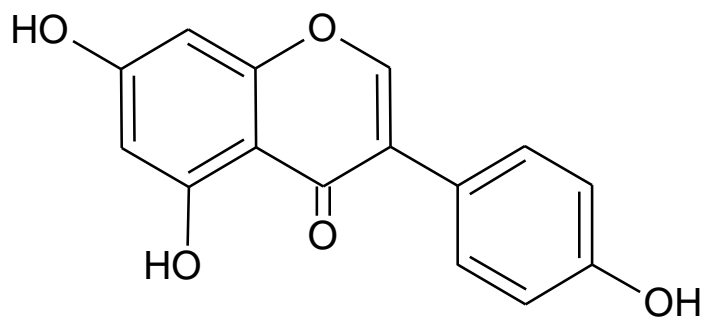
C. sinensis x
P. trifoliata

Folha; broto e talo
[148]

$C_{15}H_{10}O_4$

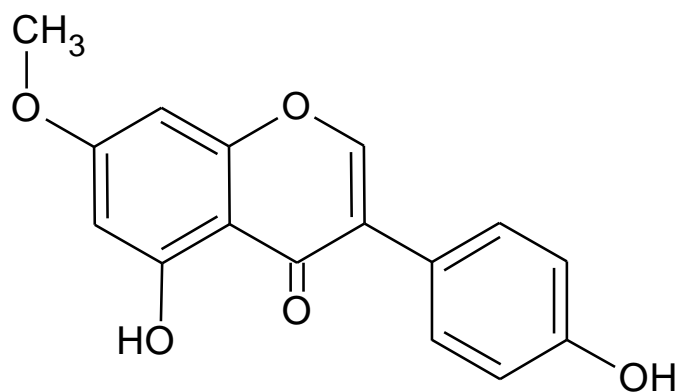
254,2375

	<i>C. asahikan</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. bergamia</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. glaberrima</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. sinensis</i>	Folha [149]		
	<i>C. limonia</i>	Folha [149]		
	<i>C. grandis</i>	Folha [149]		
	<i>C. aurantium</i>	Folha [149]		
 <p>Isoformononetin</p>	<i>C. aurantium</i>	Folha [149]	$C_{16}H_{12}O_4$	268,2640
	<i>C. wilsonii</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. macroptera</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. paradisi</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. taitensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. macrophylla</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. junos</i>	Folha; broto e talo		
			$C_{15}H_{10}O_5$	270,2369



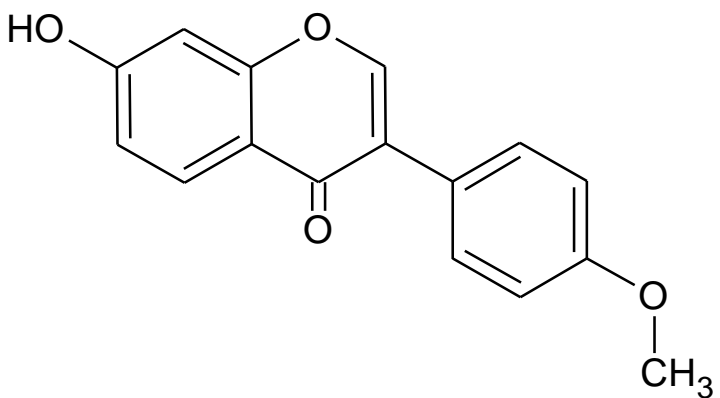
Ginistein

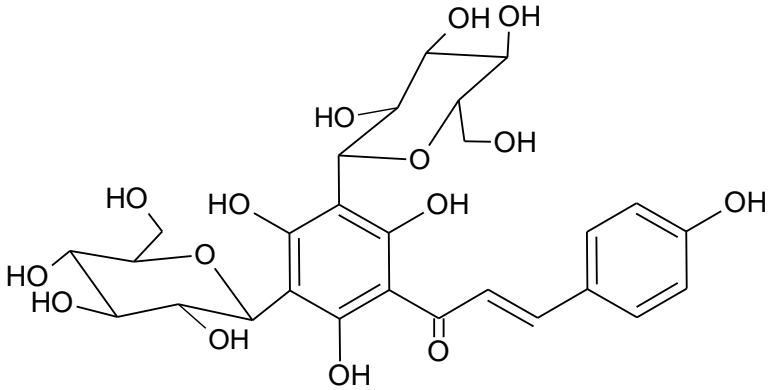
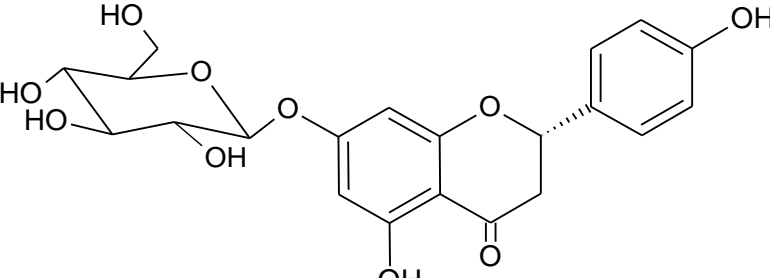
<i>C. jambhiri</i>	[148]		
<i>C. ichangensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. hassaku</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. sinensis x P. trifoliata</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. asahikan</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. bergamia</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. glaberrima</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. sinensis</i>	Folha [149]		
<i>C. limonia</i>	Folha [149]		
<i>C. grandis</i>	Folha [149]		
<i>C. aurantium</i>	Folha [149]		

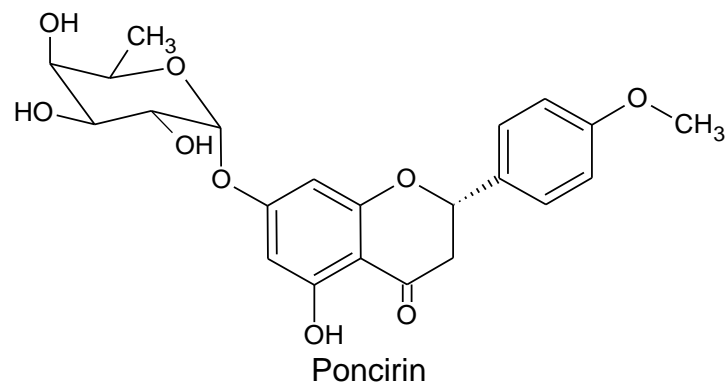


Prunetin

<i>C. wilsonii</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. macroptera</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. paradisi</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. taitensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. macrophylla</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. junos</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. jambhiri</i>	Folha; broto e talo [148]		
		$C_{16}H_{12}O_5$	284,2634

	<i>C. ichangensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. hassaku</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. sinensis x P. trifoliata</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. asahikan</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. bergamia</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. glaberrima</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. sinensis</i>	Folha [149]		
	<i>C. limonia</i>	Folha [149]		
	<i>C. grandis</i>	Folha [149]		
	<i>C. aurantium</i>	Folha [149]		
	<i>C. wilsonii</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. macroptera</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. paradisi</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. taitensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. macrophylla</i>	Folha; broto e talo [148]	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268,2640
	<i>C. junos</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. jambhiri</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. ichangensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. hassaku</i>	Folha; broto e talo		
 <p>Formnonetin</p>				

	<i>C. asahikan</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. bergamia</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. glaberrima</i>	Folha; broto e talo [148]		
	<i>C. sinensis</i>	Folha [149]		
	<i>C. limonia</i>	Folha [149]		
	<i>C. grandis</i>	Folha [149]		
	<i>C. aurantium</i>	Folha [149]		
 <p>Phoretin-3'-5'-di-C-glucoside</p>	<i>C. medica</i>	Casca do fruto [150]		
	<i>C. microcarpa</i>	Casca do fruto [150]	$C_{27}H_{32}O_5$	596,5339
	<i>C. hystrix</i>	Fruto [150]		
 <p>Prunin</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29]	$C_{21}H_{22}O_{10}$	434,3933
	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [2]		



C. aurantium Folha [137] e casca do fruto [47]

C. paradisi Suco [127],[151];casca do fruto [2]

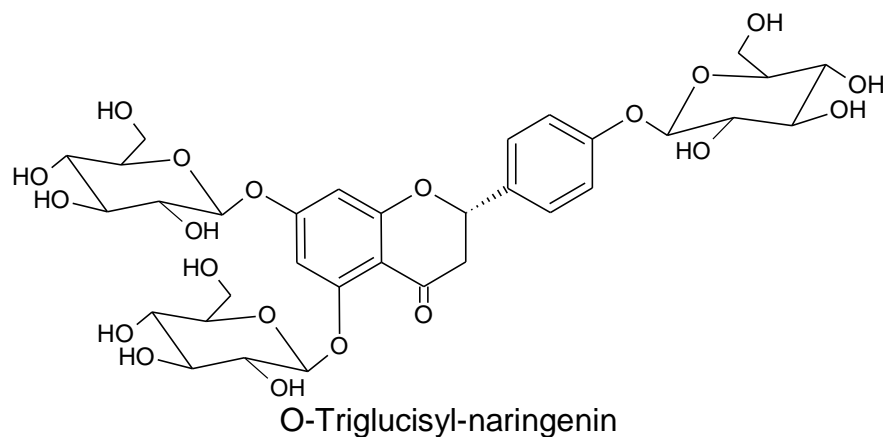
C. sudachi Casca do fruto [29]

C. limonetta Casca do fruto [47]

C. bergamia Suco [127]

C. sinensis Suco [127]

$C_{22}H_{24}O_{10}$ 448,4199

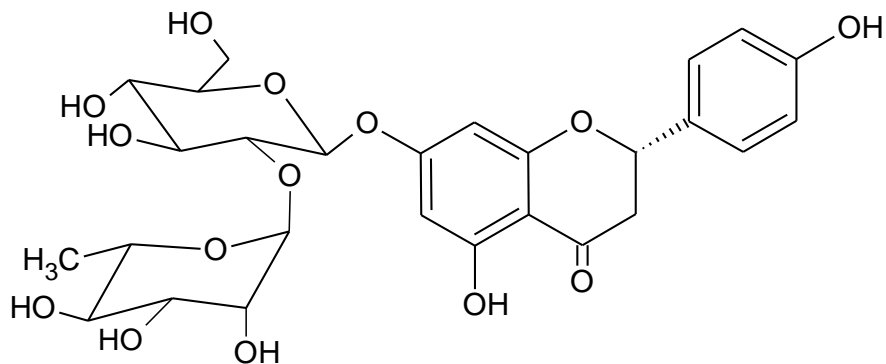


C. sinensis Frutos [69]

C. reticulata Frutos [69]

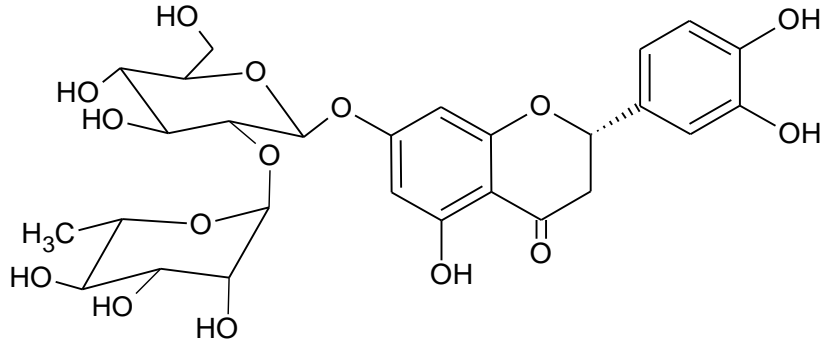
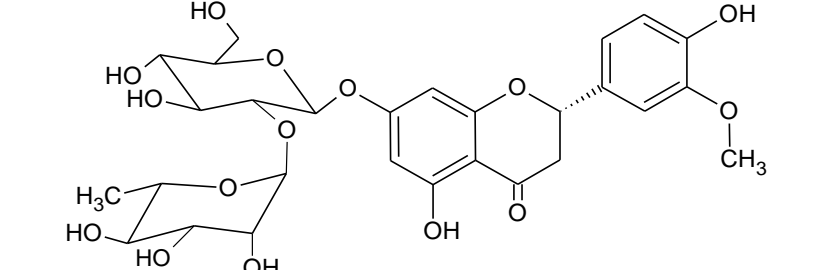
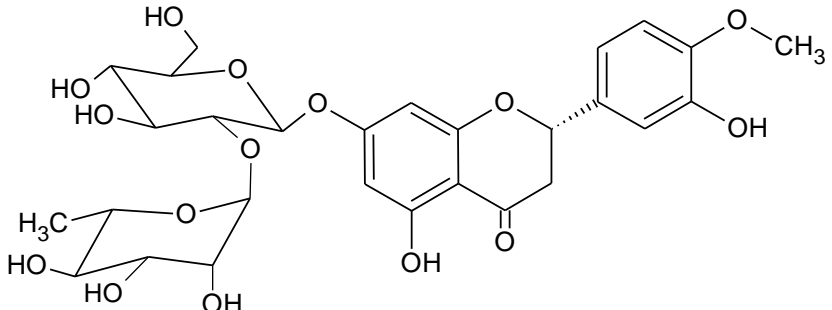
C. paradisi Frutos [69]

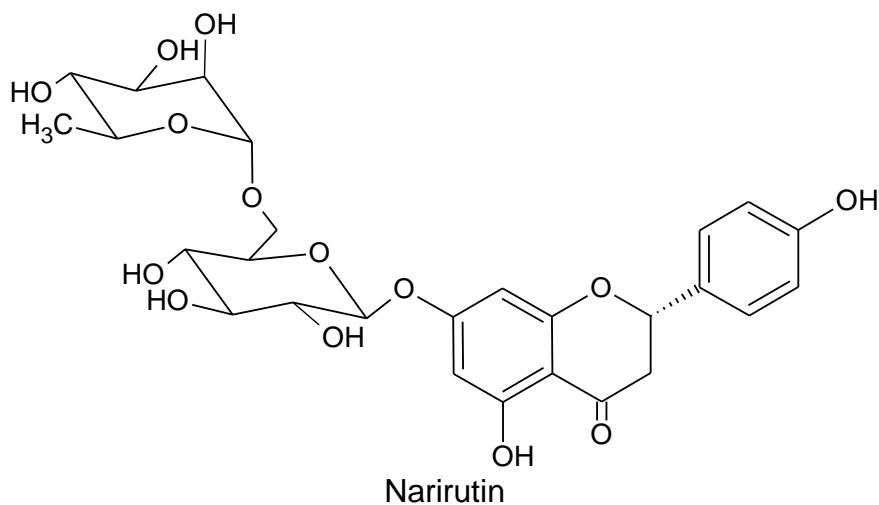
$C_{33}H_{42}O_{20}$ 758,6745



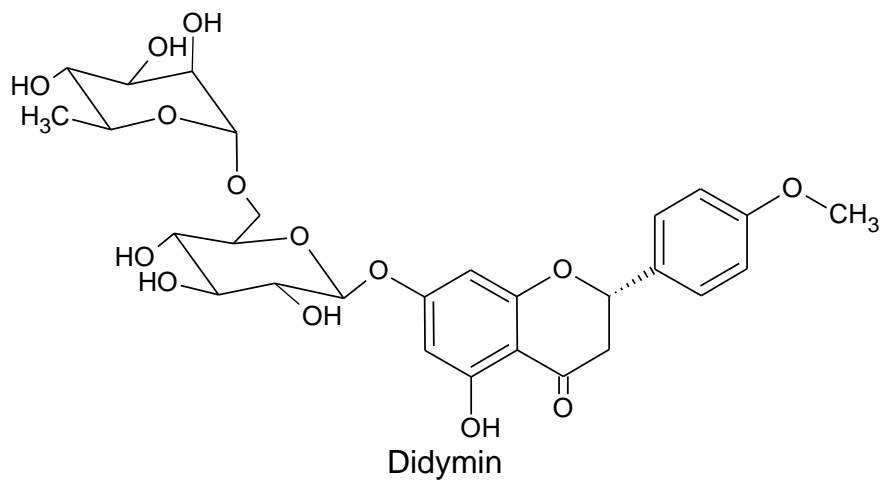
Naringin

<i>C. clementina</i>	Suco [127]		
<i>C. sinensis</i>	Suco [127] e folha [137]		
<i>C. paradisi</i>	Suco [127],[151]; casca do fruto [2],[152]; fruto [69]		
<i>C. aurantium</i>	Suco [127]; frutos [28]; casca do fruto [88] e folha [137] e semente [48]		
<i>C. bergamia</i>	Suco [127]		
<i>C. grandis</i>	Pericarpo [34]	$C_{27}H_{32}O_{14}$	580,5345
<i>C. reticulata</i>	Semente; polpa; mesocarpo; endocarpo e casca do fruto [141]		
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [139]		
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29]		
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2]		
<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]		

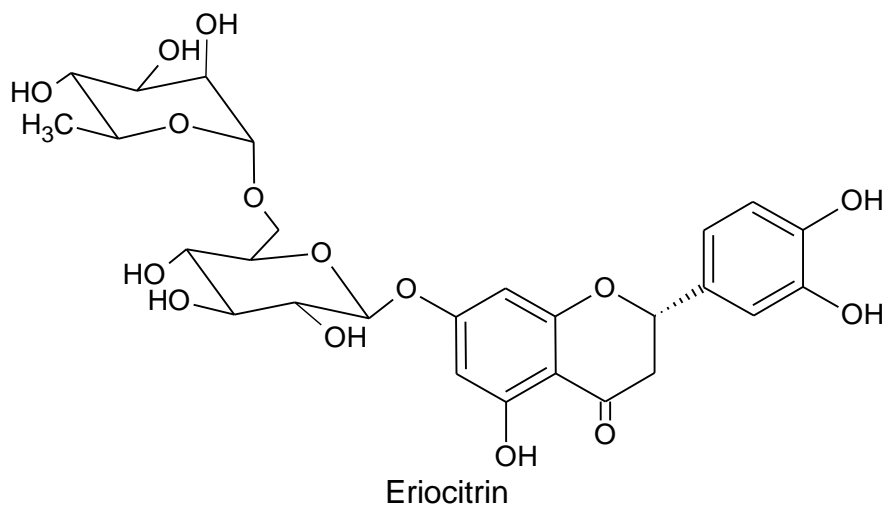
 <p style="text-align: center;">Neohesperidin</p>	<p><i>C. hystrix</i> <i>C. limonetta</i> <i>C. jambhiri</i> <i>C. aurantium</i> <i>C. reticulata</i> <i>C. sinensis</i> <i>C. aurantifolia</i> <i>C. bergamia</i> <i>C. paradisi</i></p>	<p>Frutos [150] Casca do fruto [47] Casca do fruto [139] Suco [127]; folha [137]; fruto [128] e casca do fruto [88] Suco [127] Suco [127] Suco [127] Suco [127] Suco [127]</p>	<p>$C_{27}H_{32}O_{15}$ 596,5339</p>
 <p style="text-align: center;">Homoeridictyol-7-O-neohesperidose</p>	<p><i>C. junos</i></p>	<p>Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{28}H_{34}O_{15}$ 610,5605</p>
 <p style="text-align: center;">Neohesperidin</p>	<p><i>C. limonetta</i> <i>C. sudachi</i> <i>C. aurantium</i> <i>C. paradisi</i> <i>C. jambhiri</i> <i>C. bergamia</i></p>	<p>Casca do fruto [47] Casca do fruto [2],[29] Fruto [128], folha [137], casca do fruto [88] e suco [127] Suco [151], [127] Casca do fruto [139] Suco [127]</p>	<p>$C_{28}H_{34}O_{15}$ 610,5605</p>



<i>C. deliciosa</i>	Suco [127]		
<i>C. clementina</i>	Suco [127]		
<i>C. reticulata</i>	Suco [127],[151];fruto [69] e casca do fruto [21]		
<i>C. sinensis</i>	Suco [127],[151]; folha [137]; fruto [69] e casca do fruto [2]		
<i>C. paradisi</i>	Suco [127],[151]; semente [48]; fruto [69] e casca do fruto [2]		
<i>C. limon</i>	Suco [151]		
<i>C. unshiu</i>	Suco [151]		
<i>C. aurantium</i>	Folha [137] e fruto [28]	$C_{27}H_{32}O_{14}$	580,5345
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [139]		
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29]		
<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]		
<i>C. suhuiensis</i>	Fruto [150]		
<i>C. junos</i>	Fruto [153] e casca do fruto [2]		
<i>C. unshiu</i>	Melaço [41] e casca do fruto [2]		
<i>C. aurantifolia</i>	Fruto [69]		

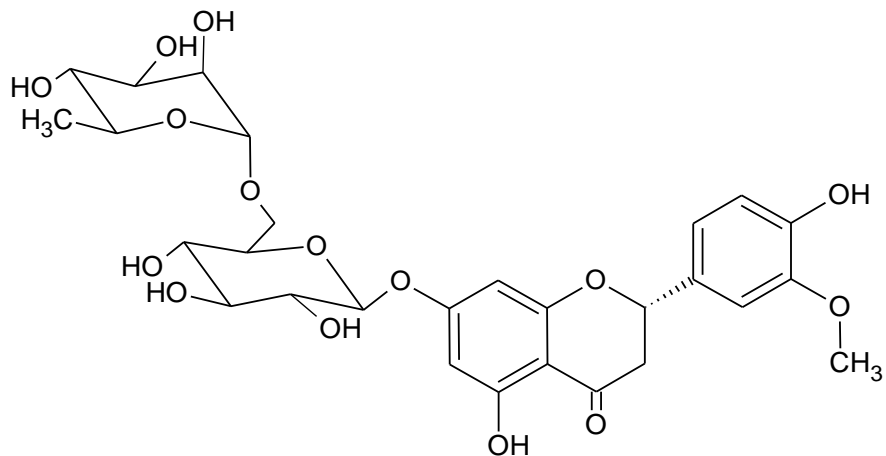


<i>C. sinensis</i>	Suco [127],[151] e folha [137]		
<i>C. reticulata</i>	Suco [127],[151]; casca do fruto; polpa; mesocarpo; endocarpo; semente [141] e fruto [69]		
<i>C. unshiu</i>	Suco [151]	$C_{28}H_{34}O_{14}$	594,5611
<i>C. limon</i>	Suco [151]		
<i>C. paradisi</i>	Suco [127],[151] efruto [69]		
<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]		
<i>C. suhuiensis</i>	Casca do fruto [150]		
<i>C. tangerina</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. succosa</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. suhuiensis</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. bergamia</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. montana</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. natsudaidai</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. junos</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. sphaerocarpa</i>	Casca do fruto [154]		
<i>C. yatsusiro</i>	Casca do fruto		



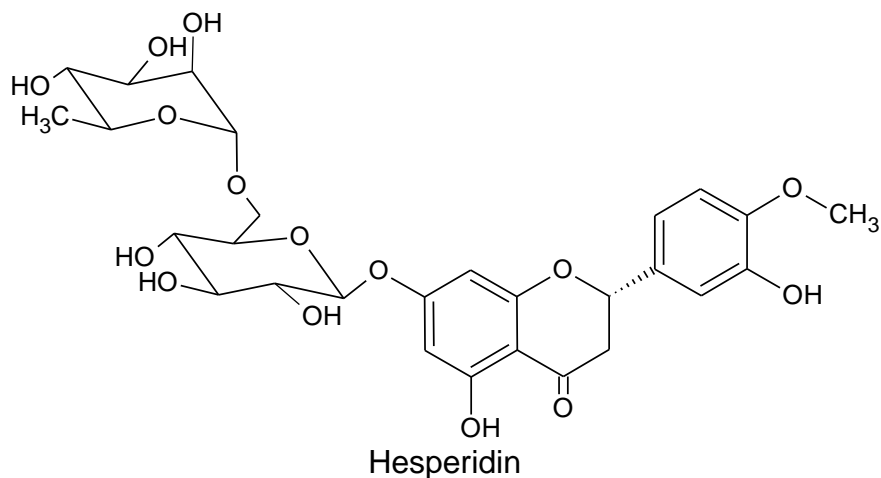
	[154]		
<i>C. depressa</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. kinokuni</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. erytrosa</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. macroptera</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. aurantifolia</i>	Casca do fruto [154]; suco [127],[154]; fruto [69]	$C_{27}H_{32}O_{15}$	596,5339
<i>C. medica</i>	Casca do fruto; suco [154]; fruto [150]		
<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2], [154]; suco [127], [151], [154]; fruto [69]		
<i>C. lumia</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. sulcata</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. iyo</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [154]; suco [29],[154]		
<i>C. nobilis</i>	Casca do fruto; suco [154]		
<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [154]; suco[151],[154]		

<i>C. keraji</i>	Casca do fruto; suco [154]
<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto; suco [154]
<i>C. sinensis</i>	Fruto [69]; folha [137] e suco [127], [151]
<i>C. hystrix</i>	Fruto [150]
<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [139]
<i>C. paradisi</i>	Suco [127]
<i>C. reticulata</i>	Suco [127],[151] e casca do fruto [21]

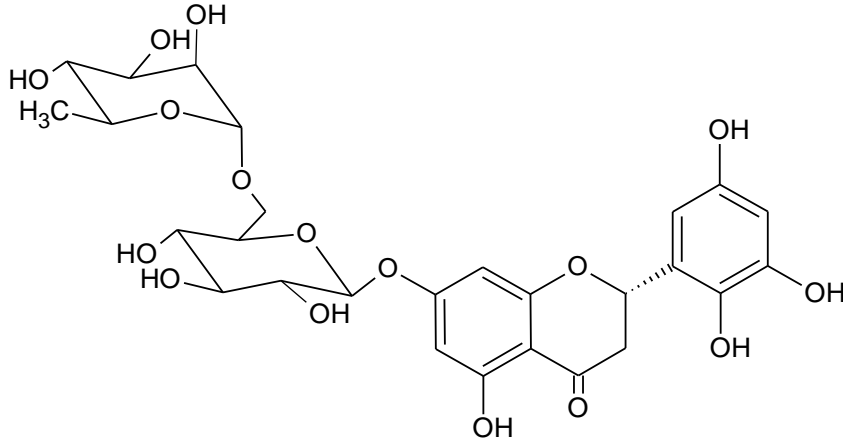
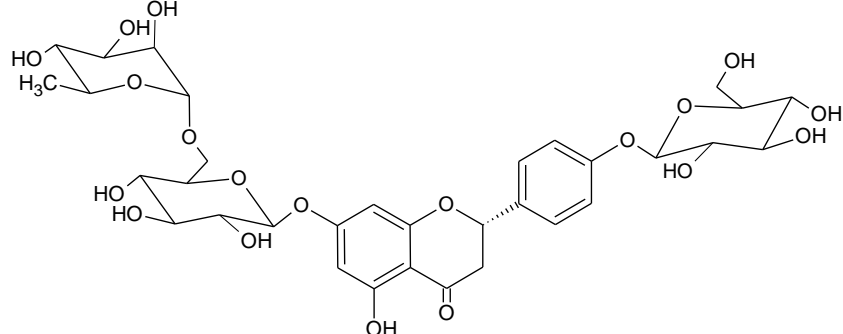


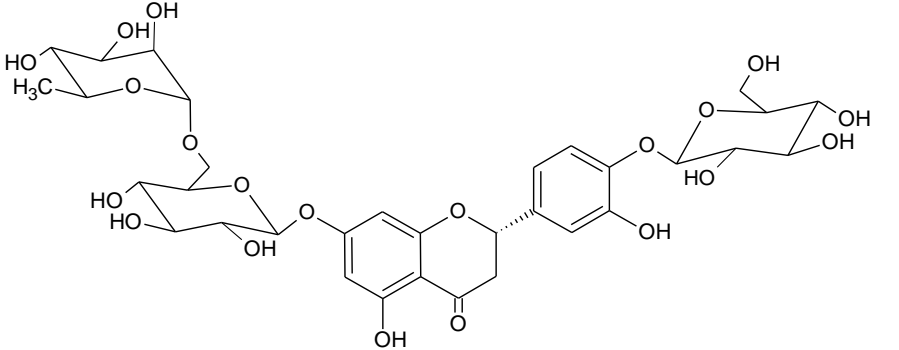
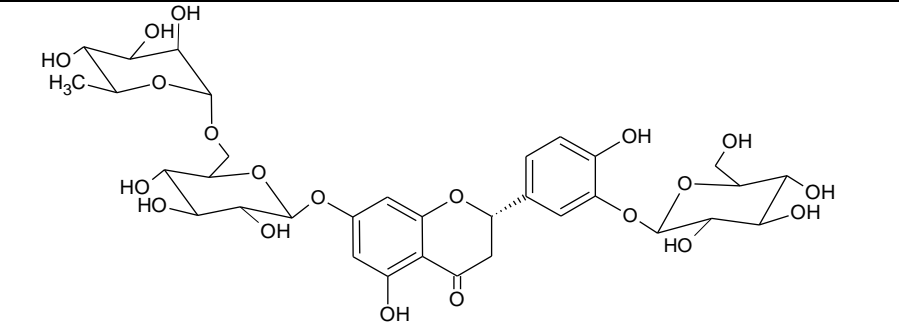
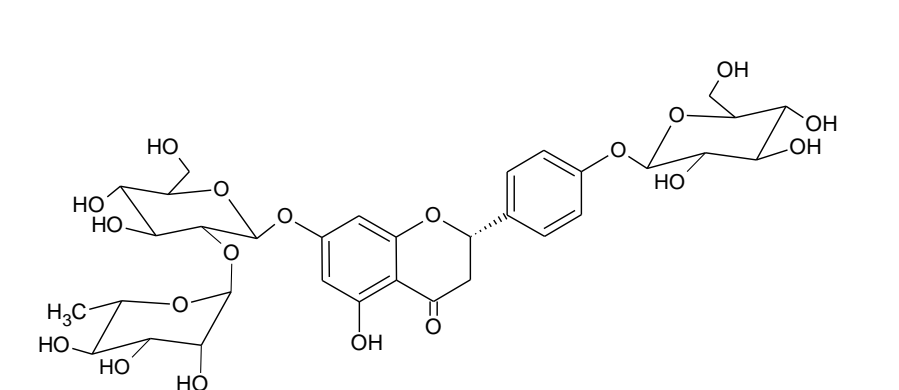
Homoeriodictyol-7-O-rutinoside

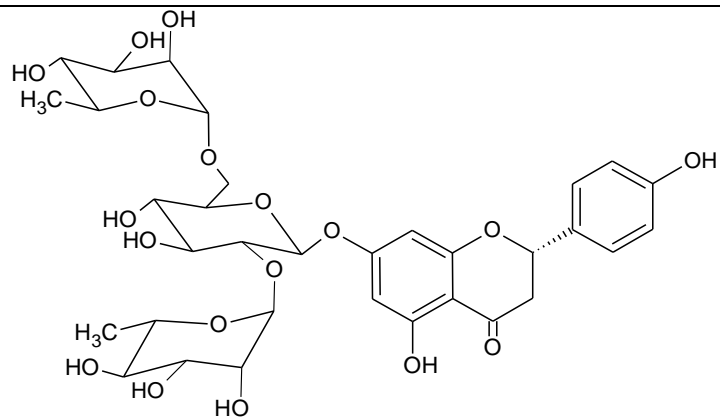
<i>C. limon</i>	Suco [151]	$C_{28}H_{34}O_{15}$	610,5605
-----------------	------------	----------------------	----------



<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]; fruto [69] e suco [127],[151]
<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]; melaço [41]; suco [151]
<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]; fruto [153]
<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2]; folha [8] ,[9],[137]; caule [9]; fruto [69],[115]; suco [127],[151]
<i>C. paradidisi</i>	Casca do fruto [2]; fruto [115]; suco [127],[151]
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [2],[29]
<i>C. hassaku</i>	Casca do fruto [2]
<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]
<i>C. aurantium</i>	Fruto [128]; casca do fruto [146]; folha [137]
<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [16],[139]
<i>C. aurantifolia</i>	Fruto [69] e suco [127]
<i>C. reticulata</i>	Fruto [69]; suco [127], [151]; semente, polpa; casca do fruto [21],[141]; endocarpo e mesocarpo [141]

	<i>C. deliciosa</i> <i>C. clementina</i>	Suco [127] Suco [127]		
 <p>5,2',3',5'-Tetrahydroxyflavanone-7-O-rutinoside</p>	<i>C. limon</i>	Casca do fruto[2]	$C_{27}H_{32}O_{16}$	612,5333
 <p>Naringenin-7-O-rutinoside-4'-O-glucoside</p>	<i>C. sinensis</i> <i>C. paradisi</i> <i>C. reticulata</i> <i>C. unshiu</i>	Suco [151] e folha [137] Suco [151] Suco [151] Suco [151] e casca do fruto [2]	$C_{33}H_{42}O_{19}$	742,6751

	<i>C. limon</i>	Suco [151]	$C_{33}H_{42}O_{20}$	758,6745	
Eriodictyol-7-O-rutinoside-4'-O-glucoside					
	<i>C. sinensis</i>	Suco [151]			
<i>C. reticulata</i>	Suco [151]	$C_{33}H_{42}O_{20}$	758,6745		
<i>C. unshiu</i>	Suco [151]				
Hesperetin-7-O-rutinoside-3'-O-glucoside					
	<i>C. paradisi</i>	Suco [151]			
<i>C. aurantium</i>	Folha [137]	$C_{33}H_{42}O_{19}$	742,6751		
Naringenin-7-O-neohesperidose-4'-O-glucoside					



Naringenin-7-O-(2'',6''-di-O-α-rhamnopyranosyl)-β-glucopyranoside

C. junos

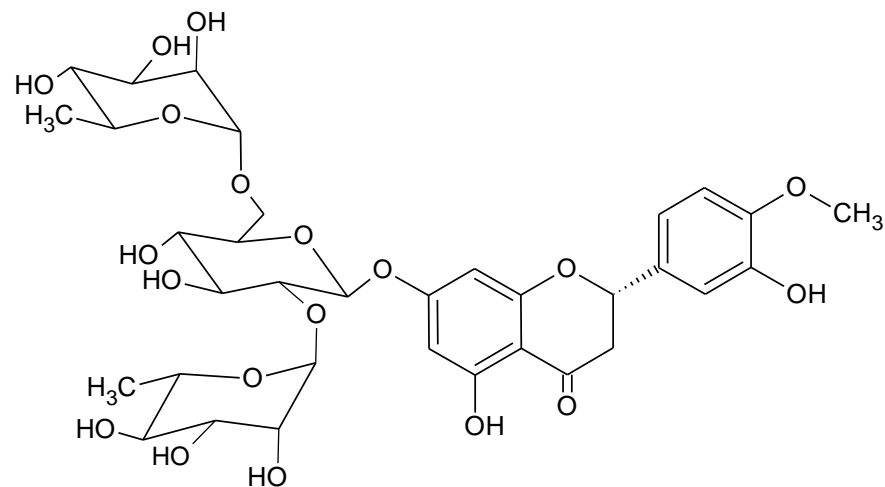
Casca do fruto [2]
e fruto [153]

$C_{33}H_{42}O_{18}$

726,6757

C.sudachi

Casca do fruto [29]



Hesperitin-7-O-(2'',6''-di-O-α-rhamnopyranosyl)-β-glucopyranoside

C. junos

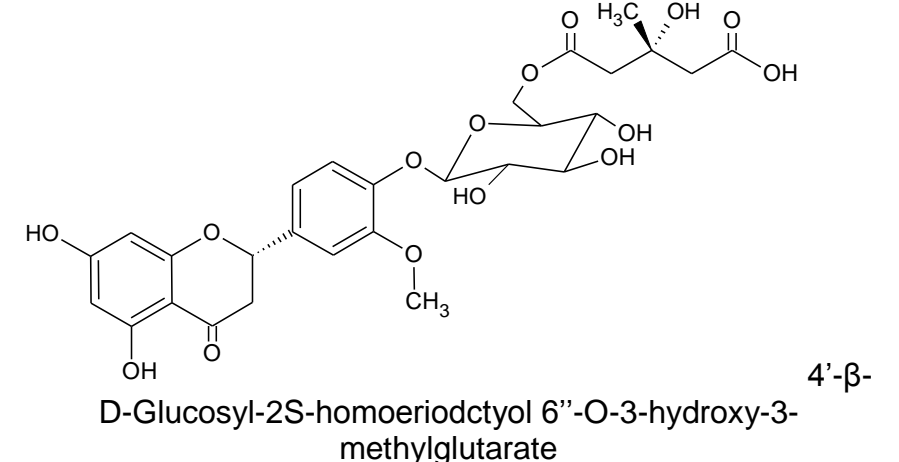
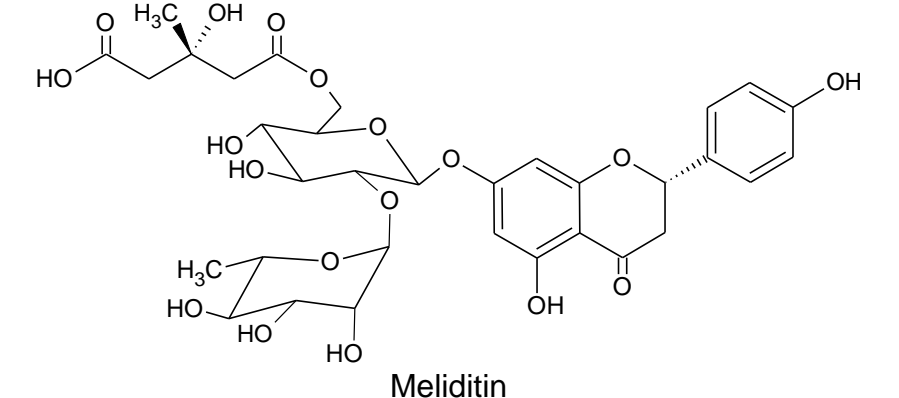
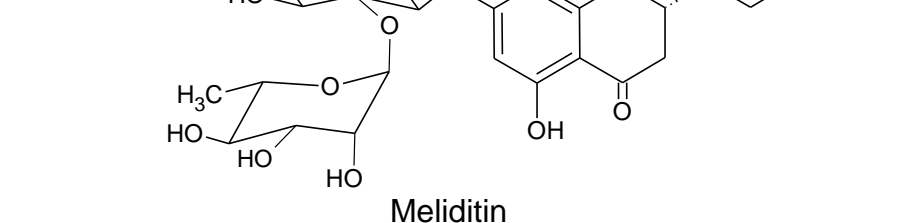

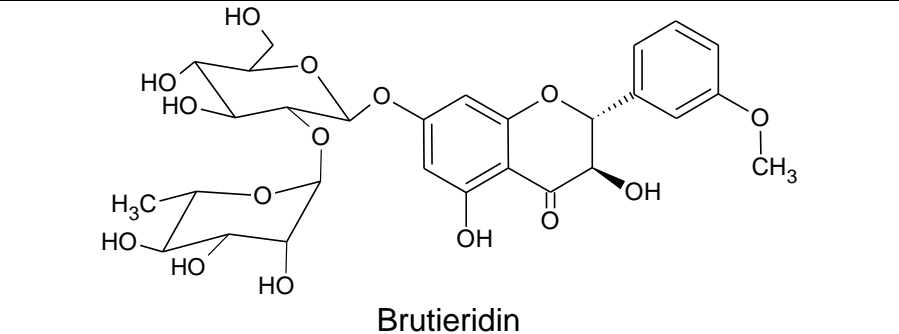

Casca do fruto [2]
e fruto [153]

$C_{34}H_{44}O_{19}$

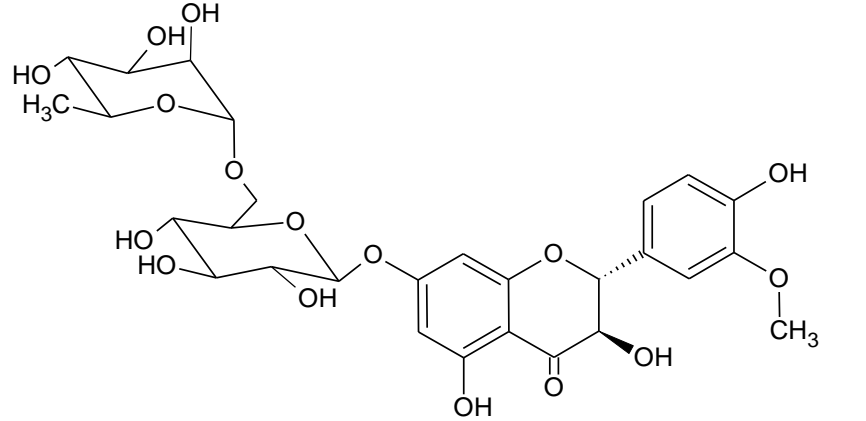
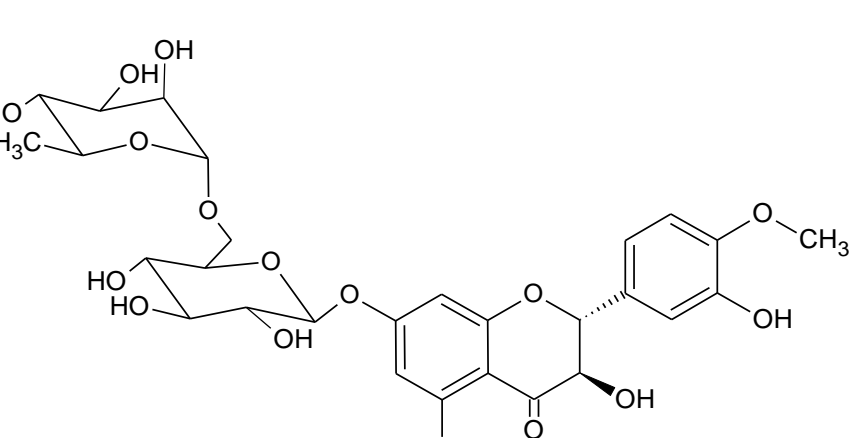
756,7017

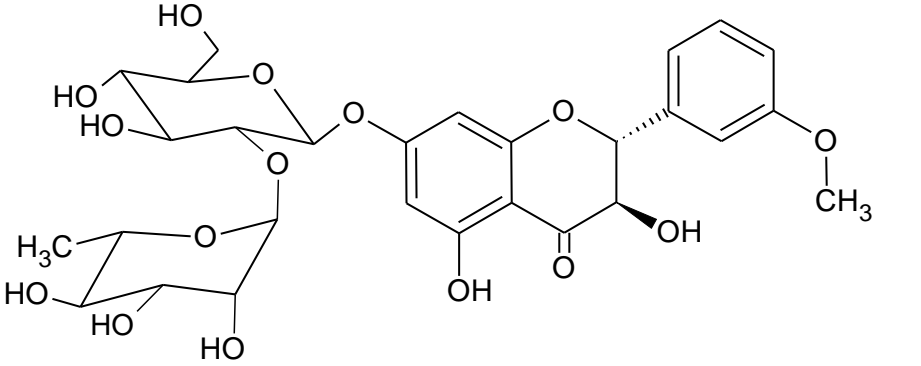
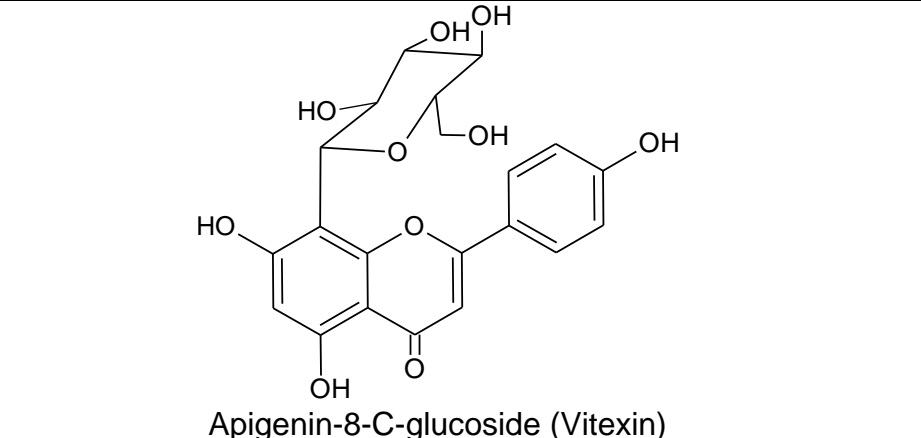
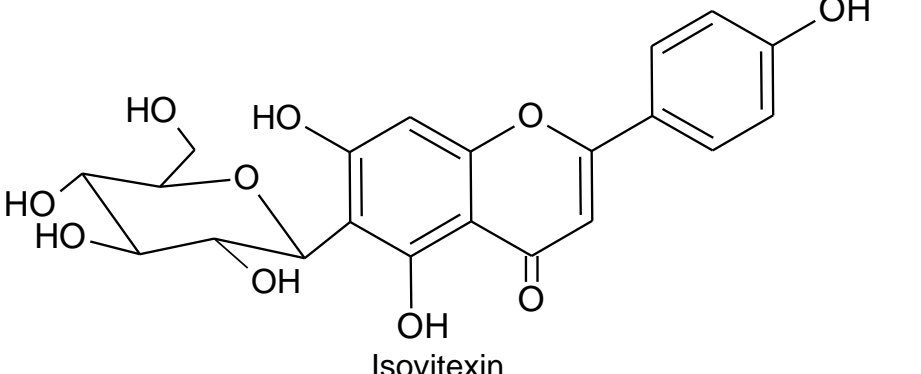
C.sudachi

Casca do fruto
[2],[29]

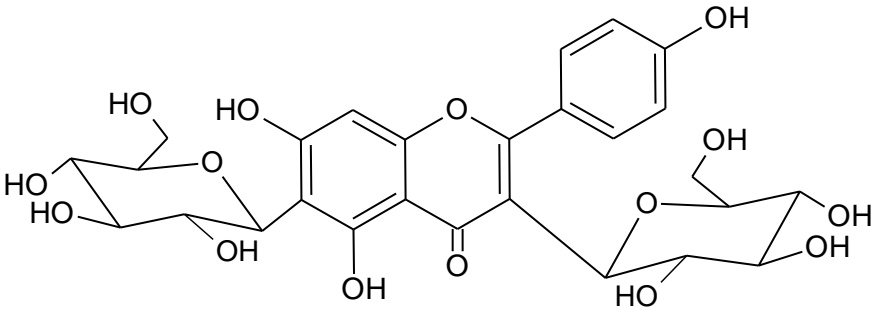
 <p>4'-β- D-Glucosyl-2S-homoeriodctyol 6''-O-3-hydroxy-3-methylglutarate</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29]	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	608,5446
 <p>Meliditin</p>	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [88]		
	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₈	724,6599
	<i>C. bergamia</i>	Fruto [155]		
 <p>Brutieridin</p>	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [88]	C ₃₄ H ₄₂ O ₁₉	754,6858
	<i>C. bergamia</i>	Fruto [155]		

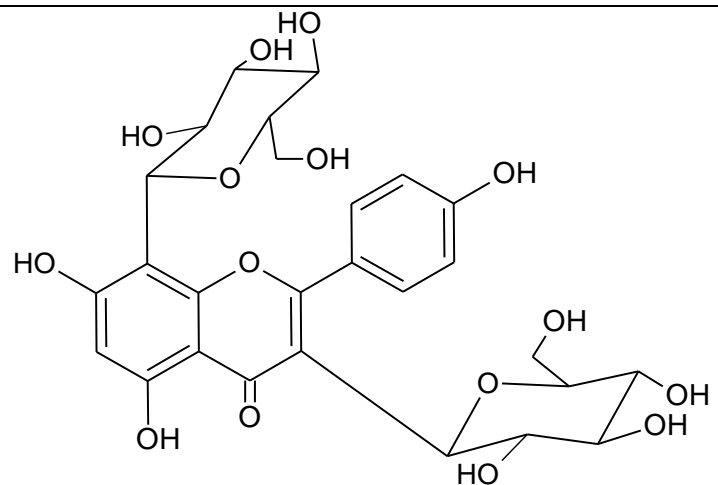
	<i>C. sinensis</i>	Frutos [156]	$C_{22}H_{24}O_{10}$	448,4199
Dihydrokaempferol-4'-methyleter-7-O-rhamnoside				
	<i>C. unshiu</i>	Suco [151] e melaço [41]		
	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]	$C_{27}H_{32}O_{15}$	596,5339
Dihydrokaempferol-7-O-rutinoside	<i>C. paradisi</i>	Suco [151]		
	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]	$C_{27}H_{32}O_{16}$	612,5333
Dihydroquercetin-7-O-rutinoside	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]		

 <p>Dihydroisorhamnetin-7-O-rutinoside</p>	<p><i>C. unshiu</i> Suco [151]</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151]</p> <p><i>C. sinensis</i> Suco [151]</p> <p><i>C. limon</i> Suco [151]</p> <p><i>C. paradisi</i> Suco [151]</p>	<p>$C_{28}H_{34}O_{16}$ 626,5599</p>
 <p>7-O-(6-O-α-L-Rhamnopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)-3,5,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavanone</p>	<p><i>C. unshiu</i> Melaço [41]</p>	<p>$C_{28}H_{34}O_{16}$ 626,5599</p>

 <p>3,5-Dihydroxy-3'-methoxyflavanone-7-O-neohesperidose</p>	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]	$C_{28}H_{34}O_{15}$	610,5605
 <p>Apigenin-8-C-glucoside (Vitexin)</p>	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]	$C_{21}H_{20}O_{10}$	432,3775
	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]		
	<i>C. sinensis</i>	Suco [151] e folha [137]		
	<i>C. medica</i>	Casca do caule [12]		
	<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
 <p>Isovitexin</p>	<i>C. sinensis</i>	Folha [137]	$C_{21}H_{20}O_{10}$	432,3775
	<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
	<i>C. aurantifolia</i>	Folha [157]		
	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]		

	<i>C. sinensis</i>	Folha [137]	$C_{21}H_{20}O_9$	416,3781
Apigenin-8-C-rhamnoside	<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
	<i>C. limon</i>	Suco [127], [151]; casca do fruto [2] e fruto [69]	$C_{27}H_{30}O_{15}$	594,5181
Vicenin-2	<i>C. grandis</i>	Casca do fruto [2]		
	<i>C. unshiu</i>	Suco [151] e casca do fruto [2]		
	<i>C. paradisi</i>	Suco [151]; casca do fruto [2] e fruto [69]		
	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]		
	<i>C. microcarpa</i>	Casca do fruto [150]		
	<i>C. hystrix</i>	Casca do fruto [150]		
	<i>C. suhuiensis</i>	Casca do fruto [150]		
	<i>C. sinensis</i>	Suco [127], [151]; folha [137] e fruto		

	<i>C. aurantifolia</i>	Folha [157] e fruto [69]		
	<i>C. reticulata</i>	Suco [151] e fruto [69]		
	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [88]; folha [137]		
	<i>C. clementina</i>	Suco [127]		
	<i>C. deliciosa</i>	Suco [127]		
	<i>C. bergamia</i>	Suco [127]		
	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]		
 <p>Apigenin-3,6-di-C-glucoside</p>			$C_{27}H_{30}O_{15}$	594,5181
	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [2]		



Apigenin-3,8-di-C-glucoside

C. sudachi Casca do fruto [2]

C. junos Casca do fruto [2]

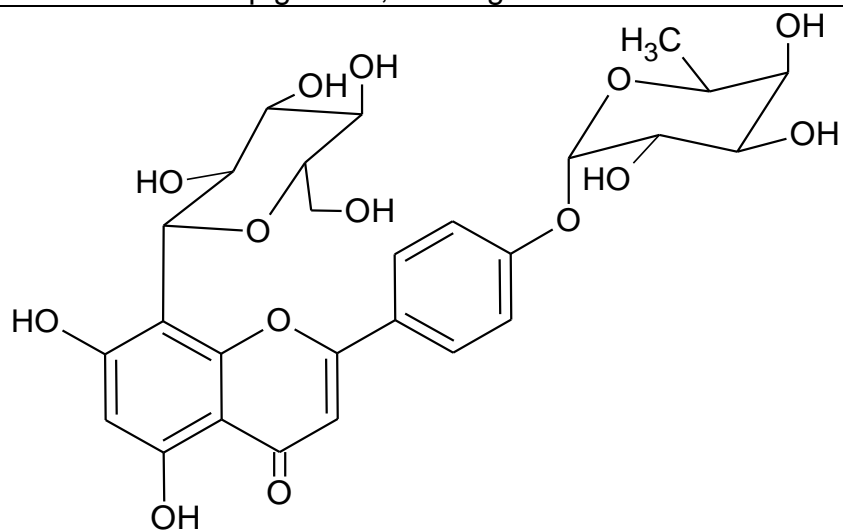
C. grandis Casca do fruto [2]

C. hassaku Casca do fruto [2]

C. sinensis Casca do fruto [2]

C. unshiu Casca do fruto [2]

$C_{27}H_{30}O_{15}$ 594,5181

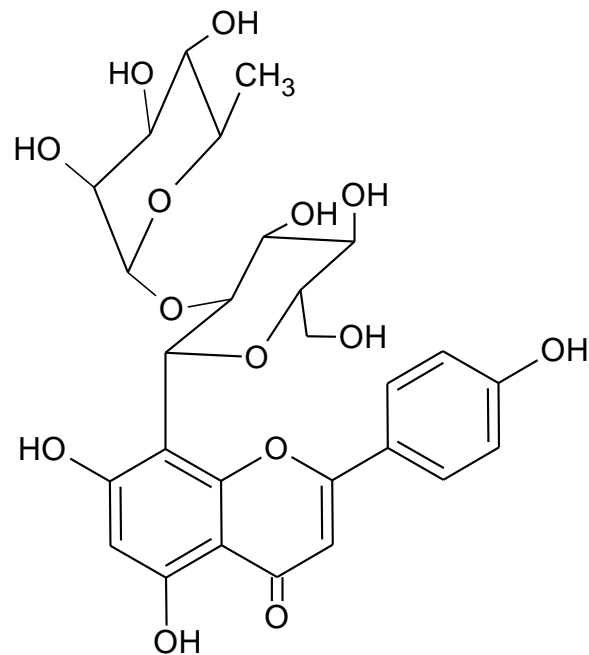


Vitexin-4'-O-rhamnoside

C. sinensis Folha [137]

C. aurantium Folha [137]

$C_{27}H_{30}O_{14}$ 578,5187



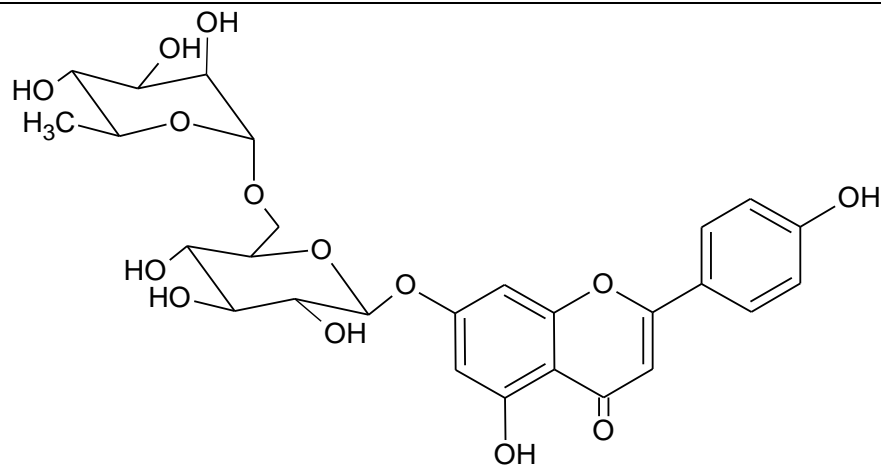
Apigenin-8-C-glucosyl-2''-O-rhamnoside

C. microcarpa

Fruto [150]

$C_{27}H_{30}O_{14}$

578,5187



Isorhoifolin (Apigenin-7β-rutinoside)

C. paradisi

Folha [158] e uco [151]

C. limon

Suco [151] e casca do fruto [2]

C. sinensis

Suco [127] e folha [137]

$C_{27}H_{30}O_{14}$

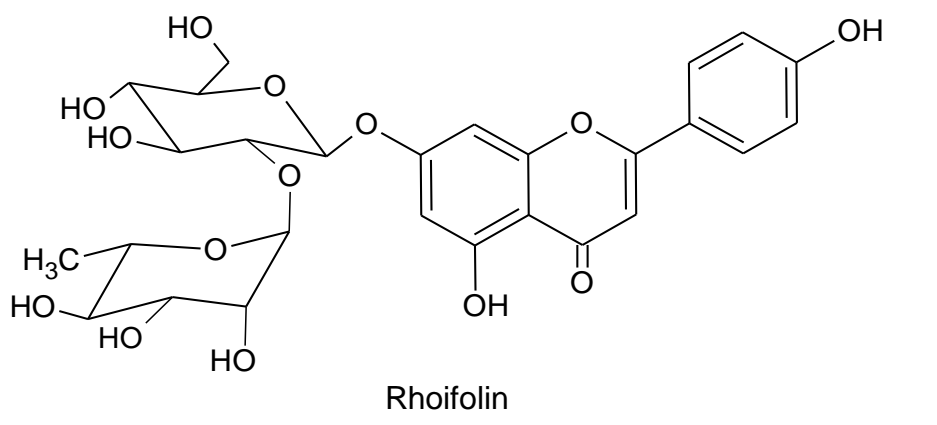
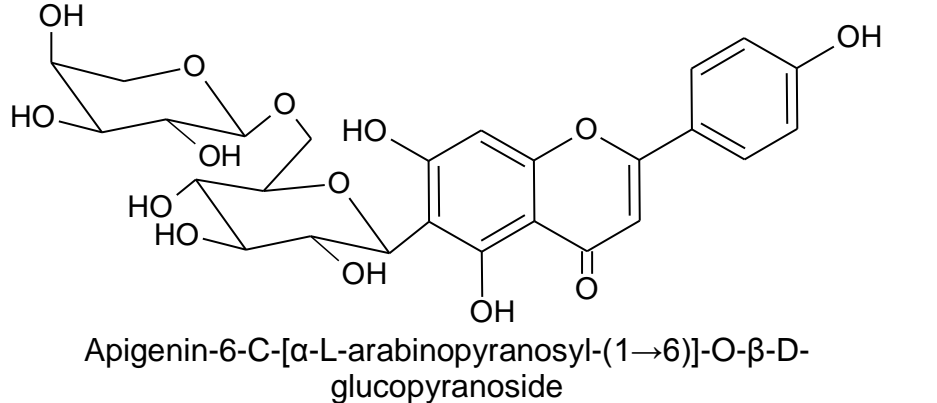
578,5187

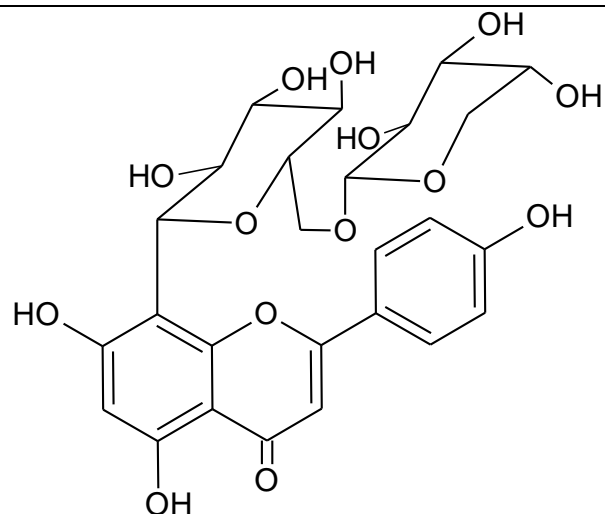
C. reticulata

Suco [151]

C. unshiu

Suco [151]

 <p>Rhoifolin</p>	<p><i>C. bergamia</i> Suco [127] <i>C. sinensis</i> Suco [127] <i>C. paradisi</i> Suco [127],[151] <i>C. aurantium</i> Casca do fruto [88] e folha [137] <i>C. limon</i> Casca do fruto [2] <i>C. hassaku</i> Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{27}H_{30}O_{14}$ 578,5187</p>
 <p>Apigenin-6-C-[α-L-arabinopyranosyl-(1\rightarrow6)]-O-β-D-glucopyranoside</p>	<p><i>C. limonetta</i> Casca do fruto [47] <i>C. aurantifolia</i> Folha [157]</p>	<p>$C_{26}H_{28}O_{14}$ 564,4921</p>



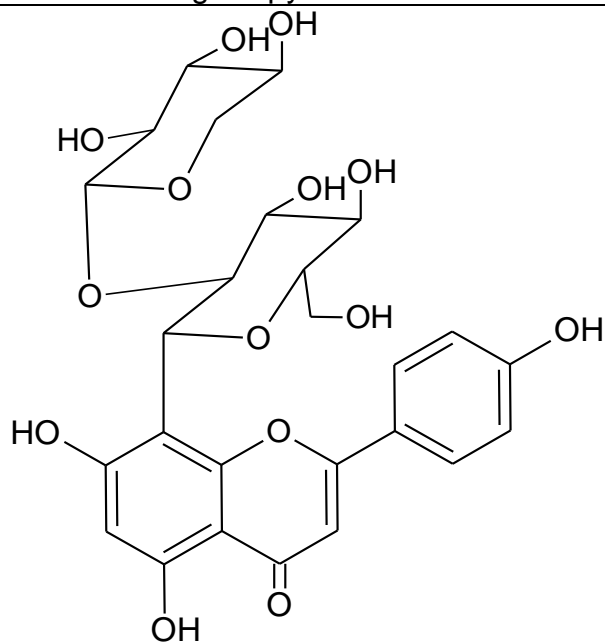
Apigenin-8-C-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-O- β -D-glucopyranoside

C. aurantifolia

Folha [157]

$C_{26}H_{28}O_{14}$

564,4921



2''-O-Xylovitexin

C. sinensis

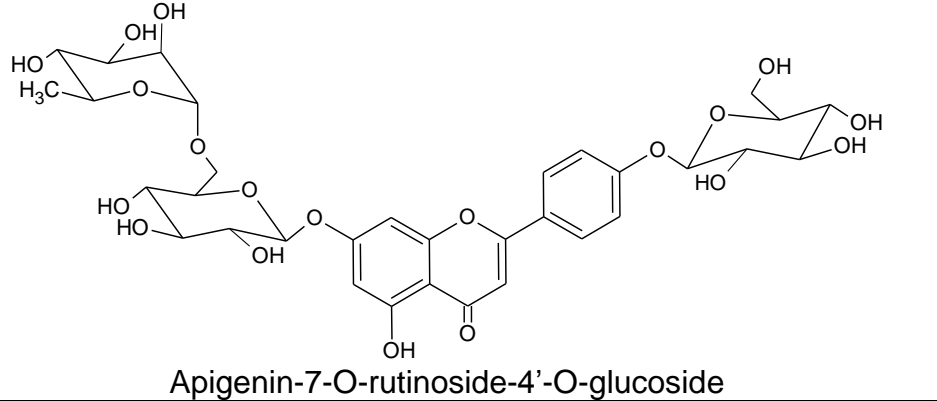
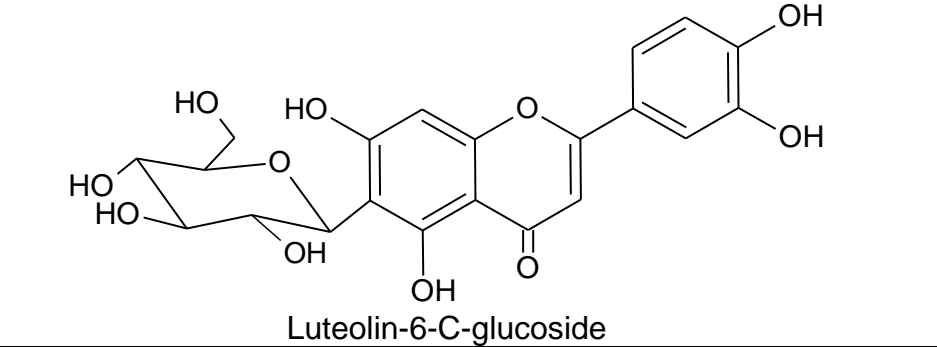
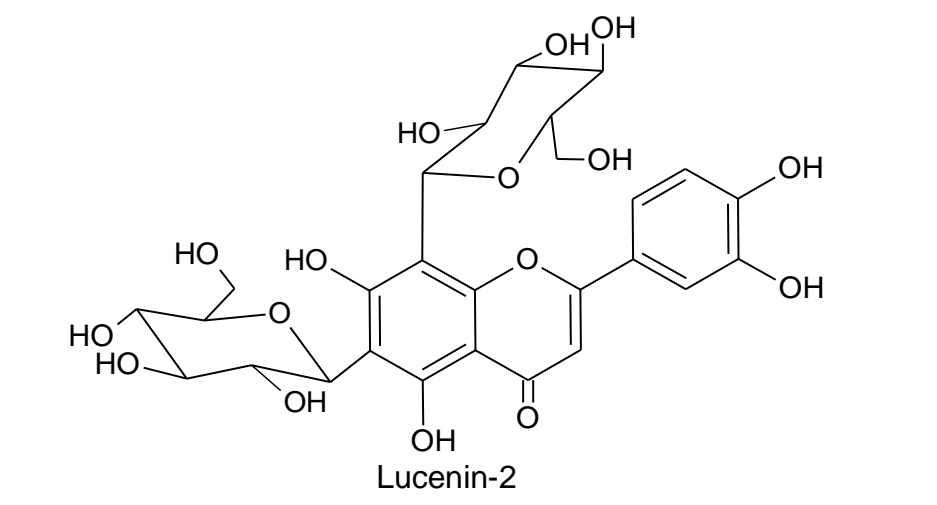
Folha [137] e
casca do fruto [2]

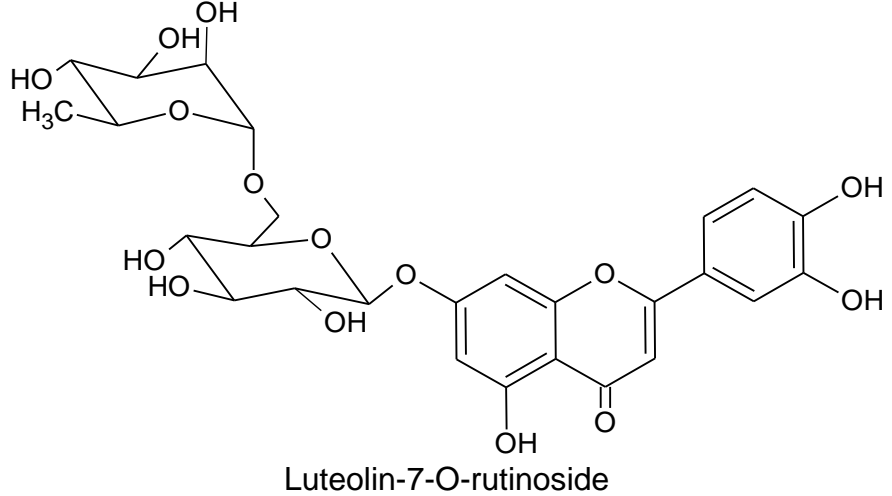
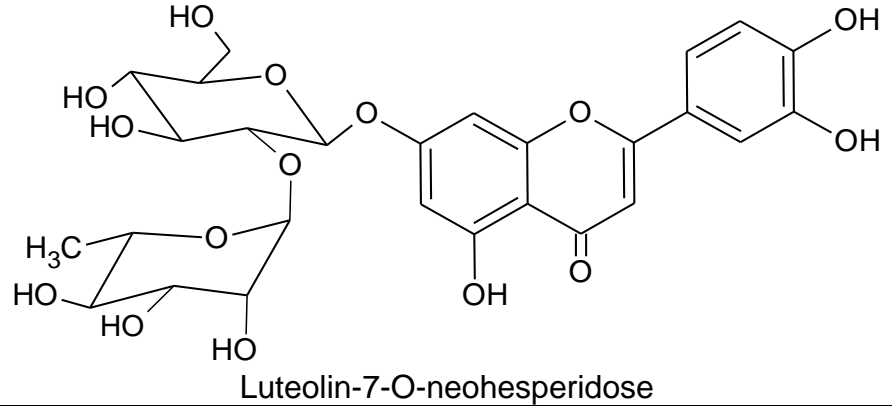
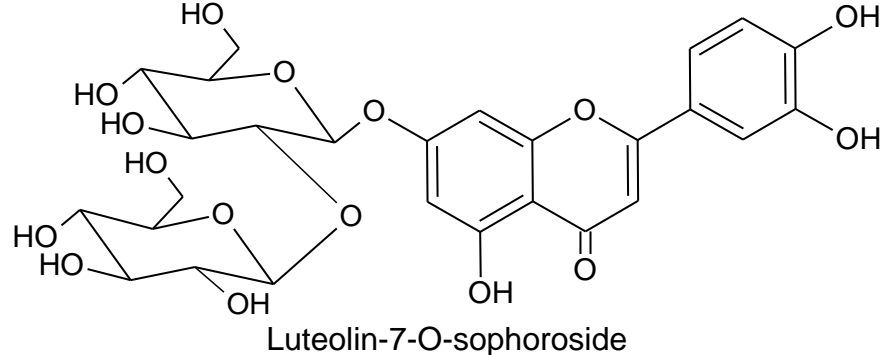
$C_{26}H_{28}O_{14}$

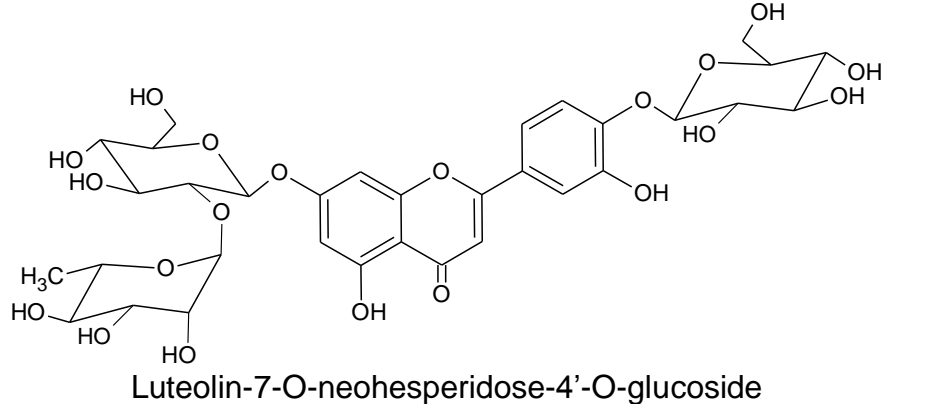
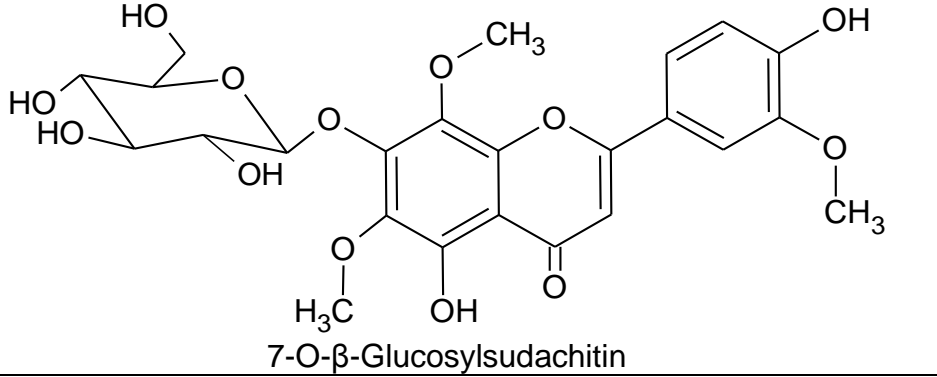
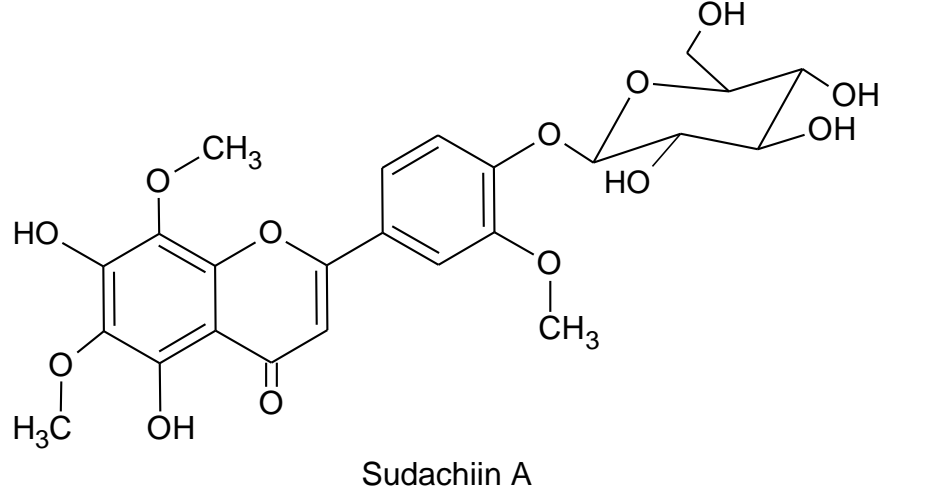
564,4921

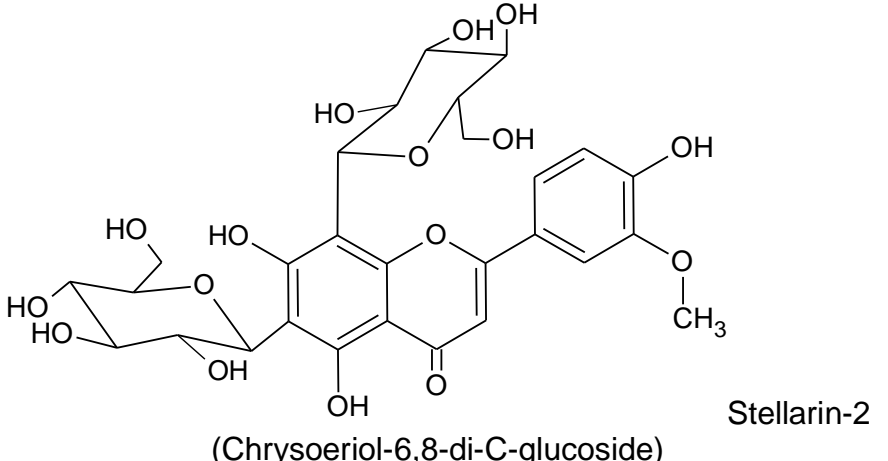
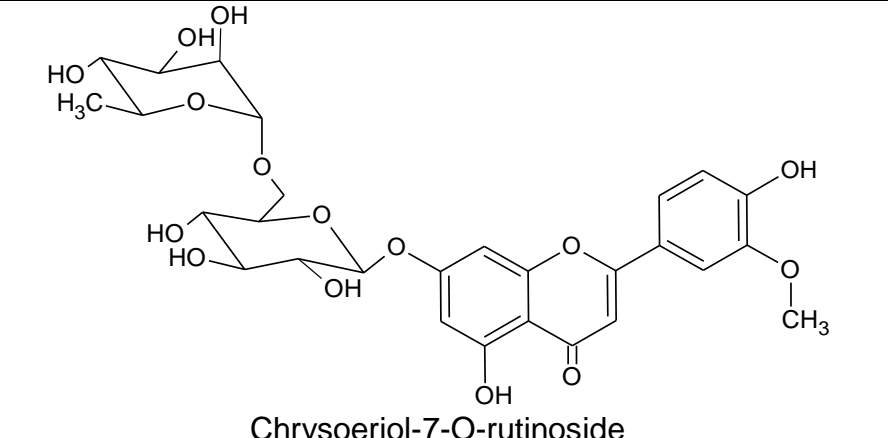
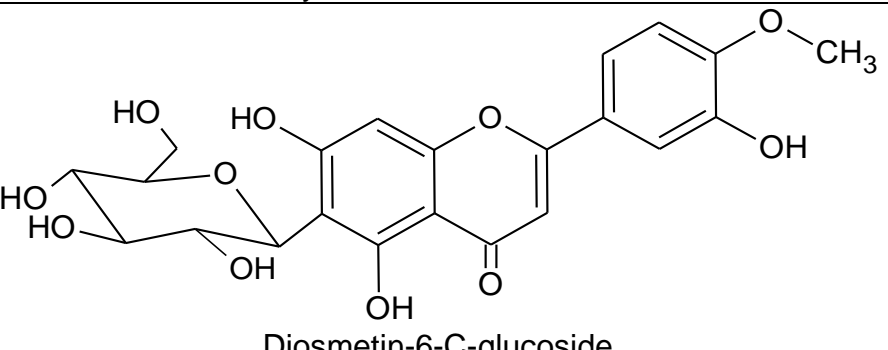
C. aurantium

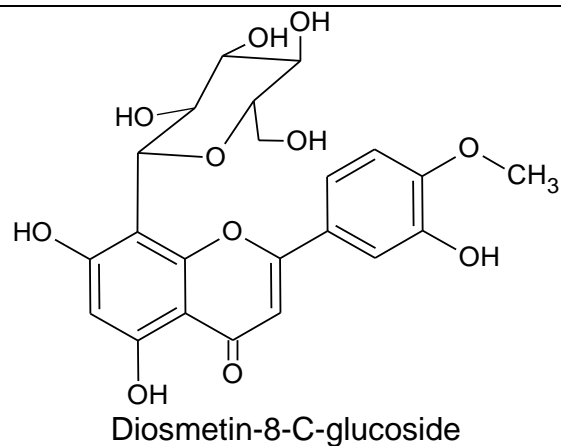
Folha [137]

 <p>Chemical structure of Apigenin-7-O-rutinoside-4'-O-glucoside, showing a flavone core with a rutinoside group at position 7 and a glucoside group at position 4'.</p> <p>Apigenin-7-O-rutinoside-4'-O-glucoside</p>	<p><i>C. limon</i></p> <p>Suco [151]</p>	<p>$C_{33}H_{40}O_{19}$</p> <p>740,6593</p>
 <p>Chemical structure of Luteolin-6-C-glucoside, showing a flavone core with a glucoside group at position 6 and a catechol group at position 4'.</p> <p>Luteolin-6-C-glucoside</p>	<p><i>C. limon</i></p> <p>Suco [151]</p>	<p>$C_{21}H_{20}O_{11}$</p> <p>448,3769</p>
 <p>Chemical structure of Lucenin-2, showing a flavone core with a diglucoside group at position 6 and a catechol group at position 4'.</p> <p>Lucenin-2</p>	<p><i>C. limonetta</i></p> <p>Casca do fruto [47]</p> <p><i>C. limon</i></p> <p>Suco [151]</p> <p><i>C. sinensis</i></p> <p>Suco [151]</p>	<p>$C_{27}H_{30}O_{16}$</p> <p>610,5175</p>

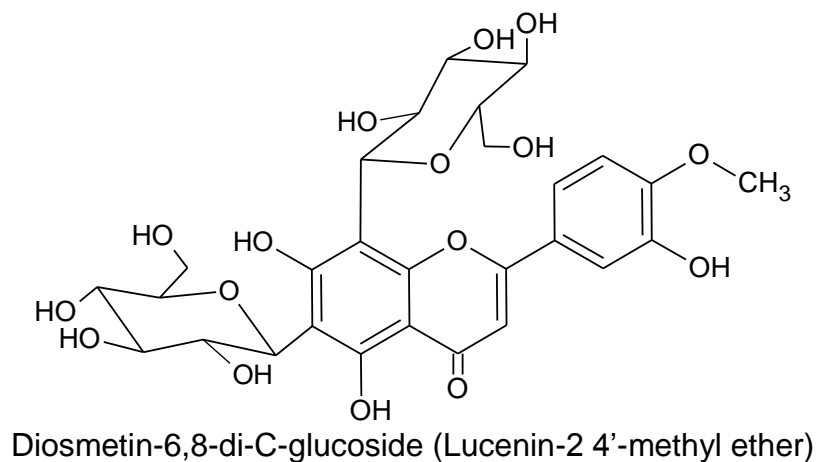
 <p>Luteolin-7-O-rutinoside</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [151]	$C_{27}H_{30}O_{15}$	594,5181
	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]		
	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]		
	<i>C. limon</i>	Suco [127] e casca do fruto [2]		
	<i>C. hystrix</i>	Folha [150]		
 <p>Luteolin-7-O-neohesperidose</p>	<i>C. aurantium</i>	Casca do fruto [88]	$C_{27}H_{30}O_{15}$	594,5181
 <p>Luteolin-7-O-sophoroside</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{27}H_{30}O_{16}$	610,5175

 <p>Luteolin-7-O-neohesperidose-4'-O-glucoside</p>	<p><i>C. paradisi</i> Suco [151]</p> <p><i>C. limon</i> Fruto [69]</p> <p><i>C. sinensis</i> Fruto [69]</p> <p><i>C. aurantifolia</i> Fruto [69]</p>	<p>$C_{33}H_{40}O_{20}$ 756,6587</p>
 <p>7-O-β-Glucosylsudachitin</p>	<p><i>C. sudachi</i> Casca do fruto imaturo [159]</p>	<p>$C_{24}H_{64}O_{13}$ 522,4554</p>
 <p>Sudachiin A</p>	<p><i>C. sudachi</i> Casca do fruto [2] e casca do fruto imaturo [159]</p>	<p>$C_{24}H_{26}O_{13}$ 522,4554</p>

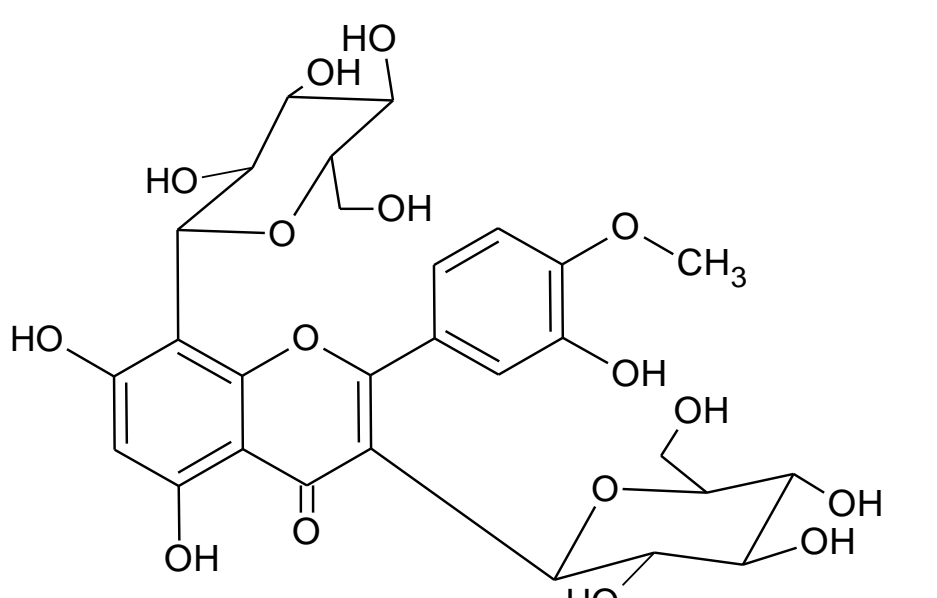
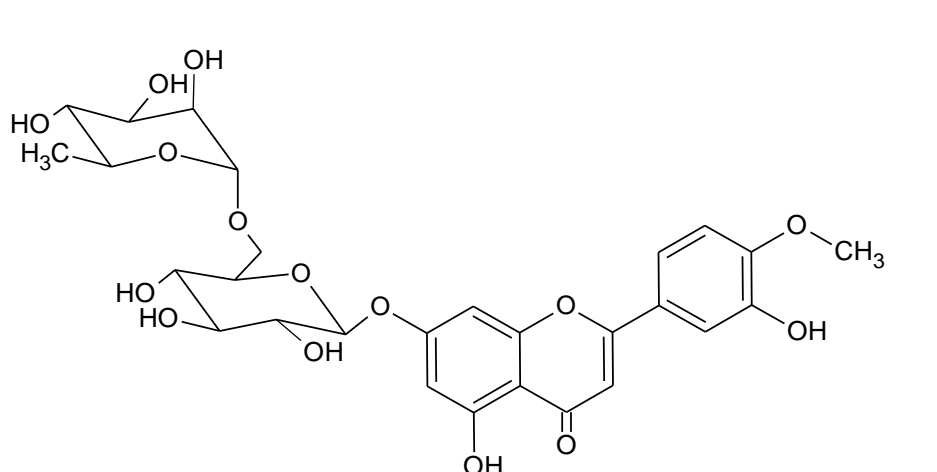
 <p style="text-align: center;">Stellarin-2 (Chrysoeriol-6,8-di-C-glucoside)</p>	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]		
	<i>C. limon</i>	Suco [151]	$C_{28}H_{32}O_{16}$	624,5440
	<i>C. suhuiensis</i>	Casca do fruto [150]		
 <p style="text-align: center;">Chrysoeriol-7-O-rutinoside</p>	<i>C. limon</i>	Suco [151]		
	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]	$C_{28}H_{32}O_{15}$	608,5446
 <p style="text-align: center;">Diosmetin-6-C-glucoside</p>	<i>C. limon</i>	Suco [151] e casca do fruto [2]		
	<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
	<i>C. jambhiri</i>	Casca do fruto [139]	$C_{22}H_{22}O_{11}$	462,4034
	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]		
	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]		
	<i>C. medica</i>	Fruto [150]		

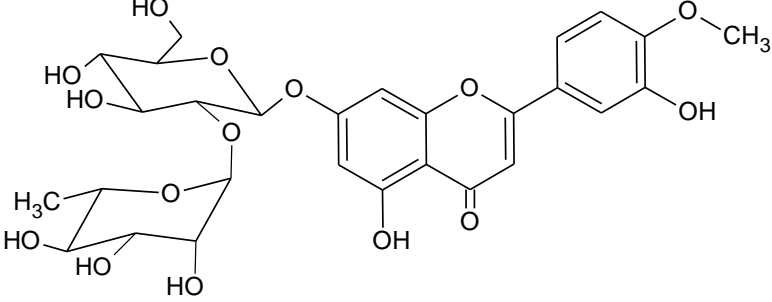
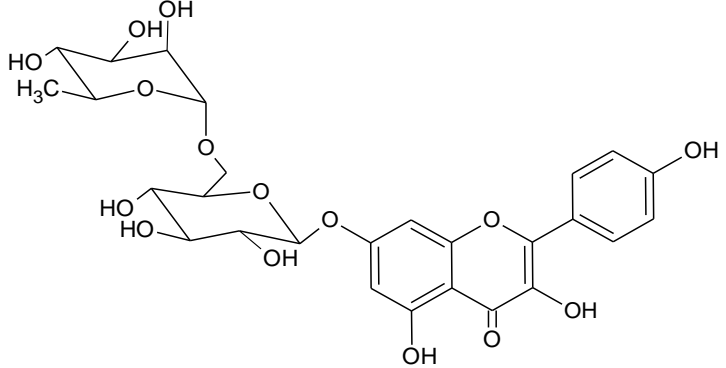
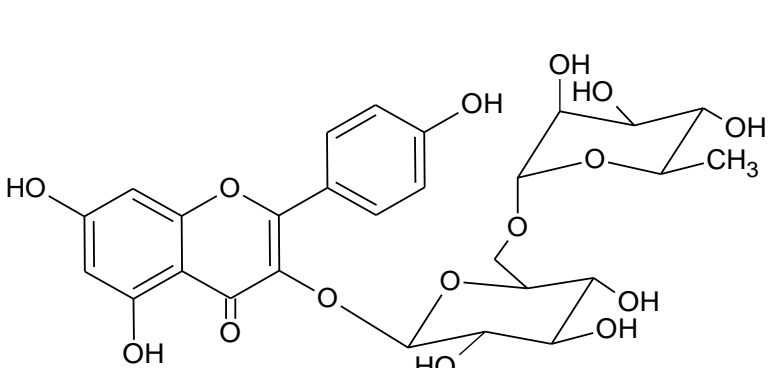


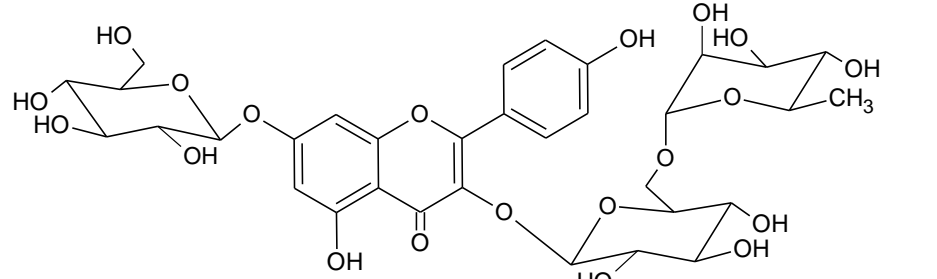
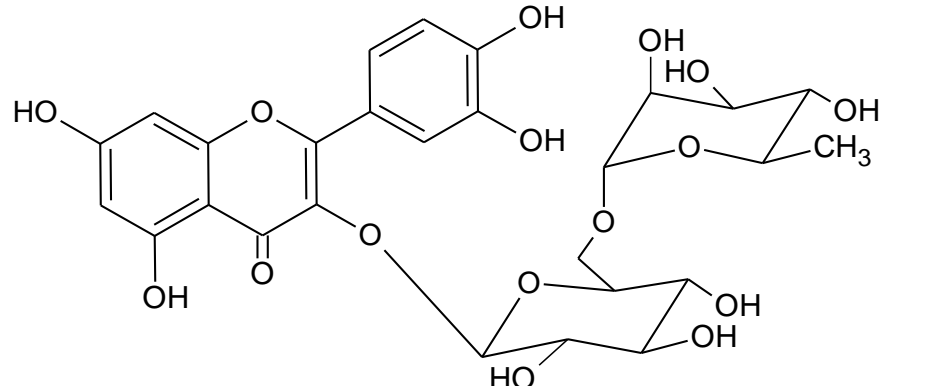
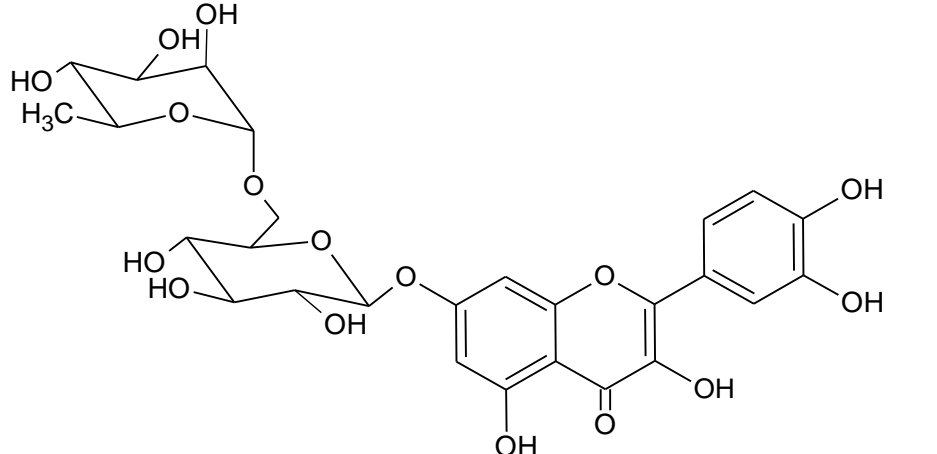
<i>C. unshiu</i>	Suco [151]		
<i>C. reticulata</i>	Suco [151]		
<i>C. limon</i>	Suco [151] e casca do fruto [2]	$C_{22}H_{22}O_{11}$	462,4034
<i>C. aurantium</i>	Folha [137]		
<i>C. sinensis</i>	Folha [137]		

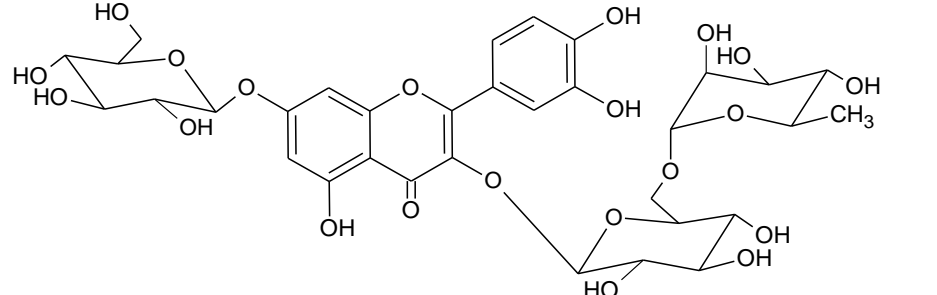
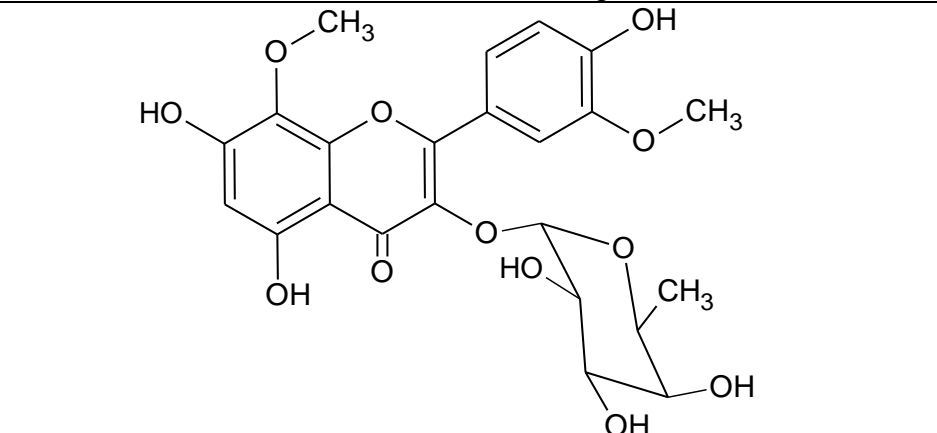
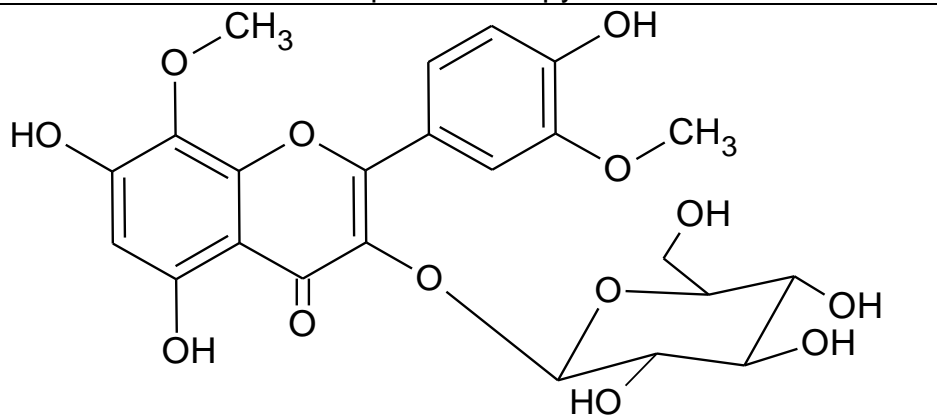


<i>C. unshiu</i>	Suco [151]		
<i>C. reticulata</i>	Suco [127],[151] e fruto [69]		
<i>C. limon</i>	Suco [151]; casca do fruto [2] e fruto [69]		
<i>C. aurantium</i>	Folha [137] e casca do fruto [88]		
<i>C. sinensis</i>	Suco [127],[151]; folha [137] e fruto [69]	$C_{28}H_{32}O_{16}$	624,5440
<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]		
<i>C. aurantifolia</i>	Folha [157] e fruto [69]		
<i>C. medica</i>	Casca do fruto [150]		
<i>C. suhuiensis</i>	Casca do fruto [150]		
<i>C. bergamia</i>	Suco [127]		
<i>C. deliciosa</i>	Suco [127]		
<i>C. clementina</i>	Suco [127]		

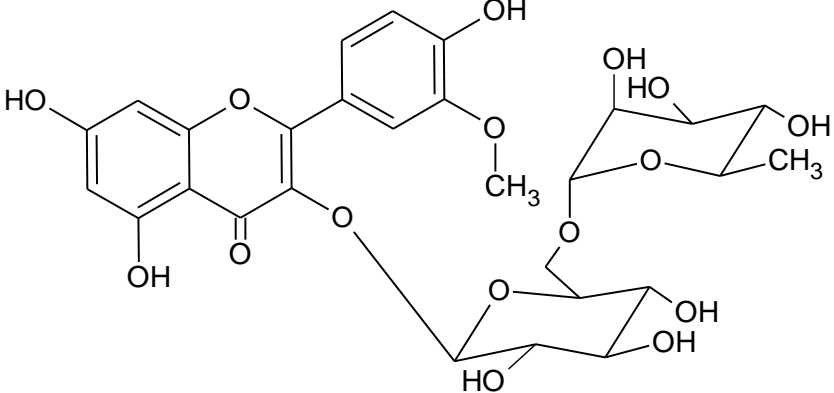
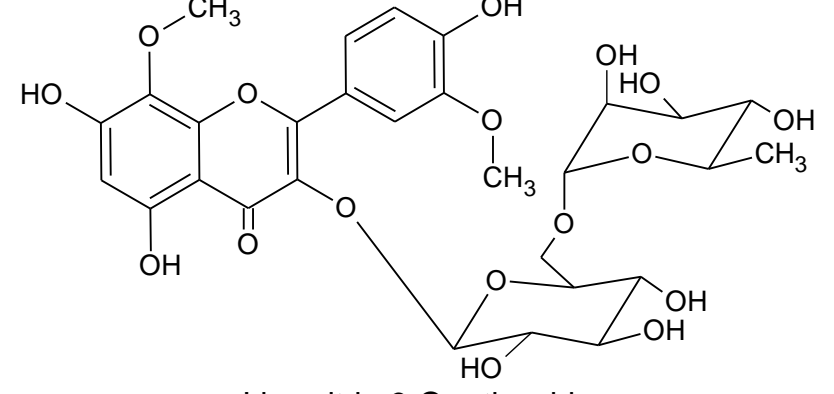
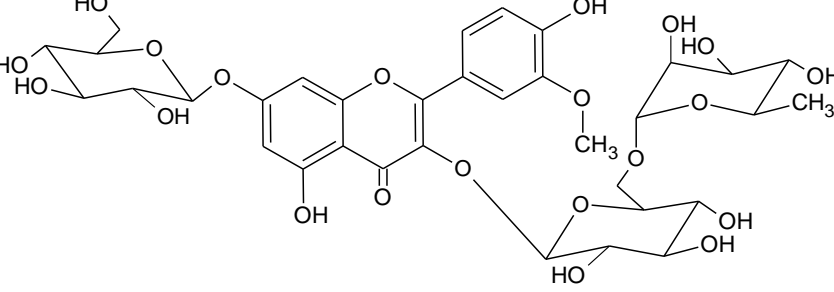
 <p>Diosmetin-3,8-di-C-glucoside</p>	<p><i>C. sudachi</i> Casca do fruto [2]</p> <p><i>C. sinensis</i> Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{28}H_{32}O_{16}$ 624,5440</p>
 <p>Diosmin</p>	<p><i>C. limon</i> Suco [127],[151] e fruto [69]</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151]</p> <p><i>C. unshiu</i> Suco [151]</p> <p><i>C. aurantium</i> Suco [127]</p> <p><i>C. clementina</i> Suco [127]</p> <p><i>C. sinensis</i> Suco [127]; folha [137] e fruto [69]</p> <p><i>C. aurantifolia</i> Suco [127] e fruto [69]</p> <p><i>C. bergamia</i> Suco [127]</p> <p><i>C. medica</i> Fruto [150]</p> <p><i>C. hystrix</i> Fruto e folha [150]</p>	<p>$C_{28}H_{32}O_{15}$ 608,5446</p>

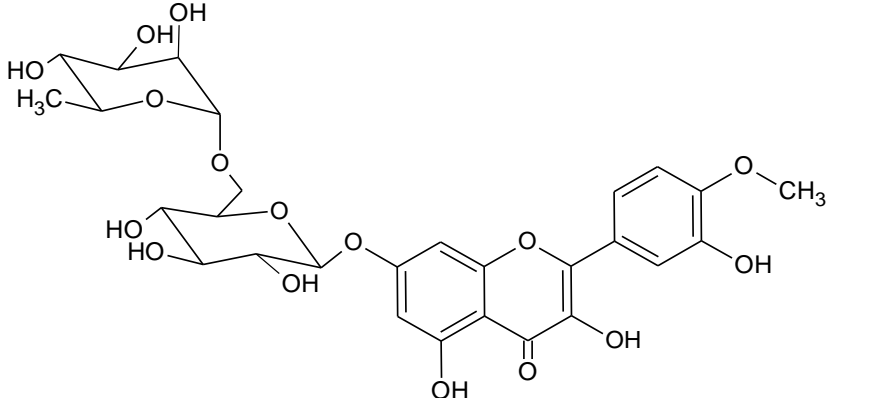
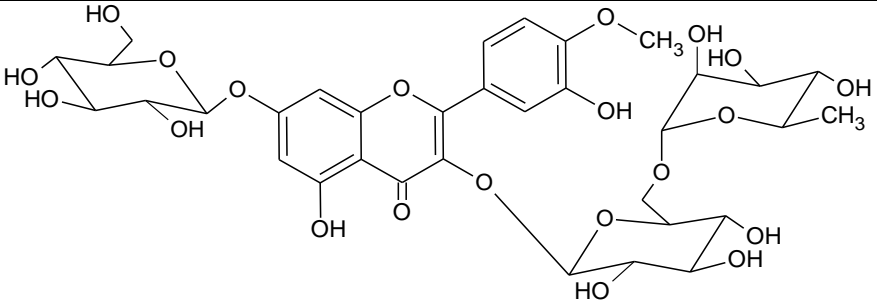
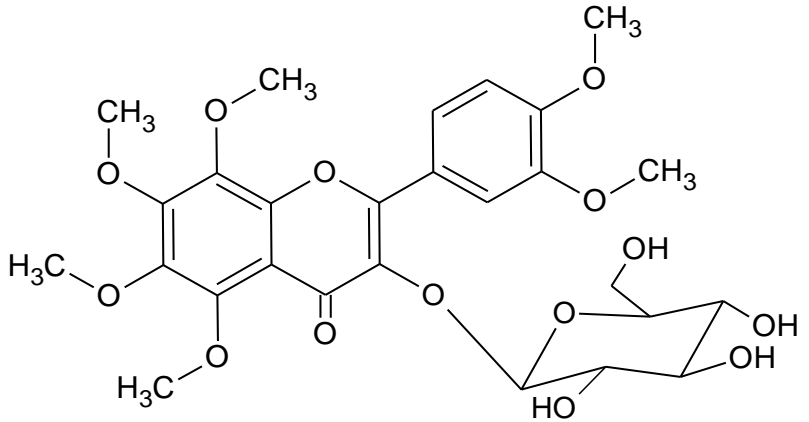
 <p style="text-align: center;">Neodiosmin</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. bergamia</i></p> <p><i>C. aurantium</i></p>	<p>Suco [127]</p> <p>Suco [127]</p> <p>Folha [137] e casca do fruto [88]</p>	<p></p> <p>$C_{28}H_{32}O_{15}$</p> <p></p>	<p></p> <p>608,5446</p> <p></p>
 <p style="text-align: center;">Kaempferol-7-O-rutinoside</p>	<p><i>C. unshiu</i></p> <p><i>C. reticulata</i></p>	<p>Suco [151]</p> <p>Suco [151]</p>	<p></p> <p>$C_{27}H_{30}O_{15}$</p> <p></p>	<p></p> <p>594,5181</p> <p></p>
 <p style="text-align: center;">Kaempferol-3-O-rutinoside</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. unshiu</i></p> <p><i>C. reticulata</i></p> <p><i>C. paradisi</i></p> <p><i>C. limonetta</i></p> <p><i>C. aurantifolia</i></p>	<p>Suco [151]</p> <p>Suco [151]</p> <p>Suco [151]</p> <p>Suco [151]</p> <p>Casca do fruto [47]</p> <p>Cultura de calo [145]</p>	<p></p> <p></p> <p>$C_{27}H_{30}O_{15}$</p> <p></p> <p></p>	<p></p> <p></p> <p>594,5181</p> <p></p> <p></p>

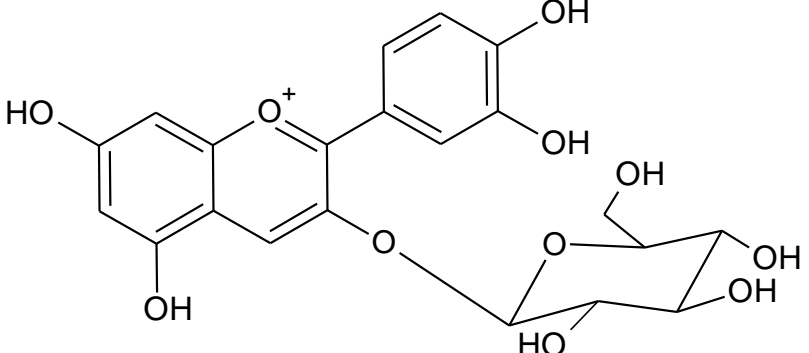
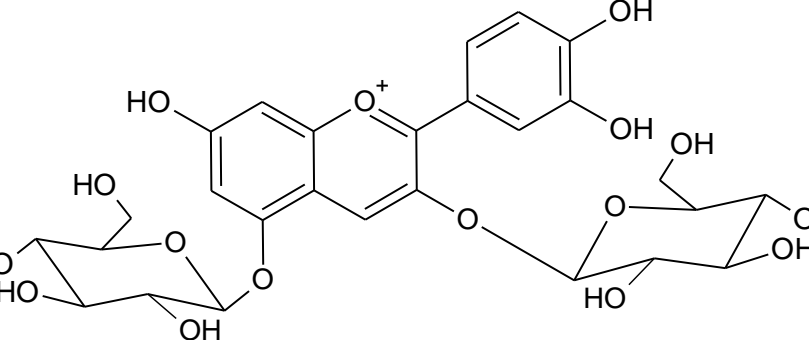
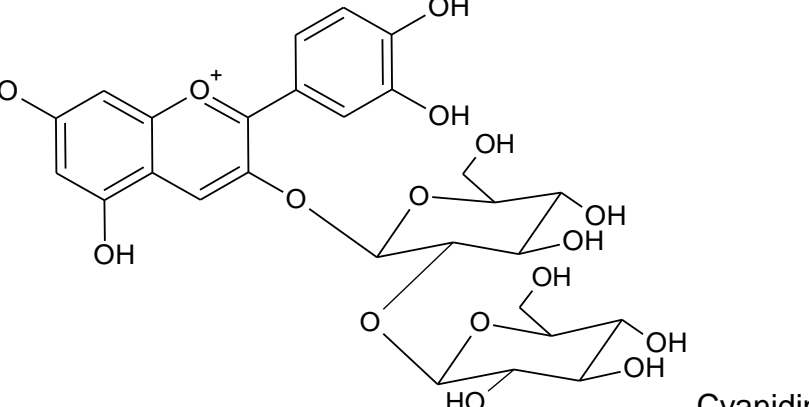
 <p>Kaempferol-3-O-rutinoside-7-O-glucoside</p>	<p><i>C. sinensis</i> Suco [151]</p> <p><i>C. unshiu</i> Suco [151]</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151]</p>	<p>$C_{33}H_{40}O_{20}$ 756,6587</p>
 <p>Rutin</p>	<p><i>C. limon</i> Suco [151]</p> <p><i>C. sinensis</i> Suco [151]</p> <p><i>C. unshiu</i> Suco [151] e casca do fruto [2]</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151] e casca do fruto [21]</p> <p><i>C. hystrix</i> Folha [150]</p> <p><i>C. paradisi</i> Suco [127]</p> <p><i>C. jambhiri</i> Casca do fruto [139]</p>	<p>$C_{27}H_{30}O_{16}$ 610,5175</p>
 <p>Quercetin-7-O-rutinoside</p>	<p><i>C. limon</i> Suco [151]</p> <p><i>C. sinensis</i> Suco [151]</p> <p><i>C. unshiu</i> Suco [151]</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151]</p> <p><i>C. paradisi</i> Suco [151]</p>	<p>$C_{27}H_{30}O_{16}$ 610,5175</p>

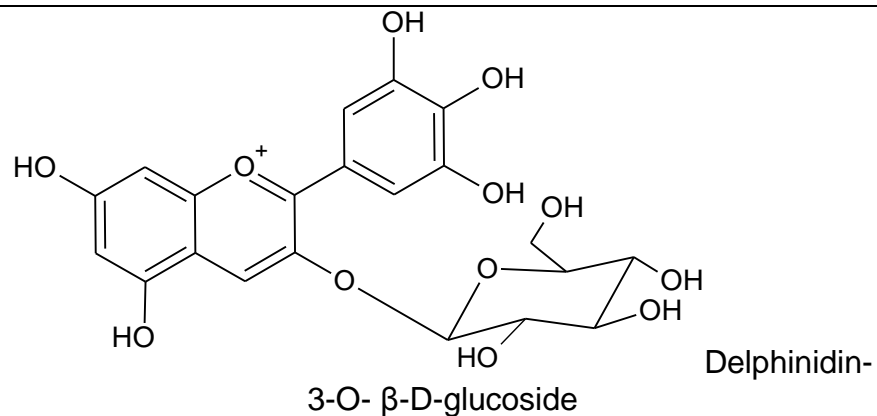
 <p>Quercetin-3-O-rutinoside-7-O-glucoside</p>	<p><i>C. limon</i> Suco [151] <i>C. sinensis</i> Suco [151] <i>C. unshiu</i> Suco [151] <i>C. reticulata</i> Suco [151] <i>C. hystrix</i> Folha [150] <i>C. limonetta</i> Casca do fruto [47]</p>	<p>$C_{33}H_{40}O_{21}$ 772,6581</p>
 <p>Limocitrin-3-β-D-rhamnopyranoside</p>	<p><i>C. unshiu</i> Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{23}H_{24}O_{12}$ 492,4294</p>
 <p>Limocitrin-3-β-D-glucopyranoside</p>	<p><i>C. limon</i> Casca do fruto [2] <i>C. unshiu</i> Casca do fruto [2]</p>	<p>$C_{23}H_{24}O_{23}$ 508,4288</p>

	<i>C. limonetta</i>	Casca do fruto [47]	$C_{24}H_{26}O_{14}$	538,4584
Limocitrol-3-O- β -D-glucoside	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]		
	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]	$C_{25}H_{28}O_{14}$	552,4814
Dihydroxy-5,6,8,4'-tetramethoxyflavone-3-O- β -D-glucopyranoside				
	<i>C. sinensis</i>	Suco [151]		
Isorhamnetin-7-O-rutinoside	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]		
	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]	$C_{28}H_{32}O_{16}$	624,5440
	<i>C. limon</i>	Suco [151]		

 <p>Isorhamnetin-3-O-rutinoside (Narcissin)</p>	<p><i>C. sinensis</i> Suco [151]</p> <p><i>C. unshiu</i> Suco [151] e casca do fruto [2]</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151]</p> <p><i>C. limon</i> Suco [151] $C_{28}H_{32}O_{16}$ 624,5440</p> <p><i>C. limonetta</i> Casca do fruto [47]</p>
 <p>Limocitrin-3-O-rutinoside</p>	<p><i>C. limon</i> Fruto [69] e casca do fruto [2]</p> <p><i>C. aurantifolia</i> Fruto [69] $C_{29}H_{34}O_{17}$ 654,5700</p> <p><i>C. paradisi</i> Fruto [69]</p>
 <p>Isorhamnetin-3-O-rutinoside-7-O-glucoside</p>	<p><i>C. sinensis</i> Suco [151]</p> <p><i>C. unshiu</i> Suco [151] $C_{34}H_{42}O_{21}$ 786,6846</p> <p><i>C. reticulata</i> Suco [151]</p>

 <p>Tamarixetin-7-O-rutinoside</p>	<i>C. reticulata</i>	Suco [151]	$C_{28}H_{32}O_{16}$	624,5440
 <p>Tamarixetin-3-O-rutinoside-7-O-glucoside</p>	<i>C. unshiu</i>	Suco [151]	$C_{34}H_{42}O_{21}$	786,6846
 <p>5,6,7,8,3',4'-Hexamethoxy-3-O-β-D-glucosylflavone</p>	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2] e melão* [41]	$C_{27}H_{32}O_{14}$	580,5345
	<i>C. sinensis</i>	Casca do fruto [2]		

 <p>Cyanidin-3-O- β-D-glucoside</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [160]	$C_{21}H_{21}O_{11}$	449,3842
 <p>Cyanidin-3,5-O- β-D-diglucoside</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [160]	$C_{27}H_{31}O_{16}$	611,5248
 <p>Cyanidin-3-O-sophoroside</p>	<i>C. sinensis</i> ****	Suco [160]	$C_{27}H_{31}O_{16}$	611,5248

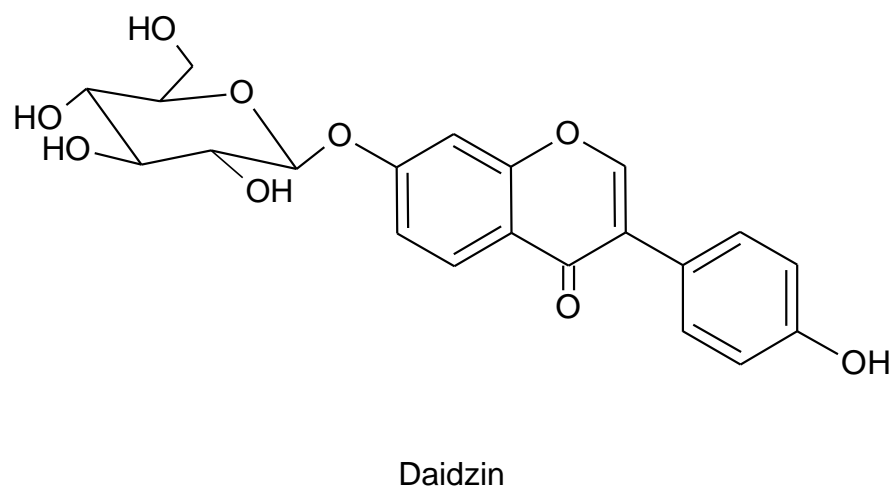


*C. sinensis*****

Suco [160]

$C_{21}H_{21}O_{12}$

465,3836



C. wilsonii

Folha; broto e talo
[148]

C. macrophylla

Folha; broto e talo
[148]

C. junos

Folha; broto e talo
[148]

C. ichangensis

Folha; broto e talo
[148]

C. hassaku

Folha; broto e talo
[148]

C. sinensis x
P. trifoliata

Folha; broto e talo
[148]

$C_{21}H_{20}O_9$

416,3781

C. asahikan

Folha; broto e talo
[148]

C. bergamia

Folha; broto e talo
[148]

C. glaberrima

Folha; broto e talo
[148]

C. sinensis

Folha [149]

C. limonia

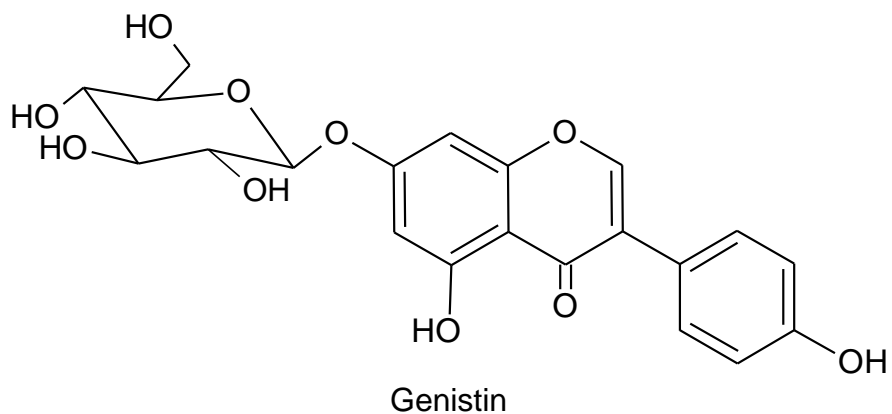
Folha [149]

C. grandis

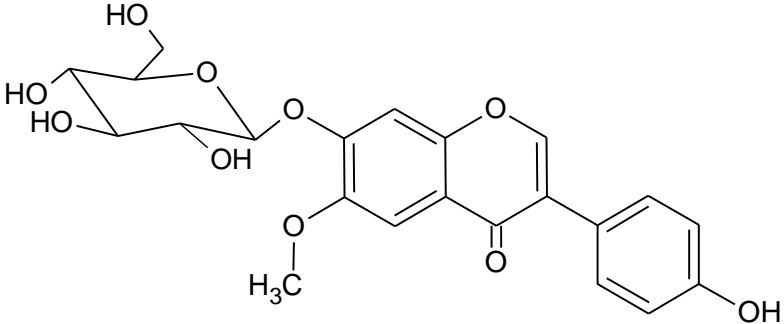
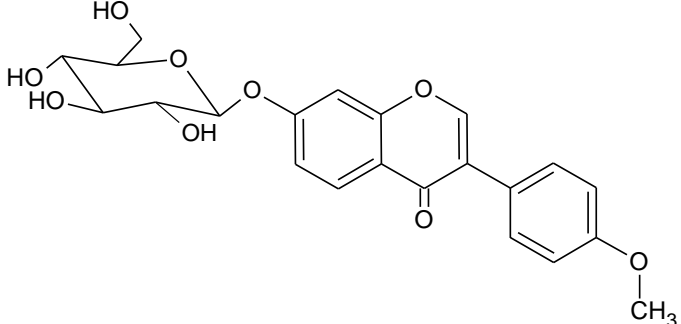
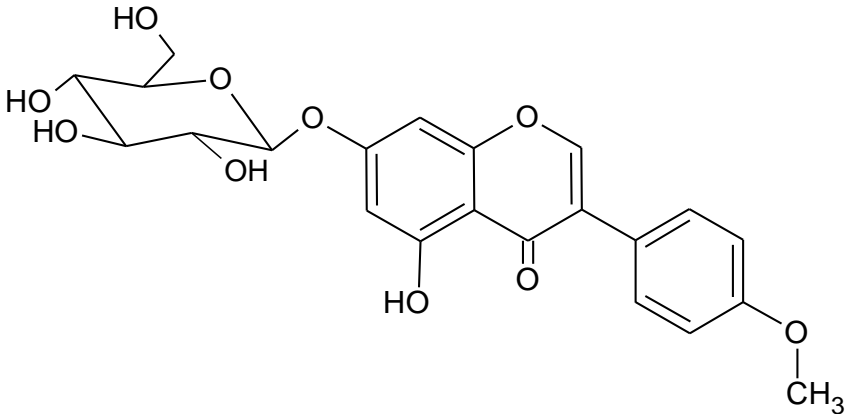
Folha [149]

C. aurantium

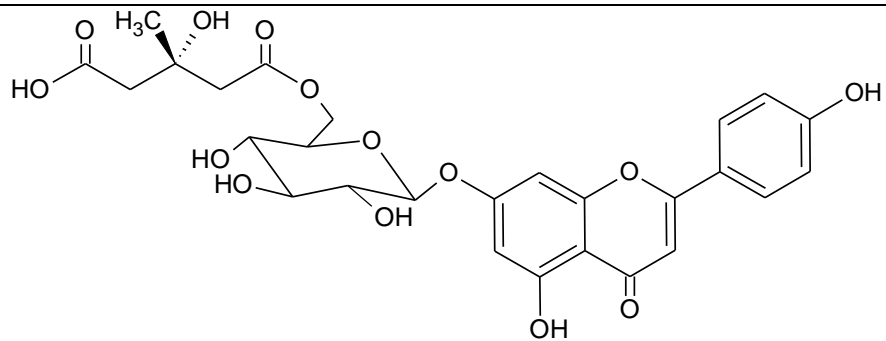
Folha [149]



<i>C. wilsonii</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. macroptera</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. paradisi</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. macrophylla</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. junos</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. jambhiri</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. ichangensis</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. hassaku</i>	Folha; broto e talo [148]	$C_{21}H_{20}O_{10}$	432,3775
<i>C. sinensis x P. trifoliata</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. asahikan</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. bergamia</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. glaberrima</i>	Folha; broto e talo [148]		
<i>C. sinensis</i>	Folha [149]		
<i>C. limonia</i>	Folha [149]		
<i>C. grandis</i>	Folha [149]		
<i>C. aurantium</i>	Folha [149]		

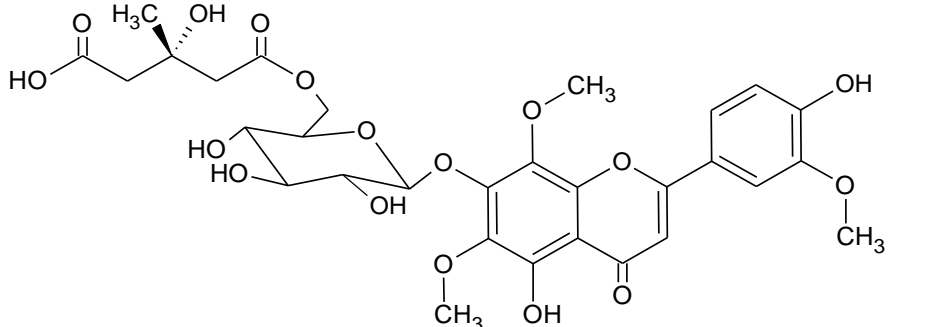
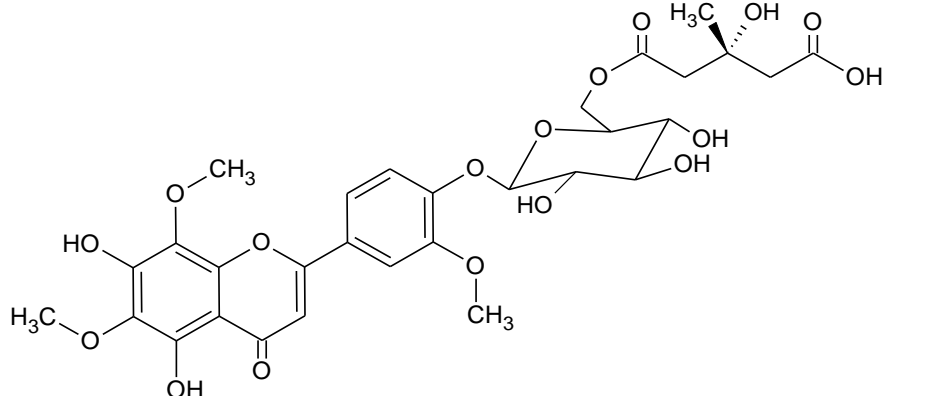
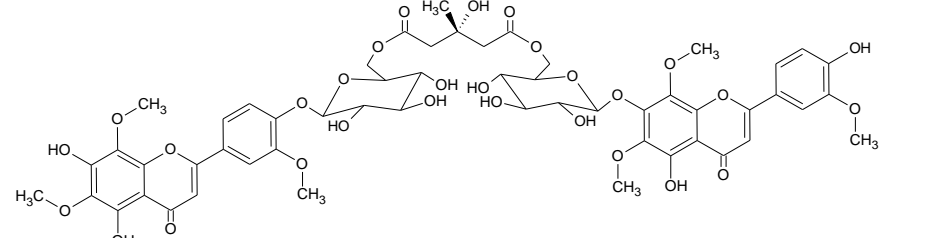
 <p style="text-align: center;">Glycitin</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. limonia</i></p> <p><i>C. grandis</i></p> <p><i>C. aurantium</i></p>	<p>Folha [149]</p> <p>Folha [149]</p> <p>Folha [149]</p> <p>Folha [149]</p>	<p></p> <p></p> <p>$C_{22}H_{22}O_{10}$</p> <p></p>	<p></p> <p></p> <p>446,4040</p> <p></p>
 <p style="text-align: center;">Ononin</p>	<p><i>C. sinensis</i></p> <p><i>C. limonia</i></p> <p><i>C. grandis</i></p> <p><i>C. aurantium</i></p>	<p>Folha [149]</p> <p>Folha [149]</p> <p>Folha [149]</p> <p>Folha [149]</p>	<p></p> <p></p> <p>$C_{22}H_{22}O_9$</p> <p></p>	<p></p> <p></p> <p>430,4046</p> <p></p>
 <p style="text-align: center;">Sissotrin</p>	<p><i>C. wilsonii</i></p> <p><i>C. macroptera</i></p> <p><i>C. paradisi</i></p> <p><i>C. macrophylla</i></p> <p><i>C. junos</i></p> <p><i>C. jambhiri</i></p> <p><i>C. ichangensis</i></p>	<p>Folha; broto e talo [148]</p> <p>Folha; broto e talo [148]</p> <p>Folha; broto e talo [148]</p> <p>Folha; broto e talo [148]</p> <p>Folha; broto e talo [148]</p> <p>Folha; broto e talo [148]</p> <p>Folha; broto e talo</p>	<p></p> <p></p> <p>$C_{22}H_{22}O_{10}$</p> <p></p> <p></p> <p></p> <p></p>	<p></p> <p></p> <p>446,4040</p> <p></p> <p></p> <p></p>

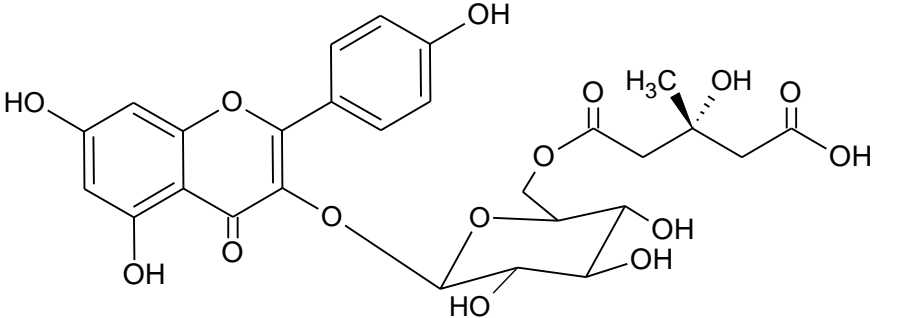
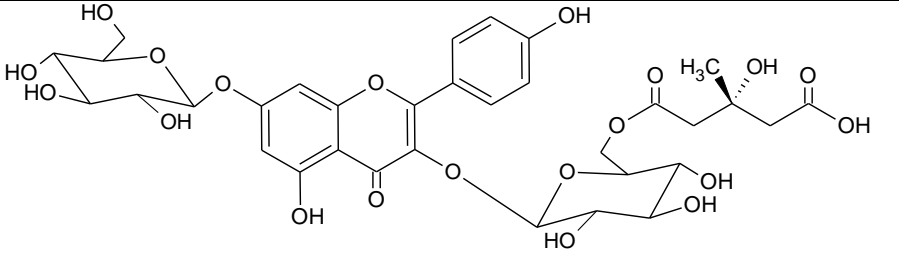
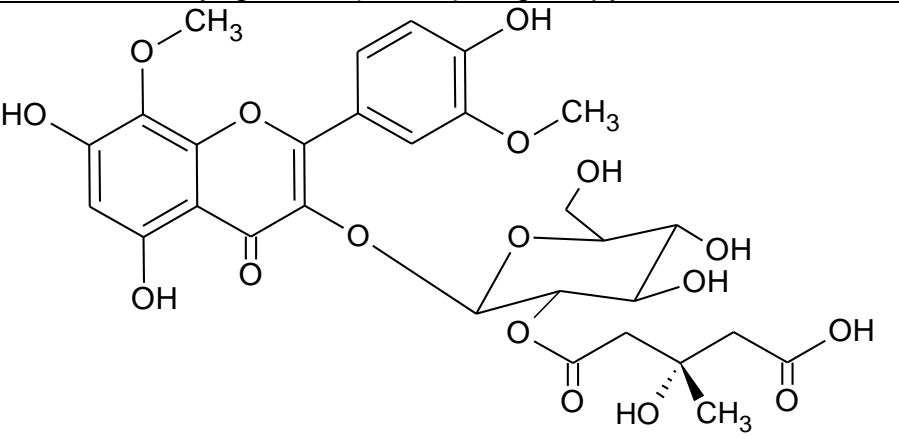
	[148]
<i>C. hassaku</i>	Folha; broto e talo [148]
<i>C. sinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>	Folha; broto e talo [148]
<i>C. asahikan</i>	Folha; broto e talo [148]
<i>C. bergamia</i>	Folha; broto e talo [148]
<i>C. glaberrima</i>	Folha; broto e talo [148]
<i>C. sinensis</i>	Folha [149]
<i>C. limonia</i>	Folha [149]
<i>C. grandis</i>	Folha [149]
<i>C. aurantium</i>	Folha [149]

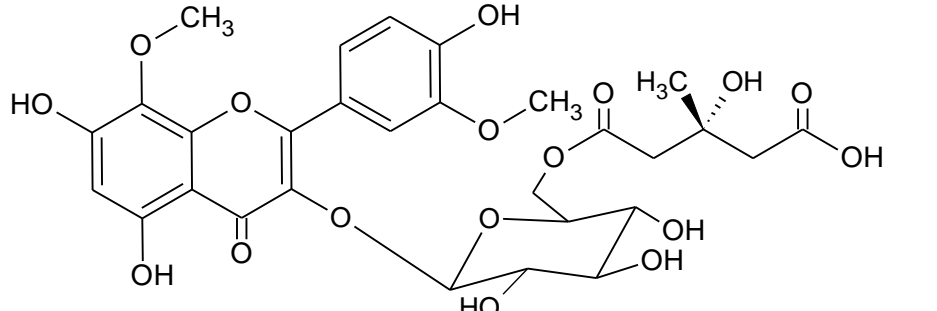
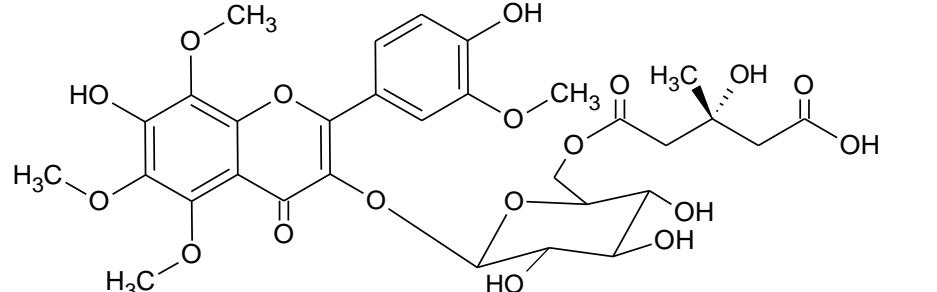
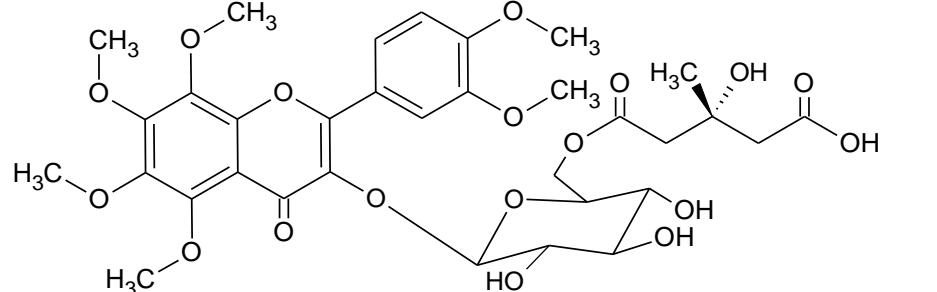


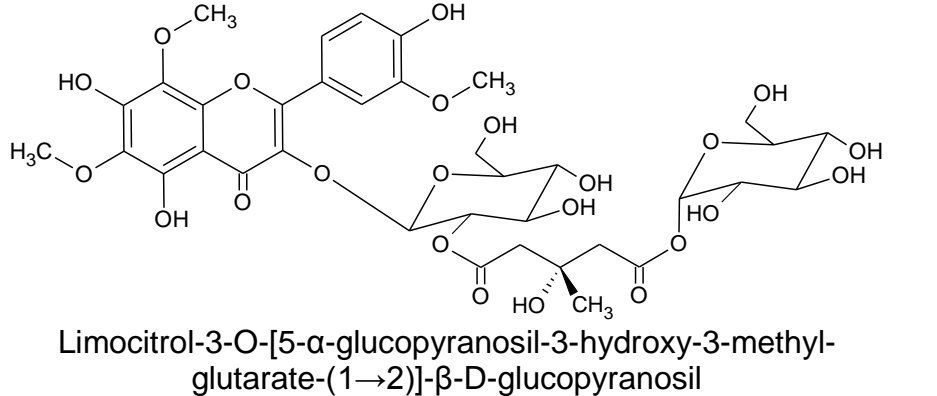
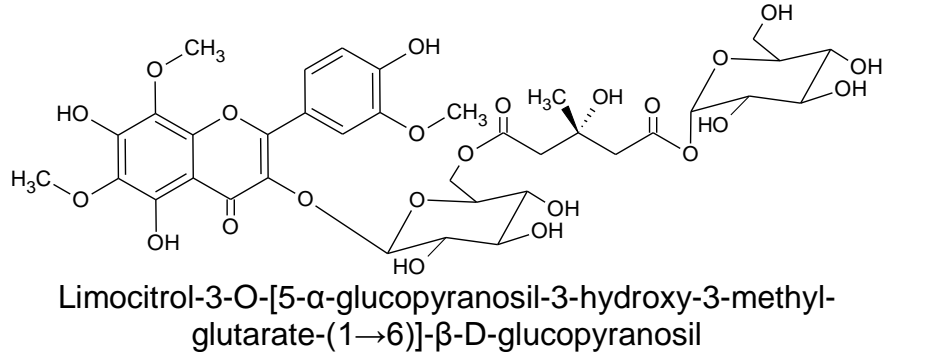
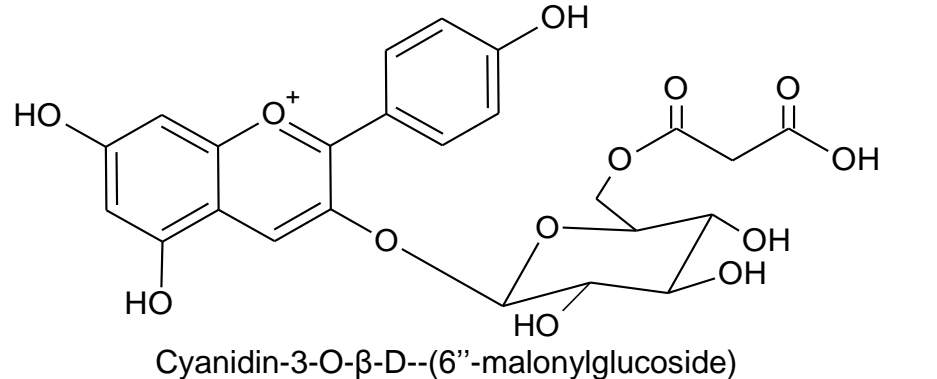
3'-Demethoxysudachiin

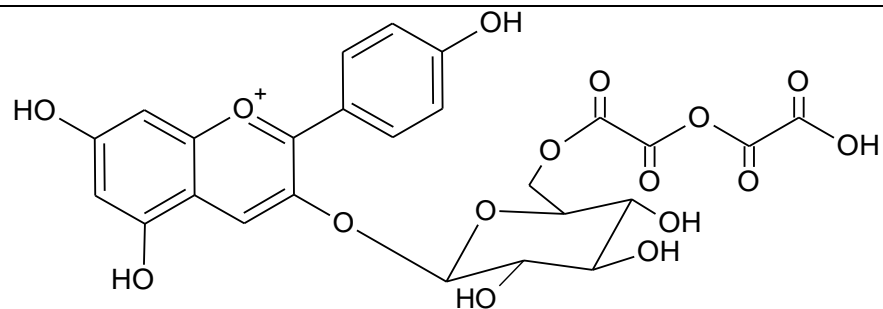
<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29]	$C_{27}H_{28}O_{14}$	576,5028
-------------------	---------------------	----------------------	----------

 <p style="text-align: center;">Sudachiin C</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [29] e casca do fruto imaturo [159]	$C_{30}H_{34}O_{17}$	666,5807
 <p style="text-align: center;">Sudachiin B</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto [2],[29] e casca do fruto imaturo [159]	$C_{30}H_{34}O_{17}$	666,5807
 <p style="text-align: center;">Sudachiin D</p>	<i>C. sudachi</i>	Casca do fruto imaturo [159]	$C_{54}H_{58}O_{29}$	1171,0209

 <p data-bbox="235 454 1041 534">Kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside-6''-(3-hydroxy-3-methyl-glutarate)</p>	<i>C. aurantifolia</i>	Cultura de calo [145]	$C_{27}H_{28}O_{15}$	592,5022
 <p data-bbox="235 790 1041 861">Kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside-6''-(3-hydroxy-3-methyl-glutarate)-7-O-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. aurantifolia</i>	Cultura de calo [145]	$C_{33}H_{38}O_{20}$	754,6428
 <p data-bbox="235 1300 1041 1364">Limocitrin-3-O-[3-hydroxy-3-methyl-glutarate-(1→2)]-β-D-glucopyranosil</p>	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]	$C_{29}H_{32}O_{17}$	652,5541

 <p data-bbox="219 459 1032 531">Limocitrin-3-O-[3-hydroxy-3-methyl-glutarate-(1→6)]-β-D-glucopyranosil</p>	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]	C ₂₉ H ₃₂ O ₁₇	652,5541
 <p data-bbox="197 842 1055 914">7,4'-Hydroxy-5,6,8,4'-tetramethoxyflavone-3-O-[3-hydroxy-3-methyl-glutarate-(1→6)]-β-D-glucopyranosil</p>	<i>C. unshiu</i>	Casca do fruto [2]	C ₃₁ H ₃₆ O ₁₈	696,6067
 <p data-bbox="241 1225 1010 1292">5,6,7,8,3',4'-Hexamethoxy-3-β-D-[4-O-(3-hydroxy-3-methylglutaroyl)]-glucosylflavone</p>	<i>C. unshiu</i>	Melaço* [41]	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₈	724,6599

 <p>Limocitrol-3-O-[5-α-glucopyranosil-3-hydroxy-3-methylglutarate-(1→2)]-β-D-glucopyranosil</p>	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]	C ₃₆ H ₄₄ O ₂₃	844,7207
 <p>Limocitrol-3-O-[5-α-glucopyranosil-3-hydroxy-3-methylglutarate-(1→6)]-β-D-glucopyranosil</p>	<i>C. limon</i>	Casca do fruto [2]	C ₃₆ H ₄₄ O ₂₃	844,7207
 <p>Cyanidin-3-O-β-D-(6''-malonylglucoside)</p>	<i>C. sinensis</i>	Suco [160]	C ₂₄ H ₂₃ O ₁₃	519,4310



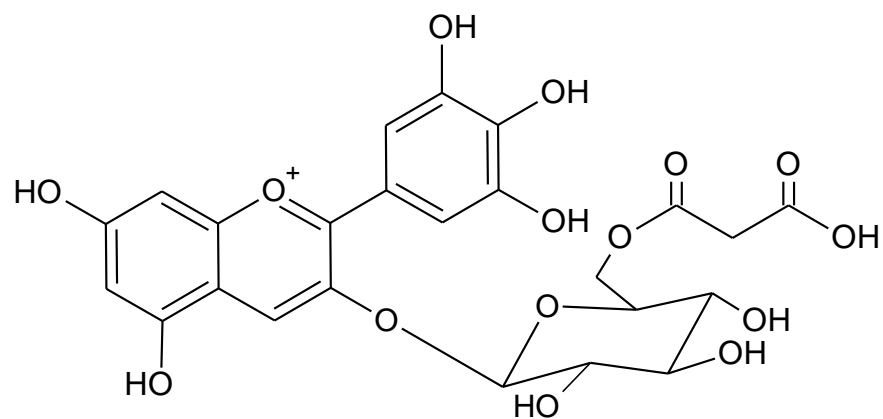
Cyanidin-3-O-β-D--(6''dioxyallyl)glucoside)

C. sinensis

Suco [160]

$C_{25}H_{21}O_{16}$

577,4240



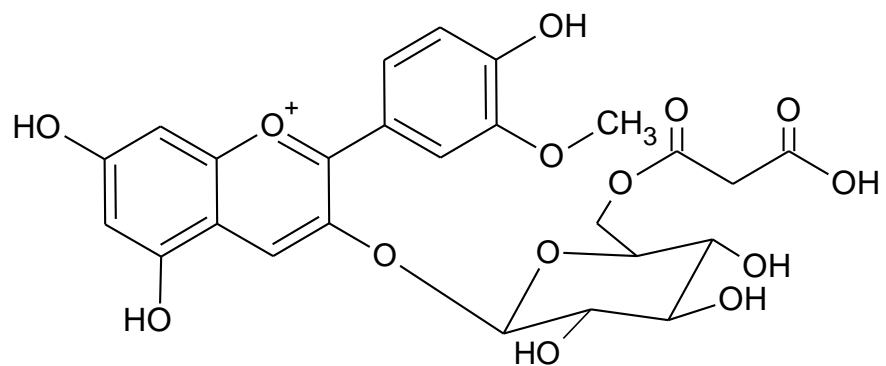
Delphinidin-3-(6''-malonyl)glucoside)

C. sinensis

Suco [160]

$C_{24}H_{23}O_{15}$

551,4298



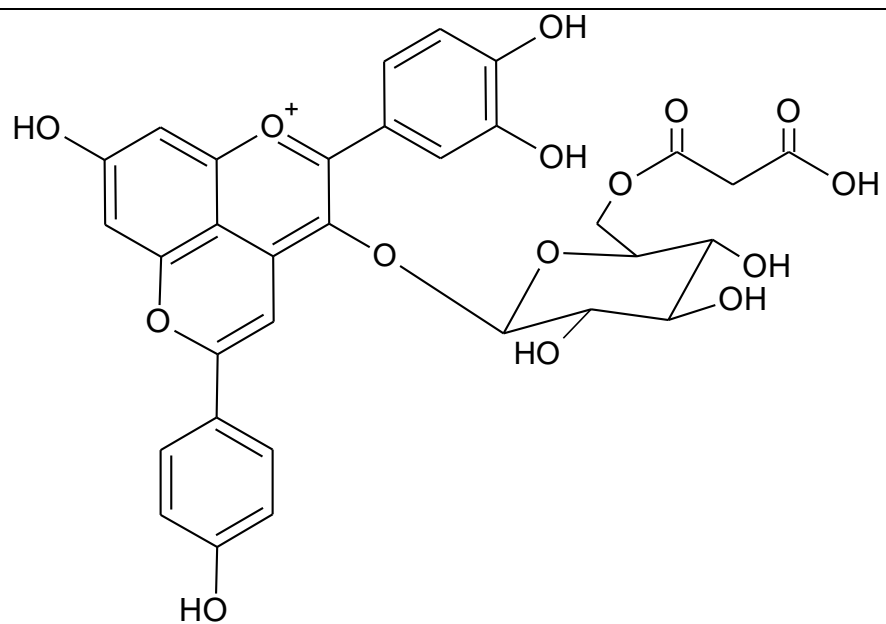
Peonidin-3-(6''-malonylglucoside)

C. sinensis

Suco [160]

$C_{25}H_{25}O_{14}$

549,4570



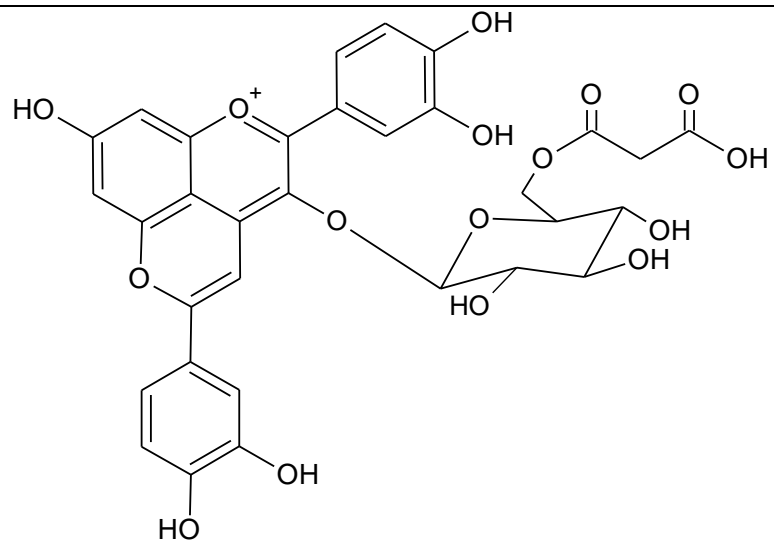
Cyanidin-3-O- β -D--(6''-dioxyalylglucoside)-4-vinylphenol

C. sinens

Suco [160]

$C_{32}H_{27}O_{15}$

651,5472



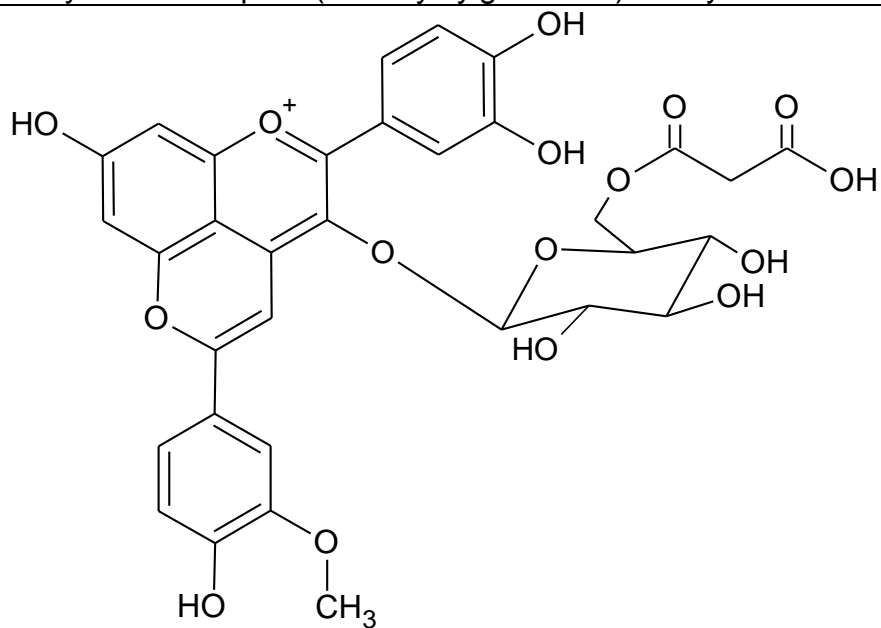
Cyanidin-3-O- β -D--(6''-dioxyallylglucoside)-4-vinylcatechol

C. sinensis

Suco [160]

$C_{32}H_{27}O_{16}$

667,5466



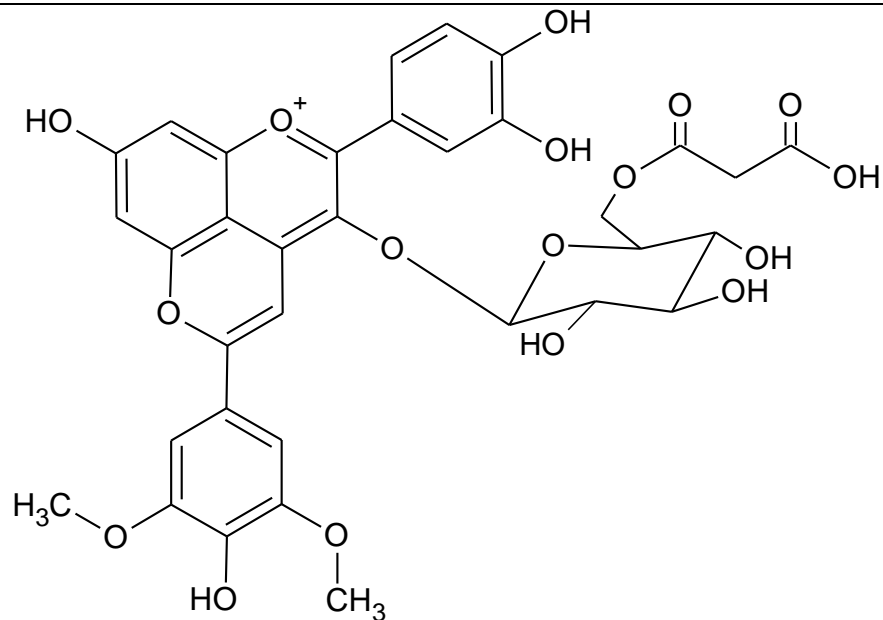
Cyanidin-3-O- β -D--(6''-dioxyallylglucoside)-4-vinylguaiacol

C. sinensis

Suco [160]

$C_{33}H_{29}O_{16}$

681.5732



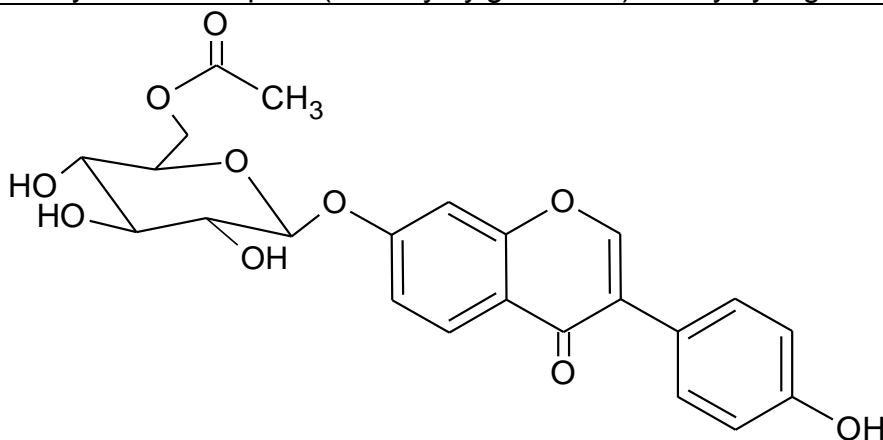
Cyanidin-3-O-β-D--(6''dioxyallylglucoside)-4-vinylsyringol

C. sinensis

Suco [160]

C₃₄H₃₁O₁₇

711,5991



Daidzin-6''-O-acetate

C. limonia

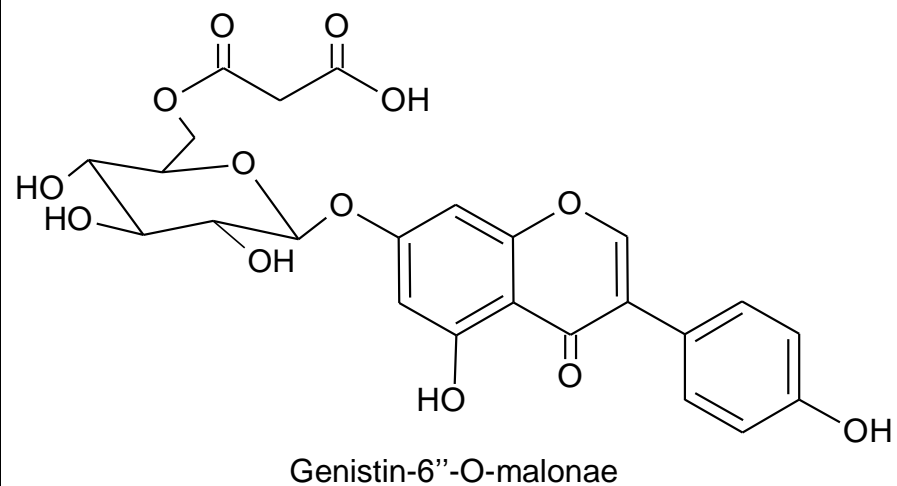
Folha [149]

C₂₃H₂₂O₁₀

458,4147

C. aurantium

Folha [149]

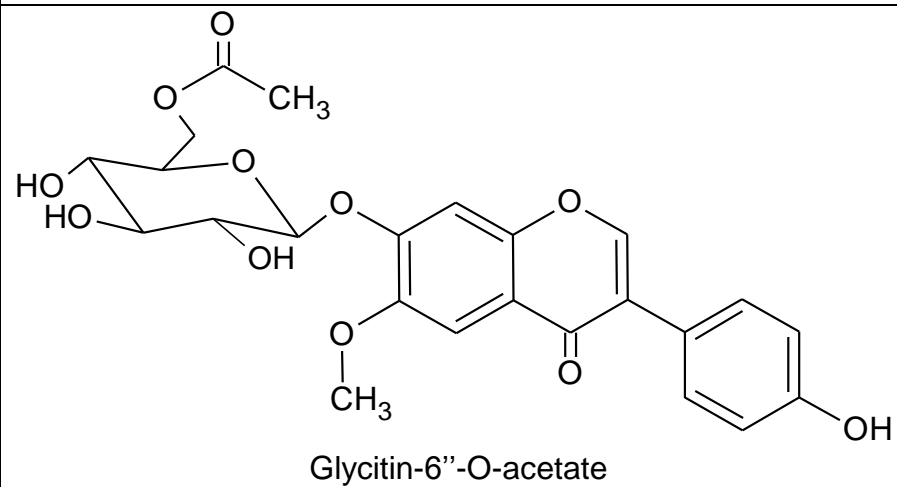


C. aurantium

Folha [149]

$C_{24}H_{22}O_{13}$

518,4236



C. aurantium

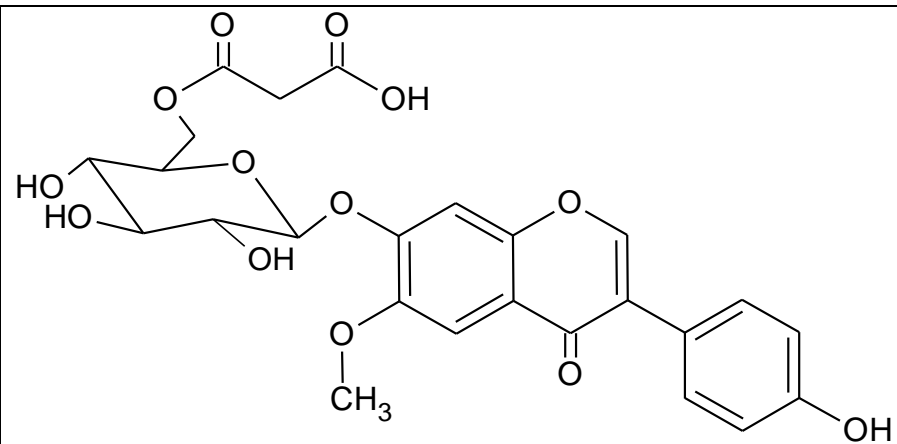
Folha [149]

$C_{24}H_{24}O_{11}$

488,4407

C. grandis

Folha [149]



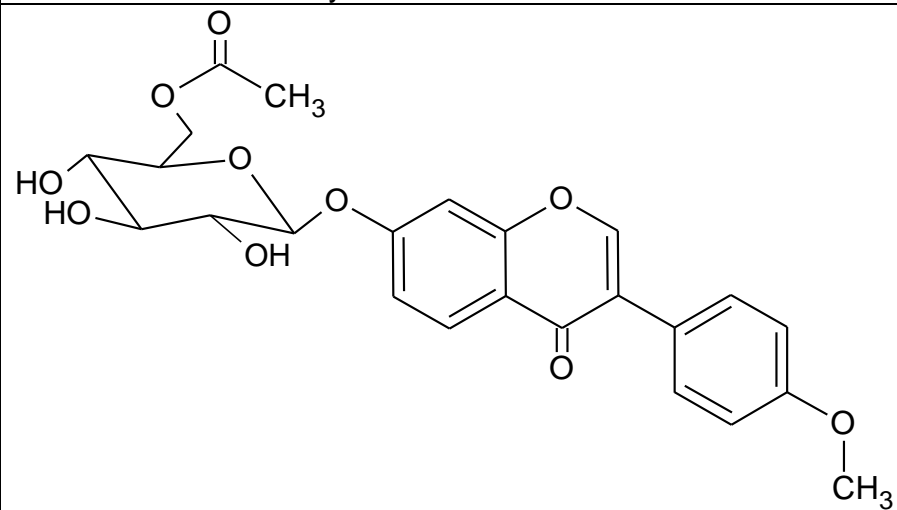
Glycitin-6''-O-malonae

C. limonia

Folha [149]

$C_{25}H_{24}O_{13}$

532,4502



Ononin-6''-O-acetate

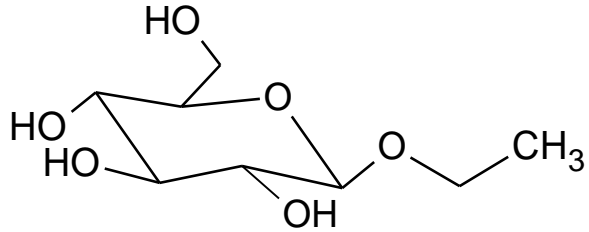
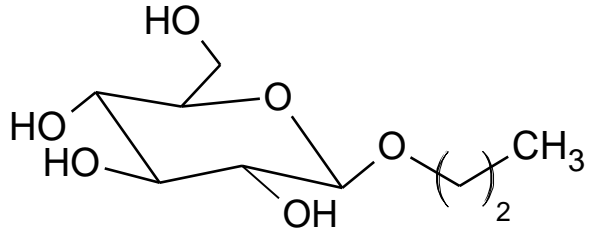
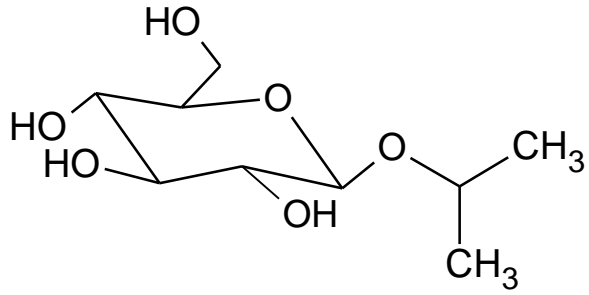
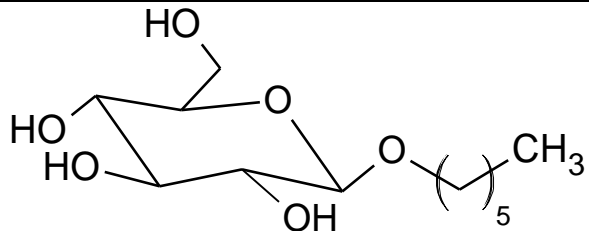
C. aurantium

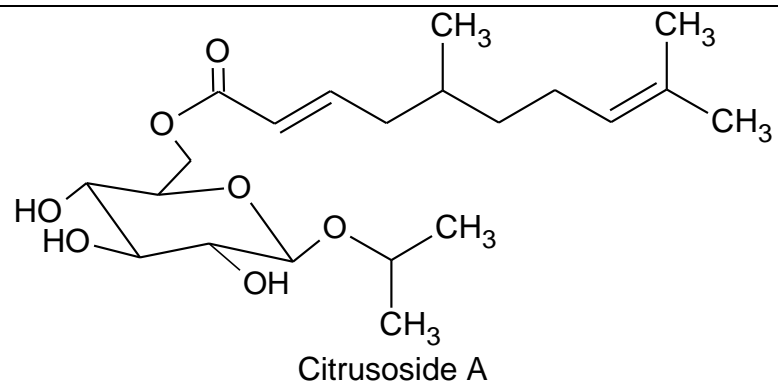
Folha [149]

$C_{24}H_{24}O_{10}$

472,4413

Outros

 <p>1-O-Ethyl-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]	C ₈ H ₁₆ O ₆	208,2090
	<i>C. junos</i>	Casca do fruto [2]	C ₉ H ₁₈ O ₆	222,2356
 <p>1-O-Isopropyl-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. hystrix</i>	Casca do fruto [6]	C ₉ H ₁₈ O ₆	222,2356
 <p>1-O-Hexyl-β-D-glucopyranoside</p>	<i>C. iyo</i>	Casca do fruto [6]	C ₁₂ H ₂₄ O ₆	264,3153

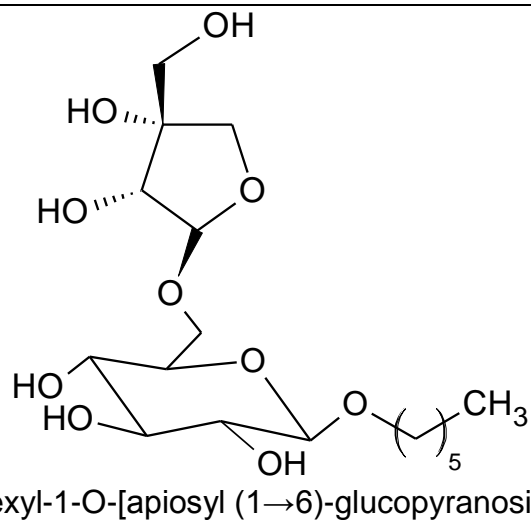


C. hystrix

Casca do fruto [6]

$C_{21}H_{36}O_7$

400,5063

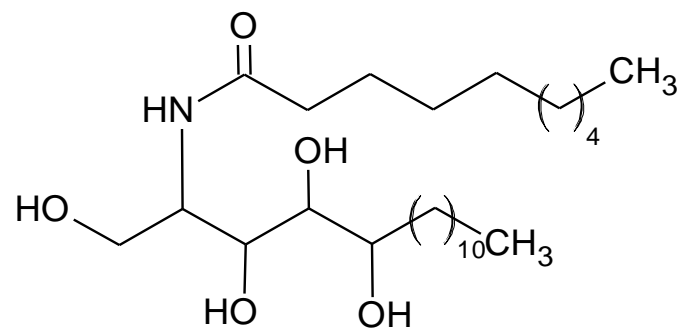


C. hasssaku

Casca do fruto [6]

$C_{17}H_{32}O_{10}$

396,4299

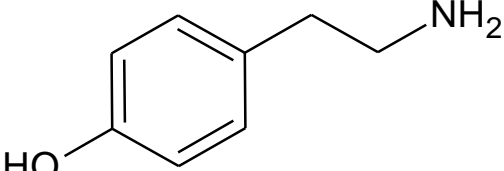
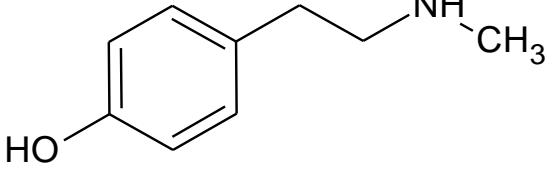
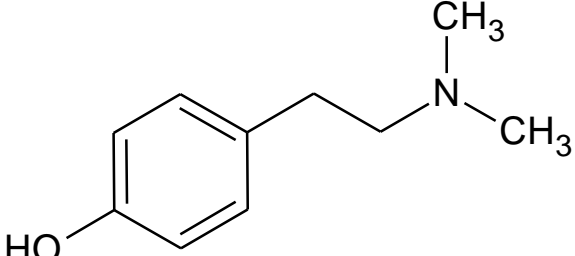
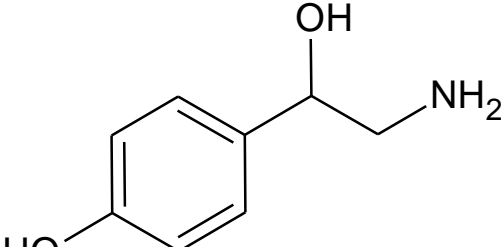


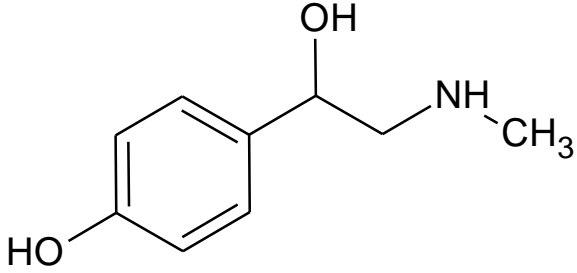
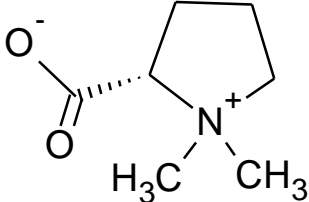
C. sinensis

Folha [8]

$C_{26}H_{53}NO_5$

459,7027

 Tyramine	<i>C. aurantium</i>	Frutos [128], frutos imaturo e casca do fruto maduro [161]	$C_8H_{11}NO$	137,1790
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto maduro e imaturo [161]		
	<i>C.unshiu</i>	casca do fruto imaturo [161]		
 N-Methyltyramine	<i>C. aurantium</i>	Frutos imaturo e casca do fruto maduro [161]	$C_9H_{13}NO$	151,2056
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto maduro e imaturo [161]		
	<i>C.unshiu</i>	casca do fruto imaturo [161]		
 Hordenine	<i>C. aurantium</i>	Frutos imaturo e casca do fruto maduro [161]	$C_{10}H_{15}NO$	165,2322
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto maduro e imaturo [161]		
	<i>C.unshiu</i>	casca do fruto imaturo [161]		
 Octapamine	<i>C. aurantium</i>	Frutos [128], frutos imaturo e casca do fruto maduro [161]	$C_8H_{11}NO_2$	153,1784
	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto maduro e imaturo [161]		
	<i>C.unshiu</i>	casca do fruto imaturo [161]		

	<i>C. aurantium</i>	Frutos [128], frutos imaturo e casca do fruto maduro [161]	$C_9H_{13}NO_2$	167,2050
Synephrine	<i>C. reticulata</i>	Casca do fruto maduro e imaturo [161]	$C_9H_{13}NO_2$	167,2050
	<i>C. unshiu</i>	casca do fruto imaturo [161]		
	<i>C. unshiu</i>	Folhas [120]	$C_7H_{13}NO_2$	143,1836
(-)-Sracydrine				

Referencias Bibliográficas

- [1] H. Yokoyama, M.J. White, *Phytochemistry* 5 (1966) 1159.
- [2] A. SAWABE, H. KUMAMO, Y. MATSUBA, *Bull. Inst. Compr. Agric. Sci. Kinki Univ.* 67 (1998) 57.
- [3] Y. MATSUBARA, A. SAWABE, Y. IIZUKA, K. OKAMOTO, *J. Japan Oil Chem. Soc.* 37 (1988) 13.
- [4] T. Wu, *Phytochemistry* 26 (1987) 3094.
- [5] T.-S. WU, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 31 (1983) 901.
- [6] J. Youkwan, S. Sutthivaiyakit, P. Sutthivaiyakit, *Journal Nat. Prod. Nat. Prod.* 73 (2010) 1879.
- [7] J.G. Luis, J.R. Herrera, A. Bello, *Nat. Prod. Lett.* 14 (2000) 379.
- [8] M. Saleem, A. Farooq, S. Ahmad, N. Shafiq, N. Riaz, A. Jabbar, M. Arshad, A. Malik, *J. Asian Nat. Prod. Res.* 12 (2010) 702.
- [9] A.B. RIBEIRO, P.V. ABDELNUR, C.F. GARCIA, A. BELINI, V.G.P. SEVERINO, M.F.D.G.F. DA SILVA, J.B. FERNANDES, P.C. Vieira, S.A. DE CARVALHO, A.A. DE SOUZA, M.A. MACHADO, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 7815.
- [10] J.H. Tatum, R.E. Berry, *Phytochemistry* 11 (1972) 2283.
- [11] A. WEIZMANN, Y. MAZUR, *J. Org. Chem.* 23 (1958) 832.
- [12] Y.-Y. CHAN, C.-H. LI, Y.-C. SHEN, T.-S. WU, *Chem. Pharm. Bull.* 58 (2010) 61.
- [13] B.L. Williams, L.J. Gohdt, T.W. GOODWIN, *Phytochemistry* 6 (1967) 1137.
- [14] A. WEIZMANN, A. MEISELS, Y. MAZUR, *J. Org. Chem.* 20 (1955) 1173.
- [15] Y. IWASE, M. TAKAHASHI, Y. TAKEMURA, M. JU-ICHI, C. ITO, H. FURUKAWA, M. YANO, *Chem. Pharm. Bull.* 49 (2001) 1356.
- [16] B.P. Chaliha, G.P. Sastry, P.R. Rao, *Tetrahedron* 21 (1965) 1441.
- [17] M.Z. El-Readi, D. Hamdan, N. Farrag, A. El-Shazly, M. Wink, *Eur. J. Pharmacol.* 626 (2010) 139.
- [18] H. YOKOYAMA, M.J. WHITE, *Phytochemistry* 7 (1968) 493.

- [19] B.K. Anh, D.A. Tuan, T. Van Sung, S. Seip, *J. Chem.* 42 (2004) 520.
- [20] M.A. Khan, M. Ali, P. Alam, *Nat. Prod. Res.* 24 (2010) 610.
- [21] U. Phetkul, S. Phongpaichit, R. Watanapokasin, W. Mahabusarakam, *Nat. Prod. Res.* 28 (2014) 945.
- [22] K. Umehara, I. HATTORI, T. MIYASE, A. Ueno, S. HARA, C. KAGEYAMA, *Chem. Pharm. Bull.* 36 (1988) 5004.
- [23] H. Nakagawa, H. Duan, Y. Takaishi, *Chem. Pharm. Bull.* 49 (2001) 649.
- [24] Y. OZAKI, M. MIYAKE, H. MAEDA, Y. IFUKU, R.D. BENNETT, Z. HERMAN, C.H. FONG, S. HASEGAWA, *Phytochemistry* 30 (1991) 2659.
- [25] M.A. BERHOW, M. OMURA, H. OHTA, Y. OZAKI, S. HASEGAWA, *Phytochemistry* 36 (1994) 923.
- [26] R. D.BENNETT, Z. HERMAN, S. HASEGAWA, *Phytochemistry* 27 (1988) 1543.
- [27] E. Balestrieri, F. Pizzimenti, A. Ferlazzo, S. V Giofrè, D. Iannazzo, A. Piperno, R. Romeo, M.A. Chiacchio, A. Mastino, B. Macchi, *Bioorg. Med. Chem.* 19 (2011) 2084.
- [28] G.D. Manners, A.P. Breksa III, *Phytochem. Anal.* 15 (2004) 372.
- [29] H. Nakagawa, Y. Takaishi, N. Tanaka, K. Tsuchiya, H. Shibata, T. Higuti, *Journal Nat. Prod.* 69 (2006) 1177.
- [30] G.D. Manners, S. Hasegawa, *Phytochem. Anal.* 10 (1999) 76.
- [31] R.D. Bennett, S. Hasegawa, *Phytochemistry* 19 (1980) 2417.
- [32] G.K. Jayaprakasha, K.K. Mandadi, S.M. Poulouse, Y. Jadegoud, G. a Nagana Gowda, B.S. Patil, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008) 5939.
- [33] A.T. Khalil, G.T. Maatooq, K.A. El Sayed, *Verlag Der Zeitschrift Für Naturforsch.* 58 (2003) 165.
- [34] X.-Q. Zhang, T.-T. Hu, L. Wang, G.-C. Wang, C.-L. Fan, Y. Zhang, Q.-W. Zhang, W.-C. Ye, *Biochem. Syst. Ecol.* 42 (2012) 124.
- [35] K. Panthong, Y. Srisud, V. Rukachaisirikul, N. Hutadilok-Towatana, S.P. Voravuthikunchai, S. Tewtrakul, *Phytochemistry* 88 (2013) 79.
- [36] R.D. BENNETT, S. HASEGAWA, *Phytochemistry* 21 (1982) 2349.
- [37] R.L. ROUSEFF, S. Nagy, *Phytochemistry* 21 (1982) 85.
- [38] U. Phetkul, N. Wanlaso, W. Mahabusarakam, S. Phongpaichit, A.R. Carroll, *Nat. Prod. Res.* 27 (2013) 1922.

- [39] T.-S. WU, S.-C. HUANG, J.-S. LAI, *Phytochemistry* 36 (1994) 217.
- [40] S. HASEGAWA, R.D. BENNETT, Z. HERMAN, C.H. FONG, P. Ou, *Phytochemistry* 28 (1989) 1717.
- [41] M. Kuroyanagi, H. Ishii, N. Kawahara, H. Sugimoto, H. Yamada, K. Okihara, O. Shirota, *J. Nat. Med.* 62 (2008) 107.
- [42] A. a Zukas, A.P. Breksa, G.D. Manners, *Phytochemistry* 65 (2004) 2705.
- [43] V.P. Maier, D.A. Margileth, *Phytochemistry* 8 (1969) 243.
- [44] S. HASEGAWA, Z. HERMAN, *Phytochemistry* 24 (1985) 1973.
- [45] J. Liao, T. Xu, Y. Liu, S. Wang, *Nat. Prod. Res.* 26 (2012) 756.
- [46] R.D. BENNETT, S. HASEGAWA, Z. HERMAN, *Phytochemistry* 28 (1989) 2777.
- [47] M.P. Rodríguez-Rivera, E. Lugo-Cervantes, P. Winterhalter, G. Jerz, *Food Chem.* 158 (2014) 139.
- [48] G. Raman, M. Cho, J.S. Brodbelt, B.S. Patil, *Phytochem. Anal.* 16 (2005) 155.
- [49] D. Giuffrida, P. Dugo, A. Salvo, M. Saitta, G. Dugo, *Fruits* 65 (2010) 277.
- [50] J. Gross, M. GABAI, A. LIFSHITZ, *Phytochemistry* 11 (1972) 303.
- [51] H. Matsumoto, Y. Ikoma, M. Kato, T. Kuniga, N. Nakajima, T. Yoshida, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 2356.
- [52] H. YOKOYAMA, C. DeBENEDICT, *Phytochemistry* 11 (1972) 1721.
- [53] P. Molnár, J. Szabolcs, *Phytochemistry* 19 (1980) 633.
- [54] D. FARIN, R. IKAN, J. GROSS, *Phytochemistry* 22 (1983) 403.
- [55] S. Wibowo, L. Vervoort, J. Tomic, J.S. Santiago, L. Lemmens, A. Panozzo, T. Grauwet, M. Hendrickx, A. Van Loey, *Food Chem.* 171 (2015) 330.
- [56] P. Dugo, D. Giuffrida, M. Herrero, P. Donato, L. Mondello, *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 973.
- [57] S.R. Johns, J.A. Lamberton, A.A. Sioumis, *Aust. J. Chem.* 23 (1970) 419.
- [58] A. GROSS, M. CARMON, A. LIFSHITZ, *Phytochemistry* 14 (1975) 249.
- [59] H. YOKOYA, M.J. WHITE, *J. Org. Chem.* 30 (1965) 2481.
- [60] H. YOKOYAMA, M.J. WHITE, *J. Org. Chem.* 31 (1966) 3452.
- [61] H. YOKOYA, M. WHITE, C.E. VANDERCOOK, *J. Org. Chem.* 30 (1965) 2482.

- [62] U. LEUENBERGER, I. STEWART, *Phytochemistry* 15 (1976) 227.
- [63] H. Kato-Noguchi, Y. Tanaka, T. Murakami, S. Yamamura, S. Fujihara, *Phytochemistry* 61 (2002) 849.
- [64] T.-S. Wu, *Phytochemistry* 27 (1988) 3717.
- [65] T.-S. WU, C.-S. KUOH, H. FURUKAWA, *Phytochemistry* 22 (1983) 1493.
- [66] Y. TAKEMURA, H. Kawaguchi, S. Maki, M. Ju-ichi, M. Omura, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 44 (1996) 804.
- [67] M. Saleem, N. Afza, M.A. Anwar, M.S. Ali, *Nat. Prod. Res.* 19 (2005) 633.
- [68] C. Ito, T. Mizuno, M. MATSUOKA, Y. KIMURA, K. SATO, I. Kajiura, M. Omura, M. Ju-ichi, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 36 (1988) 3292.
- [69] A. Gironés-Vilaplana, D.A. Moreno, C. García-Viguera, *Food Funct.* 5 (2014) 764.
- [70] R.R. Stange Jr., S.L. Midland, J.W. Eckert, J.J. Sims, *J. Nat. Prod.* 56 (1993) 1627.
- [71] C. ITO, S. Tanahashi, Y. Tani, M. JU-ICHI, M. Omura, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 38 (1990) 2586.
- [72] Y. Miyake, C. Ito, M. Itoigawa, *Food Chem.* 135 (2012) 2235.
- [73] Y. Matsubara, T. Yusa, A. Sawabe, Y. Iizuka, K. Okamoto, *Agric. Biol. Chem.* 55 (1991) 647.
- [74] J.H. Tatum, E. Robert, *Phytochemistry* 26 (1987) 322.
- [75] A. Dugrand, A. Olry, T. Duval, A. Hehn, Y. Froelicher, F. Bourgaud, *J. Agric. Food Chem.* 61 (2013) 10677.
- [76] T.-S. Wu, S.-C. Huang, T.-T. Jong, J.-S. Lai, C.-S. Kuoh, *Phytochemistry* 27 (1988) 585.
- [77] S.-C. HUANG, M.-T. CHEN, T.-S. Wu, *Phytochemistry* 28 (1989) 3574.
- [78] P. Dugo, A. Piperno, R. Romeo, M. Cambria, M. Russo, C. Carnovale, L. Mondello, *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 6543.
- [79] C. Ito, M. Nakagawa, M. Inoue, Y. TAKEMURA, M. Ju-ichi, M. Omura, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 1657.
- [80] G. Marti, J. Boccard, F. Mehl, B. Debrus, L. Marcourt, P. Merle, E. Delort, L. Baroux, H. Sommer, S. Rudaz, J.-L. Wolfender, *Food Chem.* 150 (2014) 235.
- [81] W.L. Stanley, S.H. Vannier, *Phytochemistry* 6 (1967) 585.

- [82] C. ITO, M. MATSUOKA, T. MIZUNO, K. SATO, Y. KIMURA, M. JU-ICHI, M. INOUE, I. KAJIURA, M. OMURA, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 36 (1988) 3805.
- [83] C. Ito, S. Tanahashi, M. Omura, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 37 (1989) 2217.
- [84] T.S. Wu, C.-S. KUOH, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 31 (1983) 895.
- [85] D. McHalc, P.P. Khopkar, J.B. Sheridan, *Phytochemistry* 26 (1987) 2547.
- [86] H. Tatum, R.E. Berry, *Phytochemistry* 18 (1979) 500.
- [87] W. Teng, C. Chen, R. Chung, *Phytochem. Anal.* 462 (2005) 459.
- [88] T. Mencherini, L. Campone, A.L. Piccinelli, M. Garc, D. Mar, R.P. Aquino, L. Rastrelli, *J. Agric. Food Chem.* 61 (2013) 1686–1693.
- [89] C. ITO, K. Fujiwara, M. Kajita, M. JU-ICHI, Y. TAKEMURA, Y. Suzuki, K. Tanaka, M. Omura, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 39 (1991) 2509.
- [90] C. ITO, T. MIZUNO, S. Tanahashi, H. FURUKAWA, M. JU-ICHI, M. INOUE, M. Muraguchi, M. Omura, D.R. McPhail, A.T. McPhail, *Chem. Pharm. Bull.* 38 (1990) 2102.
- [91] T.B. César, J.A. Manthey, K. Myung, *Journal Nat. Prod.* 72 (2009) 1702.
- [92] J. Yu, B.S. Buslig, C. Haun, P. Cancalon, *Nat. Prod. Res.* 23 (2009) 498.
- [93] D.L. DREYER, P.F. HUEY, *Phytochemistry* 12 (1973) 3011.
- [94] M. Ju-ichi, Y. TAKEMURA, M. Azuma, K. Tanaka, M. Okano, N. Fukamiya, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 39 (1991) 2252.
- [95] S.C. BASA, R.N. TRIPATH, *Journal Nat. Prod.* 47 (1984) 325.
- [96] Y. TAKEMURA, Y. Nakata, M. Azuma, M. Ju-ichi, M. Okano, N. Fukamiya, M. Omura, C. Ito, K. Nakagawa, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 1530.
- [97] Y. TAKEMURA, T. Nakata, M. Ju-ichi, M. Okano, N. Fukamiya, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 42 (1994) 1213.
- [98] Y. TAKEMURA, M. Ju-ichi, T. Kurozumi, M. Azuma, C. Ito, K. Nakagawa, M. Omura, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 73.
- [99] C. Ito, T. Ono, Y. TAKEMURA, Y. Nakata, H. Ten, M. Ju-ichi, M. Okano, N. Fukamiya, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 1302.
- [100] M. Ju-ichi, Y. TAKEMURA, M. Okano, N. Fukamiya, K. Hatano, Y. Asakawa, T. Hashimoto, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 44 (1996) 11.
- [101] Y. TAKEMURA, T. Nakata, H. Uchida, M. Ju-ichi, K. Hatano, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 2061.

- [102] Y. TAKEMURA, M. Ju-ichi, K. Hatano, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 42 (1994) 2436.
- [103] Y. TAKEMURA, M. Ju-ichi, K. Hatano, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 42 (1994) 997.
- [104] C. ITO, T. Ono, E. Tanaka, Y. TAKEMURA, T. Nakata, H. Uchida, M. JU-ICHI, M. Omura, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 205.
- [105] T. Ohta, T. Miyazaki, T. Yamakawa, *Japanese Soc. Pharmacogn.* 13 (1959) 131.
- [106] W.-Y. Teng, Y.-L. Huang, C.-C. Shen, R.-L. Huang, R.-S. Chung, C.-C. Chen, *J. Chinese Chem. Soc.* 52 (2005) 1253.
- [107] T.S. Wu, *Phytochemistry* 26 (1987) 871.
- [108] Y. TAKEMURA, M. Abe, M. JU-ICHI, C. ITO, K. Hatano, M. Omura, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 406.
- [109] C. ITO, S. Tanahashi, K. Fujiwara, M. Nakagawa, M. JU-ICHI, Y. Fujitani, M. INOUE, A.T. McPhail, T.S. Wu, I. KAJIURA, M. Omura, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 38 (1990) 1881.
- [110] Y. TAKEMURA, Y. Isono, M. JU-ICHI, M. Omura, C. ITO, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 789.
- [111] Y. TAKEMURA, Y. Matsushita, N. Nagareya, M. Abe, J. Takaya, M. JU-ICHI, T. Hashimoto, Y. Kan, S. Takaoka, Y. Asakawa, M. Omura, C. ITO, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 43 (1995) 1340.
- [112] Y. TAKEMURA, M. Ju-ichi, T. Hashimoto, Y. Kan, S. Takaoka, Y. Asakawa, M. Omura, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 42 (1994) 1548.
- [113] T.-S. WU, S.-C. HUAN, P.-L. WU, *Phytochemistry* 42 (1996) 221.
- [114] Y. TAKEMURA, M. Wada, M. Ju-ichi, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 46 (1998) 693.
- [115] M. JU-ICHI, M. INOUE, I. KAJIURA, M. Omura, C. ITO, H. FURUKAWA, *Chem. Pharm. Bull.* 36 (1988) 3202.
- [116] Y. TAKEMURA, J. Takaya, Y. Okamura, Y. Arima, T. Atarashi, N. Nagareya, M. Ju-ichi, M. Omura, C. Ito, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 46 (1998) 1518.
- [117] Y. TAKEMURA, T. Kurozumi, M. Ju-ichi, M. Okano, N. Fukamiya, C. Ito, T. Ono, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 1757.
- [118] Y. Matsubara, T. Yusa, A. Sawabe, Y. Iizuka, S. Takekuma, Y. Yoshida, *Agric. Biol. Chem.* 55 (1991) 2923.

- [119] T. Matsumoto, A. Shishido, K. Takeya, 天然有機化合物討論会講演要旨集 43 (2001) 407.
- [120] T. Murata, N. Mori, R. Nishida, *J. Chem. Ecol.* 37 (2011) 1099.
- [121] P. Wen-wen, H. Mao-bo, S. Wei-wu, T. Ning-hua, *Nat. Prod. Res. Dev.* 26 (2014) 1416.
- [122] T. Matsumoto, K. Nishimura, K. Takeya, *Chem. Pharm. Bull.* 50 (2002) 857.
- [123] H.J. Noh, D. Hwang, E.S. Lee, J.W. Hyun, P.H. Yi, G.S. Kim, S.E. Lee, C. Pang, Y.J. Park, K.H. Chung, G. Do Kim, K.H. Kim, *J. Ethnopharmacol.* 163 (2015) 106.
- [124] H. Morita, M. Enomoto, Y. Hirasawa, T. Iizuka, K. Ogawa, N. Kawahara, Y. Goda, T. Matsumoto, K. Takeya, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 5410.
- [125] S. Li, C.-Y. Lo, C.-T. Ho, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 417641.
- [126] T.-S. Wu, *Phytochemistry* 28 (1989) 3558.
- [127] G. Gattuso, D. Barreca, C. Gargiulli, U. Leuzzi, C. Caristi, C. Organica, U. Messina, S. Sperone, *Molecules* 12 (2007) 1641.
- [128] F. Pellati, S. Benvenuti, M. Melegari, *Phytochem. Anal.* 15 (2004) 220.
- [129] G.P. Stirxy, L.R. Row, *Tetrahedron* 15 (1961) 111.
- [130] C. ITO, K. SATO, T. OKA, M. INOUE, M. JU-ICHI, M. OMURA, H. FURUKAWA, *Phytochemistry* 28 (1989) 3562.
- [131] T. HORIE, M. NAKAYAMA, *Phytochemistry* 20 (1981) 337.
- [132] M. IINUMA, S. Matsikura, K. Kurogochi, T. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.* 28 (1980) 717.
- [133] K. Machida, K. Osawa, *Chem. Pharm. Bull.* 37 (1989) 1092.
- [134] J. Chen, A.M. Montanari, W.W. Widmer, *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997) 364.
- [135] R.M. Uckoo, G.K. Jayaprakasha, B.S. Patil, *Sep. Purif. Technol.* 81 (2011) 151.
- [136] H. Nagase, N. Omae, A. Omori, O. Nakagawasai, T. Tadano, A. Yokosuka, Y. Sashida, Y. Mimaki, T. Yamakuni, Y. Ohizumi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 337 (2005) 1330.
- [137] E.G. Haggag, I.I. Mahmoud, E.A. Abou-Moustafa, T.J. Mabry, *Asian J. Chem.* 11 (1999) 707.
- [138] J. INTEKHAB, M. ASLAM, *Malaysian J. Pharm. Sci.* 7 (2009) 1.
- [139] D. Hamdan, M.Z. El-Readi, A. Tahrani, F. Herrmann, D. Kaufmann, N. Farrag, A. El-Shazly, M. Wink, *Food Chem.* 127 (2011) 394.

- [140] A. Ortuño, A. Báidez, P. Gómez, M.C. Arcas, I. Porras, A. García-Lidón, J.A. Del Río, *Food Chem.* 98 (2006) 351.
- [141] Y. Sun, J. Wang, S. Gu, Z. Liu, Y. Zhang, X. Zhang, *Molecules* 15 (2010) 5378.
- [142] M. MIZUNO, Yoshinob. MATOBA, Toshiy. TANAKA, H. TACHIBANA, M. IINUMA, *Journal Nat. Prod.* 50 (1987) 751.
- [143] V.K. SAXENA, P. SHRIVASTAVA, *Phytochemistry* 36 (1994) 1039.
- [144] S. Sultana, M. Ali, S.H. Ansari, P. Bagri, *J. Asian Nat. Prod. Res.* 10 (2008) 1123.
- [145] M. a. Berhow, R.D. Bennett, S.M. Poling, S. Vannier, T. Hidaka, M. Omura, *Phytochemistry* 36 (1994) 1225.
- [146] P.S. Sarin, T.R. Seshadri, *Tetrahedron* 8 (1960) 64.
- [147] S. Johann, A. Smânia-jr, M.G. Pizzolatti, J. Schripsema, R. BRAZ-FILHO, A. BRANCO, *An. Acad. Bras. Cienc.* 79 (2007) 215.
- [148] R. Koblovská, Z. Macková, M. Vítková, L. Kokoska, B. Klejdus, O. Lapčík, *Phytochem. Anal.* 19 (2008) 64.
- [149] O. Lapčík, B. Klejdus, M. Davidová, L. Kokoska, V. Kubán, J. Moravcová, *Phytochem. Anal.* 15 (2004) 293.
- [150] S. Roowi, A. Crozier, *J. Agric. Food Chem.* 59 (2011) 12217.
- [151] B. Abad-García, S. Garmón-Lobato, L. a Berrueta, B. Gallo, F. Vicente, *Talanta* 99 (2012) 213.
- [152] A.N. Giannuzzo, H.J. Boggetti, M.A. Nazareno, H.T. Mishima, *Phytochem. Anal.* 14 (2003) 221.
- [153] H.K. Kim, W.K. Jeon, B.S. Ko, *Planta Med.* 67 (2001) 548.
- [154] Y. Nogata, H. Ohta, T. Ishii, K. Sekiya, *J. Sci. Food Agric.* 87 (2007) 82.
- [155] L. Di Donna, G. De Luca, F. Mazzotti, A. Napoli, R. Salerno, D. Taverna, G. Sindona, *J. Nat. Prod.* 72 (2009) 1352.
- [156] P. CHATTERJEE, A. CHATTERJEE, *Phytochemistry* 27 (1988) 946.
- [157] A.L. Piccinelli, M.G. MESA, D.M. ARMENTEROS, M.A. ALFONSO, A.C. AREVALO, L. CAMPONE, L. RASTRELLI, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 1574.
- [158] H.E. NORDBY, J.F. FISHER, T.J. KEW, *Phytochemistry* 7 (1968) 1653.
- [159] T. Horie, M. Tsukayama, T. Yamada, I. Miura, M. Nakayama, *Phytochemistry* 25 (1986) 2621.

[160] S. HILLEBRAND, M. SCHWARZ, P. WINTERHALTER, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 7331–7338.

[161] F. Pellati, S. Benvenuti, *J. Chromatogr. A* 1165 (2007) 58.