



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DOUTORADO EM QUÍMICA**

**Influência Ambiental, Espacial e Genética na Composição
Química dos óleos Essenciais de *Eugenia dysenterica* DC
(Myrtaceae)**

Ms. Eliane da Costa Vilela

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri

Goiânia, 28 de março de 2014

V695i	<p data-bbox="379 954 651 981">Vilela, Eliane da Costa</p> <p data-bbox="379 1014 1246 1111">Influência ambiental, especial e genética na composição química dos óleos essenciais de <i>Eugenia dysenterica</i> DC (<i>Myrtaceae</i>) / [manuscrito] / Eliane da Costa Vilela. – 2014.</p> <p data-bbox="424 1144 564 1171">97 f.: 30 cm</p> <p data-bbox="379 1267 1161 1335">Tese (doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Programa Doutorado em Química do Instituto de Química, Goiânia, 2014.</p> <p data-bbox="424 1429 943 1456">“Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri”</p> <p data-bbox="379 1552 1275 1641">1. Essenciais e óleos essenciais. 2. Estatística. 3. Cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i>) - Cerrado. I. Ferri, Pedro Henrique. II. Universidade Federal de Goiás. III. Título.</p> <p data-bbox="951 1704 1275 1731">CDU: 665.52 (043.2)</p>
-------	---

**Influência Ambiental, Espacial e Genética na Composição
Química dos óleos Essenciais de *Eugenia dysenterica* DC
(Myrtaceae)**

Tese apresentada ao Programa Doutorado em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Química. Área de concentração: Química de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri

Ms. Eliane da Costa Vilela

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri

Goiânia, 28 de março de 2014

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: [] Dissertação [x] Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Eliane da Costa Vilela		
E-mail:	elicosta@ufg.br		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim [] Não		
Vínculo empregatício do autor	Universidade Federal de Goiás		
Agência de fomento:	Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás	Sigla:	FAPEG
País:	Brasil	UF:	GO
CNPJ:			08.156.102/0001-02
Título:	Influência ambiental, espacial e genética na composição química dos óleos essenciais de <i>Eugenia dysenterica</i> DC (Myrtaceae)		
Palavras-chave:	<i>Eugenia dysenterica</i> , óleo essencial, quimiovariações, variograma, variação espacial		
Título em outra língua:	Environmental influence, space and genetics in the chemical composition of which are essential oils of <i>Eugenia dysenterica</i> DC (Myrtaceae)		
Palavras-chave em outra língua:	<i>Eugenia dysenterica</i> , essential oils, chemovariations, variogram, spatial variation		
Área de concentração:	Química		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	28/03/2014		
Programa de Pós-Graduação:	Programa Doutorado em Química		
Orientador (a):	Pedro Henrique Ferri		
E-mail:	Pedro@quimica.ufg.br		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento [x] SIM [] NÃO¹

1 Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Eliane da Costa Vilela

Data: 02/05/2014

Assinatura do (a) autor (a)

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora de Tese de Doutorado em Química,
apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, em
28/03/2014.

Comissão Julgadora:



Prof.Dr. Pedro Henrique Ferri- UFG



Prof. Dra. Sueli Martins de Freitas Alves- UEG



Prof. Dra. Maísa Borges Costa- UEG



Prof. Dra. Lucília Kato- UFG



Prof. Dr. José Carlos Seraphin-UFG



“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina...”

“Estamos todos matriculados na escola da vida onde o mestre é o tempo.”

Cora Coralina

*A*gradecimentos

Quando consultava alguns trabalhos acadêmicos em minha época de graduação, uma coisa me intrigava: por que os autores se colocam na primeira pessoa do plural sendo que eram únicos a assinar o trabalho? O “nós” se referia a quem?

Somente após os inúmeros trabalhos descobri quem são as outras pessoas que compõem esse “nós”. São inúmeras pessoas que, de uma forma ou de outra, contribuíram para que este trabalho se tornasse prazeroso, enriquecedor e obviamente, conseguisse chegar a seu final de maneira satisfatória. Assim, quando coloco o verbo na primeira pessoa do plural, um pouquinho dessas pessoas assina junto.

Agradeço á Deus, pela permissão dada para estudar um pouco mais de sua maravilhosa obra, a natureza.

Não posso deixar de falar da enorme gratidão que tenho para com o Prof. Dr Pedro Henrique Ferri, meu orientador, não apenas por ter sugerido o tema, mas também por ter dado apoio, intelecto lúcido à condução ao trabalho, intervenções fundamentais e sobre tudo pela confiança que nem eu, às vezes tinha.

Meus sinceros agradecimentos à Prof. Dra. Suzana C. Santos, Alessandra R. Duarte, ao Deomar P. Costa, Gilmara C. Fortes e a Thays C. Carvalho que muitas vezes nem tinham a consciência da bondade que me faziam – embora só a fizessem por serem pessoas boas.

Aos professores, colegas e amigos do Instituto de Química, não citarei nomes para não cometer o irremediável esquecimento de alguém, pelo simples fato de serem meus amigos. E com isso, colocar o importante sentimento de amizade, fonte de sabedoria, em minha vida.

Aos amigos do IQ que Deus os queria junto dele neste ano de 2013, Hélio Stival, secretário da pós-graduação, e ao Prof. Dr Lourival Cardoso de Faria que pela sua dedicação eu me tornei mestre. Meus eternos agradecimentos.

Especial agradecimento à FAPEG (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás) pelo investimento com a bolsa de pesquisa e estímulo.

Nenhum agradecimento estaria completo sem dizer obrigado àqueles a quem inevitavelmente, foi roubado o tempo para realizar este estudo – minha mãe, Maria José, minha filha, Anne e meu esposo, Eudécio, suas contribuições foram bem maior do que imaginam.

A todos muito obrigado.

Liane da Costa Vilela

Sumário

Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas	xiii
Resumo	xiv
Abstract	xv
Introdução	1
1. Espécies frutíferas do Cerrado	1
2. <i>Eugenia dysenterica</i> DC (“cagaiteira” – Myrtaceae)	6
3. Óleos essenciais	10
4. Interações planta meio-ambiente e planta-animal	14
Capítulo 1. Variabilidade química espacial dos constituintes químicos das folhas de <i>Eugenia dysenterica</i> DC (Myrtaceae)	19
1.1. Objetivo	20
1.2. Experimental	20
1.2.1. Coleta do material botânico das populações estudadas de <i>E. dysenterica</i> DC	20
1.2.2. Extração dos óleos essenciais das folhas de <i>E. dysenterica</i>	22
1.2.3. Parâmetros químicos do solo dos locais das progênies e dos nutrientes foliares das folhas de <i>E. dysenterica</i> DC	22

1.2.4. Análise dos óleos essenciais das folhas de <i>E. dysenterica</i>	22
1.2.5. Análises estatísticas dos óleos essenciais das folhas de <i>E. dysenterica</i> DC das oito populações estudadas	23
1.3. Resultados e Discussão	26
1.4. Conclusão	46
Capítulo 2. Análises quimiométricas espaciais da variabilidade do óleo essencial de <i>Eugenia dysenterica</i> DC	47
2.1. Objetivo	48
2.2. Experimental	48
2.2.1. Dados dos óleos essenciais das folhas de <i>E. dysenterica</i> DC	48
2.2.2. Análises quimiométricas espaciais dos dados dos óleos essenciais de <i>E. dysenterica</i> DC	48
2.3. Resultados e Discussão	53
2.4. Conclusão	69
Referências Bibliográficas	70
Apêndice	79
S1. Cromatogramas totais de íon (TIC) do óleo essencial das oito populações de <i>E. dysenterica</i> DC	80

S2. Número de identificação (pico), índice de retenção calculado (IR Cal), porcentagem do constituinte químico (%), índice aritmético (AI), índice de Kovats (KI) e proposta da estrutura química dos constituintes.	82
S3. Matriz de coordenadas geográficas (UTM) e de polinômio (matriz espacial).	84
S4. Matriz dos constituintes químicos dos óleos essenciais (média >1%).	86
S5. Matriz dos constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos normalizados.	87
S6. Matriz dos nutrientes foliares, composição e textura dos solos (matriz ambiental)	88
S7. Análise de Redundância Canônica	89
S8. Análise de Discriminante Canônico	91
S9. Particionamento da Variância	92
S9.1. [A+B+C]:	92
S9.2. [A]:	93
S9.3. [A+B]:	93
S9.4. [C]:	94
S9.5. [B+C]:	94

S10. Autocorrelograma multivariado de Mantel	95
S10.1. Autocorrelograma com os constituintes químicos dos óleos essenciais.	95
S10.2. Teste generalizado de Mantel	95
S10.3. Autocorrelograma com os constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos.	96
S10.4. Teste generalizado de Mantel	96
S11. Esquema para utilização do programa GS+	96

Lista de Figuras

- Figura 1.** Área de distribuição original do Cerrado brasileiro. Fonte: LAPIG. 1
- Figura 2.** Frutos nativos do Cerrado. (a) macaúba; (b) caju-do-cerrado; (c) araticum; (d) murici; (e) gabioba; (f) mangaba; (g) puçá; (h) araçá; (i) chicha e (j) pitomba. 3
- Figura 3.** Evolução do desmatamento do Cerrado até 2009. Fonte: LAPIG – 2009 4
- Figura 4.** *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae). Foto retirada no viveiro da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 6
- Figura 5.** Fruto da cagaiteira. (a) Cachos de frutos. (b) Destaque para o tamanho dos frutos. Fonte: EMBRAPA. 8
- Figura 6.** Esquema simplificado das duas vias biossintéticas na formação do isopreno: a) via do mevalonato e b) via do fosfato de metileritritol. 12
- Figura 7.** Principais grupos biossintético (esqueleto carbônico) encontrados no óleo essencial de *E. dysenterica* DC: a) monoterpenos e b) sequiterpenos. 13
- Figura 8.** Biossíntese e os efeitos biológicos dos óleos essenciais. O (Z)-3-hexenal, é formado imediatamente após a perturbação dos tecidos da planta, no local da ferida causada por ataque de 14

herbívoros ou danos mecânicos. Uma porção do aldeído pode difundir da ferida para toda a folha, formando (Z)-3-hexen-1-ol, álcool não tóxico, e o (Z)-3-hexen-1-il acetato. Estes podem ser úteis para a regulação da alimentação de herbívoros, presa (predadores) e para a defesa das plantas vizinhas. Arimura *et al.* 2009.

Figura 9. Local de coleta (a) Vista aérea dos quatro blocos e (b) Vista aproximada do viveiro. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG. 20

Figura 10. Localização das oito áreas de coleta de *E. dysenterica* DC no cerrado goiano. 21

Figura 11. Particionamento da variação total em termos das contribuições ambiental/espacial. 25

Figura 12. (a) Triplot dos dois primeiros eixos da RDA mostrando a distribuição das populações de *E. dysenterica* (●, 1-8). Os nutrientes do solo e foliar (*), tratados como variáveis ambientais são representados por setas longas a partir da origem. Os constituintes dos óleos essenciais estão representados por triângulos vermelhos. Variáveis com teores <20% e correlação ambiental <0,40 não estão representadas; (b) Agrupamentos dos sítios de amostragem sugeridos pela RDA. 31

Figura 13. Triplot da RDA mostrando a distribuição de populações de *E. dysenterica* (●, 1-8), de acordo com os esqueletos carbônicos dos constituintes químicos. Os nutrientes do solo e foliar (*), tratados como variáveis ambientais são representadas por setas longas a partir da origem. Os grupos biossintéticos dos constituintes dos óleos essenciais são representados por triângulos vermelhos. População: 34

1: Catalão-1, 2: Catalão-2, 3: Três Ranchos, 4: Campo Alegre de Goiás, 5: Cristalina, 6: Luziânia, 7: Senador Canedo, 8: Goiânia. (b) Agrupamentos dos sítios de amostragem sugeridos pela RDA.

Figura 14. Biplot gerado pela CDA das amostras de *E. dysenterica* DC de oito locais de amostragem, de acordo com os agrupamentos a que pertencem: I (7: Senador Canedo; 8: Goiânia), II (4: Campo Alegre de Goiás; 5: Cristalina) e III (1: Catalão-1, 2: Catalão-2, 3: Três Ranchos; 6: Luziânia). Eixo a: refere-se aos escores das amostras. Eixo b: refere-se aos pesos das variáveis discriminantes representados por setas longas a partir da origem. A seta pequena refere-se à amostra mal classificada pela validação cruzada. Cruzes representam os centróides dos agrupamentos e os valores entre parênteses referem-se à variância explicada em cada eixo. (b) Agrupamentos sugeridos pela CDA. 39

Figura 15. Diagrama de Venn representando a variação da composição química dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC atribuída a dois conjuntos de variáveis preditoras: ambiental (nutrientes foliares e parâmetros físico-químicos do solo) e espacial (coordenadas geográficas dos locais de coleta). A sobreposição entre os círculos representa a variação entre os conjuntos de variáveis explicativas. As letras maiúsculas entre parênteses referem-se à fração de variação total explicada por cada conjunto de variáveis explicativas (Tabela 7). 42

Figura 16. Estrutura espacial das populações de *E. dysenterica* com base nos autocorrelogramas multivariados de Mantel (a) dos constituintes químicos dos óleos essenciais e (b) dos constituintes químicos dos óleo essenciais reorganizados de acordo com os esqueletos carbônicos. Os círculos em preto representam valores 44

significativos ($p < 0,05$) para o teste de Mantel (999 permutações). As linhas tracejadas referem-se à ausência de autocorrelação espacial e as setas pequenas referem-se ao intercepto a 175 Km (a) e 117 Km (b), respectivamente.

Figura 17. Modelo geral de variograma, mostrando o patamar, efeito pepita e o alcance. A variância espacialmente estruturada é representada pela fração C. 50

Figura 18. Modelos matemáticos aplicados ao variograma. 50

Figura 19. Variogramas para os óleos essenciais de oito populações de *E. dysenterica* DC, representadas pelo (a) conjunto de dados dos constituintes químicos dos óleos essenciais e (b) do teor de hidrocarbonetos sesquiterpeno, ambas ao longo da distância geográfica dos locais de amostragem. Os modelos ajustados mostram uma variação espacialmente estruturada (a) e só efeito pepita, sem estrutura espacial nos dados (b). 55

Figura 20. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) dos constituintes químicos dos óleos essenciais e (b) dos constituintes químicos rearranjados de acordo com o esqueleto carbônicos biossintéticos, ambos em relação ao valor médio. 58

Figura 21. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) da soma dos terpenos oxigenados e (b) dos monoterpenos oxigenados dos óleos essenciais, ambos em relação ao valor médio. 59

Figura 22. Mapa do Estado de Goiás mostrando as bacias do Rio Corumbá e do Rio Meia Ponte que separam as populações 1-6 e 7 de 8 de *E. dysenterica* DC, respectivamente. (a) Serra dos Cristais e (b) Serra do Contraforte Central que isolam as populações 4 e 5. Populações: 1 = Catalão-1, 2 = Catalão-2, 3 = Três Ranchos, 4 = Campo Alegre e Goiás, 5 = Cristalina, 6 = Luziânia, 7 = Senador Canedo, 8 = Goiânia. Fonte: Google Earth. 61

Figura 23. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) do componente ambiental puro (nutrientes foliares: P, K⁺, Mg²⁺, Cu²⁺) e (b) compartilhado pelos preditores espaciais da variabilidade dos óleos essenciais, ambos em relação ao valor médio. 63

Figura 24. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) da influência espacial pura e (b) compartilhada pelos preditores ambientais, ambos em relação ao valor médio. 66

Figura 25. Validação cruzada para o modelo do variograma da fração [A+B+C], correspondente ao dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC. 67

Figura A1. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 1 (Catalão-1). 80

Figura A2. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 2 (Catalão-2). 80

Figura A3. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 3 (Três Ranchos). 80

Figura A4. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 4 (Campo Alegre de Goiás). 80

Figura A5. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 5 (Cristalina). 81

Figura A6. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 6 (Luziânia). 81

Figura A7. Cromatograma total de íon (TIC) representativa do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 7 (Senador Canedo). 81

Figura A8. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 8 (Goiânia). 81

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Localidades e coordenadas geográficas das subpopulações e o número de espécimes de cagaiteira amostradas em cada área do cerrado goiano. 21
- Tabela 2.** Porcentagens^a dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* DC coletadas de oito populações do cerrado goiano. 26
- Tabela 3.** Porcentagens^a dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC rearranjados de acordo com o esqueleto carbônico biossintético. 29
- Tabela 4.** Porcentagens^a dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC agrupados de acordo com os resultados das RDAs. 34
- Tabela 5.** Porcentagens^a dos constituintes químicos de acordo com o esqueleto carbônico nos três grupos sugeridos pelas RDAs dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC de oito subpopulações do cerrado goiano. 38
- Tabela 6.** Sumário da análise de discriminante canônico sobre as amostras de *E. dysenterica* DC. 40
- Tabela 7.** Sumário do particionamento da variação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC por meio de RDAs parciais. 41

Tabela 8. Parâmetros para os modelos de variogramas de resposta dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC. 54

Tabela 9. Sumario da validação para os modelos dos variogramas dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC. 68

Lista de Abreviaturas

ANOVA	Análise de variância
CEC	Concentração de troca catiônica
FPP	Difosfato de farnesila
GC/MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GPP	Pirofosfato de geranila
H+Al³⁺	Acidez potencial
HMG-CoA	β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA
H_R	Próton <i>pró-R</i>
MEP	Fosfato de metileritritol
MVA	Ácido mevalônico
p/v	Peso/volume
PCA	Análise de componentes principais
RANK	Ordem dos mesmos
RDA	Análise de redundância canônica
RI	Índice de retenção linear calculado
SAS	Statistical analysis system
TIC	Cromatograma total de íons
TPP	Difosfato de tiamina
UTM	Coordenada universal transversa de Mercator
VIF	Fator de inflação da variável

Resumo

A composição química dos óleos essenciais foi utilizada para estudar a estrutura espacial de oito populações de *E. dysenterica* do Cerrado central brasileiro. O particionamento da variação, utilizando os conjuntos de dados espaciais e ambientais como preditores, foi altamente significativo e explicou 8,2% (oito vírgula dois por cento) e 11,1% (onze vírgula um por cento) da variação total dos óleos essenciais, respectivamente. Os resultados sugeriram que o polimorfismo nos óleos essenciais foi determinado mais por fatores genéticos do que ambientais. Além disso, o intercepto do autocorrelograma multivariado de Mantel entre as matrizes de distância dos constituintes químicos e dos locais de coleta sugeriram que as populações se diferenciam quimicamente a distâncias geográficas superiores a 120 km. Os métodos quimiométricos espaciais através de variogramas e mapas de probabilidade permitiram a detecção e a caracterização da estrutura químico-espacial entre populações, bem como dos fatores ambientais responsáveis por ela. Todas essas estratégias indicaram que as populações diferem quimicamente a distâncias geográficas superiores a 120 km, um indicador da distância mínima entre amostras necessária para a conservação da diversidade genética das populações. Embora raramente usadas em metabólitos secundários de plantas, essas metodologias se revelaram de grande aplicação na conservação de espécies e conduziram a uma integração efetiva entre genética, química e ecológica.

Palavras-chave: *Eugenia dysenterica*, óleo essencial, quimiovariações, variograma, variação espacial.

Abstract

The chemical composition of essential oils was used to study the spatial structure of eight *E. dysenterica* populations in central Brazilian Cerrado. Variation partitioning using spatial and environmental data sets as predictors was highly significant and explained 8.2% and 11.1% of oil chemovariations, respectively. The data suggested with essential oil polymorphism was genetically rather than environmentally determined. Furthermore, the intercept of the multivariate Mantel autocorrelogram between the distance matrices of oil constituents and sampling sites suggested that the populations differ chemically whenever geographical distance exceeds 120 km. The spatial chemometric methods using variograms and probability maps detected and characterized the spatial chemical structure among populations, as well as the environmental factors responsible for them. All these strategies indicated that the populations differ chemically whenever the geographical distance exceeds 120 km, an indicator of the minimal distance between samples required for conserving the genetic diversity of populations. Although being scarcely used with secondary metabolites, these methodologies may be used in a wide range of applications in species management and may lead to an effective integration of genetic, chemical and ecological perspectives.

Keywords: *Eugenia dysenterica*, essential oil, chemovariations, variogram, spatial variation

Introdução

1. Espécies frutíferas do Cerrado

Atualmente o Cerrado é considerado um dos principais biomas brasileiros devido à grande biodiversidade de espécies vegetais e diversificação florística em suas diferentes fisionomias vegetais, tanto no substrato arbóreo como na formação herbácea (NAVES *et al.*, 1995). Estende-se por um quarto do território brasileiro (Figura 1) e é caracterizado pelo gradiente de fitofisionomias de pastagens para formações florestais (RIBEIRO & WALTER, 1998). Abriga 33% da diversidade biológica do país, com alto grau de endemismo, e é conhecido como “berço das águas”, por abrigar algumas nascentes das principais bacias hidrográficas (LIMA, 2013).

Figura 1. Área de distribuição original do Cerrado brasileiro. Fonte: LAPIG

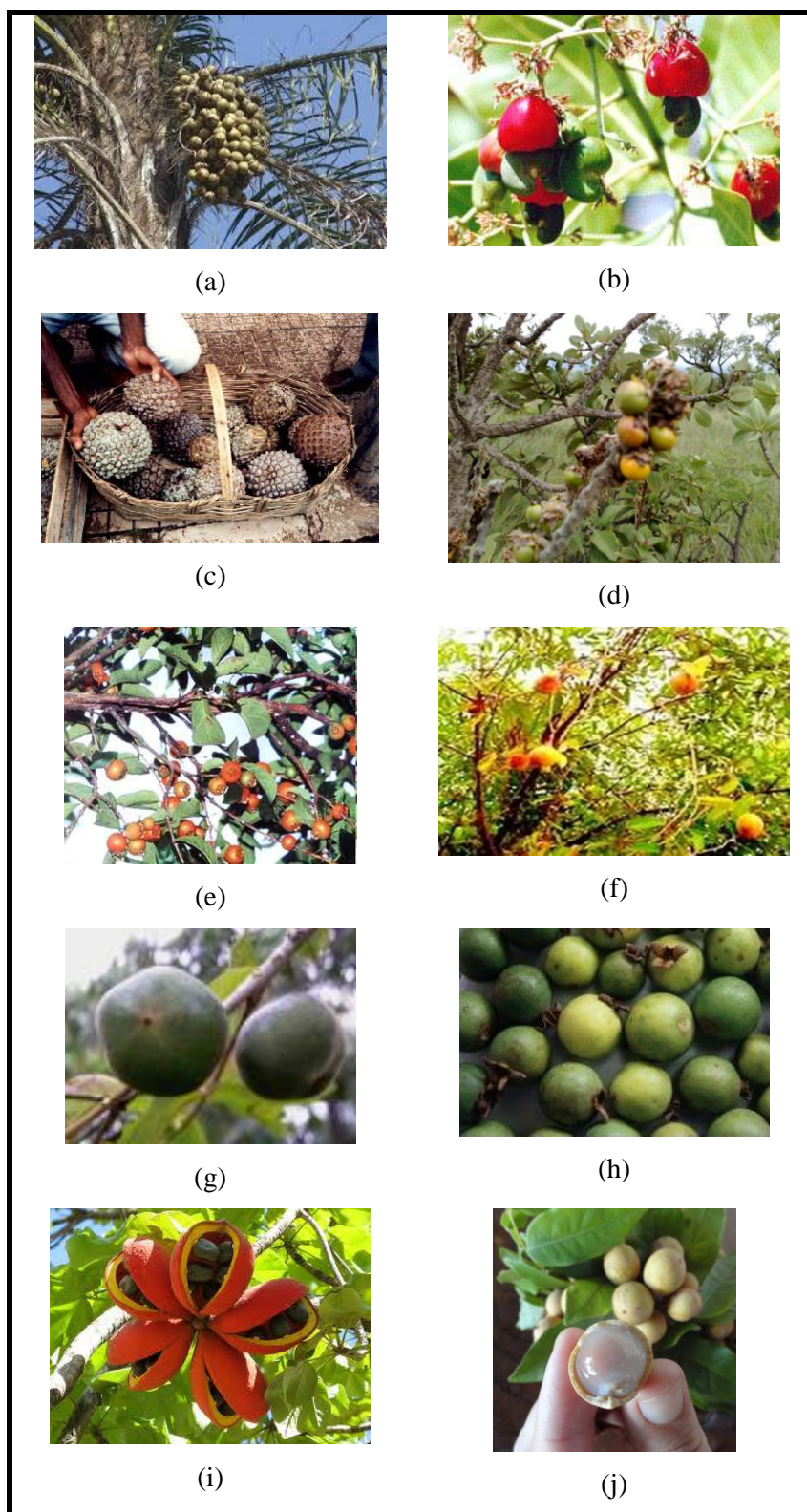


Ao longo da história, seus frutos são consagrados pelos índios e foram de suma importância para a sobrevivência dos primeiros desbravadores e colonizadores da região central do Brasil. Contudo as vegetações nativas desta região apresentam um mercado econômico crescente para cultivo, porém, pouco exploradas pelos agricultores em decorrência do pouco conhecimento sobre a variabilidade genética, técnica de cultivo, crescimento e desenvolvimento dessas espécies. Não obstante todo o aproveitamento dos frutos tem sido feito de forma extrativista e muitas vezes predatória (DUBOC & GUERRINI, 2007).

Muitas de suas espécies vegetais possuem potencial econômico ilimitado e são usados pela população local para diversos fins, sendo comercializados em feiras e com grande aceitação popular. Dentre as espécies encontradas, várias delas são fornecedoras de frutos comestíveis, as quais apresentam variação em formato, cor, sabor e tamanho (TRINDADE & CHAVES, 2005; SILVA *et al.*, 2008).

Todavia são conhecidas mais de 58 espécies de frutas nativas dos Cerrados que frequentemente são utilizadas como alimento. Dentre elas (Figura 2), pode-se encontrar a macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.; Arecaceae), caju-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.; Anacardeaceae), araticum (*Annoma crassiflora* Mart.; Annonaceae), murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich.; Malpighiaceae), gabioba (*Campomanesia cambessedeanana* Berg.; Myrtaceae), mangaba (*Hancornia speciosa* Gomez; Apocynaceae), puçá (*Mouriri pusa* Gard.; Melastomataceae), araçá (*Psidium araca* Raddi; Myrtaceae), chichá (*Sterculia striata* A. St. Hil. & Naud; Malvaceae) e pitomba (*Talisia esculenta* (St. Hil.) Radlk; Sapindaceae), entre outras (FERREIRA & SILVA, 1980, DONADIO *et al.*, 1992, SILVA *et al.* 2008).

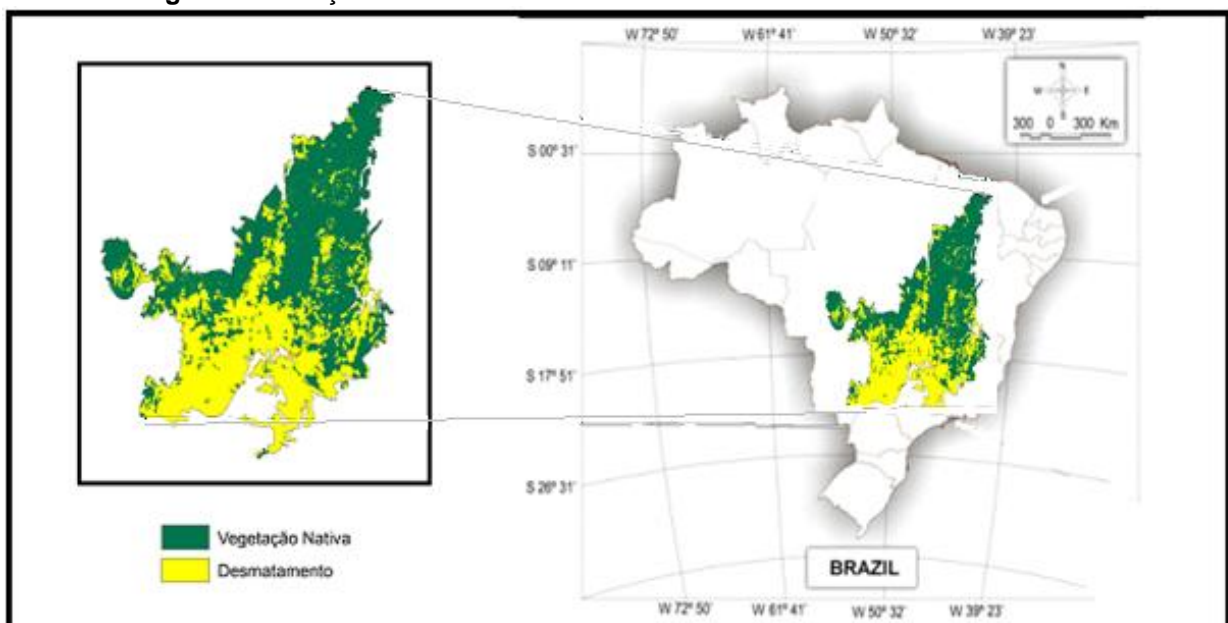
Figura 2. Frutos nativos do Cerrado. (a) macaúba; (b) caju-do-cerrado; (c) araticum; (d) murici; (e) gabiroba; (f) mangaba; (g) puçá; (h) araçá; (i) chicha e (j) pitomba.



Neste contexto, a cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.; Myrtaceae) merece destaque pelo amplo potencial econômico de utilização em sistemas tradicionais de produção agrícola e por apresentar uma vasta gama de utilização pela população local (ALMEIDA, 1998, FONSECA & MUNIZ, 1992).

Apesar de o Cerrado ser considerado um *hostpost* de biodiversidade, por abrigar mais de 11.000 espécies de plantas nativas, incluindo 4.400 espécies endêmicas, apenas 2,2% de sua área apresenta proteção legal (MARRIS & NATURE, 2005), e mesmo com a crescente divulgação das qualidades da vegetação nativa desta região, estima-se que aproximadamente 40% deste bioma já tenham sido dizimados pelos constantes desmatamentos realizados para a exploração agrícola (Figura 3), principalmente no início de 1950 até a década de 1970 (KLINK & MACHADO, 2005). Porém as mudanças impostas pelo o novo Código Florestal, aprovado em 2012, podem levar à liberação de parte dessas áreas que são protegidas como unidades de conservação para o desmatamento (LIMA, 2013).

Figura 3. Evolução do desmatamento do Cerrado até 2009. Fonte: LAPIG – 2009



Entretanto, uma estimativa por sensoriamento remoto mostra que cerca de 50% da vegetação original do Cerrado havia sido dizimado até 2008, devido principalmente a pastagens e culturas agrícolas (SANO & ALMEIDA, 2009). Depois da Mata Atlântica o Cerrado é o bioma brasileiro que sofreu os maiores impactos antropogênicos, sendo classificado como um dos biomas mais ameaçados do mundo (MYERS *et al.*, 2000; MITTERMEIER *et al.*, 2005).

Porém, por muito tempo os desmatamentos ocorreram de forma desordenada e sem planejamento, motivados pela facilidade de se limpar e adubar a terra, através das mecanizações das lavouras de soja e cana-de-açúcar, a criação de bovinos, e como consequência proporcionou a fragmentação da vegetação nativa desses locais (ROESLER *et al.*, 2007, LIMA, 2013).

Contudo a fragmentação dessas áreas torna-as descontínuas entre as populações nativas, comprometendo o fluxo gênico dentro de algumas espécies, e aliado a pouca informação técnica disponível sobre a utilização e o comportamento dessas espécies frutíferas, torna-as vulneráveis ao risco de uma acentuada erosão genética tendo como causa a redução genética das mesmas, antes mesmo de conhecerem melhor as propriedades alimentícias, madeireiras, farmacológicas e paisagísticas de seus frutos.

Diante desta preocupação, especialistas em melhoramento vegetal e geneticistas motivados pela perda da diversidade genética das espécies vegetais do Cerrado incluíram pesquisas sobre a estrutura genética das populações de plantas dessa região em programas de conservação e manejo dos recursos genéticos (NAVES *et al.*, 1995; SOUZA *et al.*, 2001; TELLES *et al.*, 2001a, TELLES *et al.*, 2003, ZUCCHI *et al.*, 2005, TRINDADE & CHAVES, 2005; DUARTE *et al.*, 2009).

Não obstante a determinação da influência dos fatores químicos e físicos, como a qualidade do solo, umidade, luminosidade, barreiras hidrográficas, longitude, latitude, etc., sobre o desenvolvimento da vegetação, mais pesquisas são requeridas para que contribuam de forma objetiva para a viabilização econômica das espécies nativas.

2. *Eugenia dysenterica* DC (“cagaiteira” – Myrtaceae)

A *Eugenia dysenterica* DC, conhecida popularmente como cagaiteira ou cagaita (Figura 4), pertencente à família das Myrtaceae, é uma espécie nativa do Cerrado, sendo encontrada em populações agrupadas (DUARTE *et al.*, 2006). Suas populações predominam em clima subtropical mais fresco com temperaturas médias anuais de 21 e 25°C e altitudes de 380 a 1100 m (SOUZA *et al.*, 2008).

Seus espécimes ocorrem espontaneamente em regiões de cerrado típico e cerradões menos pobres, sendo uma planta perene típica nas diversas fitofisionomias dos Cerrados brasileiros (NAVES *et al.*, 1995; DONADIO *et al.*, 1992), frequentemente encontradas em latossolos vermelho-escuro e vermelho-amarelo (OLIVEIRA JR. *et al.*, 1997; DUARTE *et al.*, 2006).

Figura 4. *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae). Foto retirada no viveiro da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.



Esses solos possuem valores médios de potássio, cálcio, manganês, além de teores de argila superiores aos locais onde a espécie não ocorre. Contudo, a sua densidade populacional é reduzida com a elevação dos teores foliares de potássio (DUARTE *et al.*, 2006).

No entanto, a ocorrência da cagaiteira em solos de baixa fertilidade mostra que esta frutífera encontra mecanismos de suprir a quantidade de nutrientes que lhes permitam o desenvolvimento vegetativo e a reprodução (DUBOC & GUERRINI, 2007).

A *E. dysenterica DC* é uma espécie perene, com um ciclo de vida longo, (DONALDIO *et al.*, 1992; FERREIRA & CUNHA, 1980). Caracteriza-se por ser uma árvore mediana com até dez metros de altura, com o tronco cilíndrico de 25-35 cm de diâmetro (DUBOC & GUERRINI, 2007) e apresentando um crescimento lento (DUBOC & GUERRINI, 2007; SOUZA *et al.*, 2008). Sua madeira é empregada em pequenas construções, na fabricação de móveis rústicos, estrados e como lenha e carvão. Possuem ramos tortuosos, tronco enrugado, casca grossa e fissurada (RIZZINI, 1971b). Sua madeira é pesada (densidade 0,82 g cm⁻³), dura, com textura fina a média, pouco resistente e moderadamente durável (DUBOC & GUERRINI, 2007).

Sua casca é empregada na medicina popular como antidiarréica, sendo que outrora foi muito empregada em curtumes. As folhas são conhecidas como antidiabéticas e a garrafada das folhas produz efeito antidiarreico. Também é utilizada para combater problemas cardíacos (ROESLER *et al.*, 2007). Além disso, os extratos das folhas revelaram grande potencial de ação *in vitro* contra o rotavírus e fungos sistêmicos humanos, o que confirma a sua utilização etnofarmacológica para tratar diarreia e disenteria (COSTA *et al.*, 2000).

As fenofases de mudança foliar, floração e frutificação ocorrem no início das chuvas, entre agosto e outubro. Em agosto ocorre a renovação das folhas, que são avermelhadas, embora ocorra antes da queda total das folhas velhas.

Possuem flores hermafroditas, apresentando uma sincronia no florescimento, em um padrão de floração que é denominado “big bang” (PROENÇA & GIBBS, 1994). A floração ocorre durante todo o ano e em maior

intensidade no período de renovação das folhas, e muito curto, de agosto a setembro. As flores são axilares e completas com 1,5 a 2 cm de diâmetro e pétalas de coloração branca (SOUZA *et al.*, 2008). Elas são aromáticas e a população local as utiliza como medicamento natural para problemas renais (SILVA JUNIOR, 2005).

A partir do quarto ou quinto ano de idade se inicia a frutificação, sendo em média a formação dos frutos e maturação de aproximadamente de quatro semanas. A maturação dos frutos é relativamente rápida, iniciando no período chuvoso. Esse fenômeno provavelmente pode estar relacionado à estratégia de estabelecimento da espécie, cujas sementes possuem uma viabilidade curta em condições naturais, sendo menor que 50 dias (SOUZA *et al.*, 2008).

A cagaiteira produz de 500 a 2000 frutos por árvores (Figura 5), sendo que estes pesam de 14 a 20 g (NAVES *et al.*, 1995). Possuem ampla utilização como alimento e como matéria-prima para a produção de vinagre e álcool após serem submetidos à fermentação (FONSECA *et al.*, 1992).

Figura 5. Fruto da cagaiteira. (a) Cachos de frutos. (b) Destaque para o tamanho dos frutos.
Fonte: EMBRAPA.



(a)



(b)

O fruto é uma baga globosa-achatada, amarelo-pálida, com 3 a 4 cm de comprimento e 3 a 5 cm de diâmetro, contendo de 1 a 3 sementes brancas, envoltas na polpa. Apresenta um cálice seco aderido ao fruto, casca brilhante membranácea, mesocarpo e endocarpo suculentos de sabor agradável (NAVES *et al.*, 1995; PROENÇA & GIBBS, 1994). Eles são apreciados por seu sabor e são consumidos *in natura* ou processados para produzir diferentes

tipos de doces, geleias, sorvetes, licores e sucos (SILVA *et al.*, 2001, ALMEIDA *et al.*, 1987, OLIVEIRA *et al.*, 2011). Se consumida ao natural, devem ser tomadas algumas precauções em relação à quantidade ingerida, porque pode tornar-se laxante, principalmente quando fermentada ao sol. O efeito laxante *in vivo* é devido a um peptídeo não tóxico presente na polpa da fruta que podem ser usado para desenvolver novos medicamentos como para a constipação crônica e síndrome do intestino irritável (LIMA *et al.*, 2010). As polpas congeladas exibem atividades inibitórias elevadas de α -glicosidase e α -amilase e representam uma ferramenta com grande potencial para o tratamento diabetes (GONÇALVES *et al.*, 2010).

Por sua vez, o óleo essencial das folhas de *E. dysenterica* DC apresenta atividade antifúngica frente ao *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, um fungo sistêmico humano, com alta prevalência em pacientes imunodeprimidos. A atividade antifúngica está associada aos terpenos (E)-cariofileno, α -humuleno, limoneno, α -tujeno, α -terpineol e óxido de cariofileno (COSTA *et al.*, 2000).

A dispersão dos frutos no início do período chuvoso é imprescindível para que exista um período favorável para estabelecimento e crescimento da plântula e que essa possa sobreviver no período seco subsequente (SOUZA *et al.*, 2008) A germinação de suas sementes tem apresentado grande desuniformidade e a taxa de germinação é de até 95% (ALMEIDA *et al.*, 1998; Duarte *et al.*, 2006, DONALDIO *et al.*, 1992; FERREIRA & CUNHA, 1980).

Seus principais polinizadores são as abelhas da espécie *Bombus* sp, apesar de existirem polinizadores oportunistas (PROENÇA & GIBBS, 1994). A dispersão é realizada principalmente por macacos (primatocórico) e pelo homem (antropocórico), embora outros animais também desempenhem esta função (FERREIRA & CUNHA, 1980).

As características históricas da formação e transformação do Cerrado, bem como os processos antrópicos e fragmentação dessa região são importantes na explicação dos padrões de variabilidade genética dessa espécie (TELLES *et al.*, 2001a, b).

Recentemente, observou-se que a variabilidade química dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* DC, determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria quadrupolar de massas (GC/MS) aliada a técnicas quimiométricas, parecem refletir a existência de uma forte influência genética na composição dos óleos essenciais entre as subpopulações de Senador Canedo e Campo Alegre de Goiás, definidos como dois quimiótipos (DUARTE *et al.*, 2009). Também se observou que a variação química em uma das subpopulações resultou de uma resposta às pressões seletivas nas estações do ano, definindo diferentes ecótipos para *E. dysenterica* DC (DUARTE *et al.*, 2010a, b).

Em adição, a estrutura dessas duas subpopulações, baseada em dados químicos, concordou com o padrão de variabilidade genética, utilizando descritores morfológicos (TELLES *et al.*, 2001b) ou isoenzimáticos (TELLES *et al.*, 2001a; TRINDADE & CHAVES, 2005), bem como de marcadores genéticos, como os de microssatélites (ZUCCHI *et al.*, 2003) e RAPD (ZHU *et al.*, 2005). Por outro lado, também se observou uma nítida influência ambiental sobre a diferenciação fenotípica, como as características morfológicas e demográficas entre as regiões de ocorrência das duas subpopulações (TRINDADE & CHAVES, 2005). Assim, esses estudos sugeriram que o polimorfismo químico pode ser utilizado como critério adicional em estratégias de conservação de espécies.

3. Óleos essenciais

Óleos essenciais compõem uma classe de metabólitos vegetais produzidos pelas plantas por outras necessidades que não a de nutrição, por exemplo, para a atração e repelência de insetos e ação alelopática. A sua produção está integrada à fisiologia de toda a planta e, por isso, a sua composição e quantidade dependem das enzimas específicas que catalisam a produção de compostos voláteis em um órgão, do estágio de desenvolvimento e de estresse biótico e abiótico, como herbivoria e ataques de fungos e

bactérias, salinidade do solo, umidade e temperatura, entre outros (SANGWAN *et al.*, 2001).

Estes são produzidos em vários sítios no interior das células oleíferas distribuídas pelas folhas da planta, e armazenados nos vacúolos, onde se encontra uma porção média de 0,26% do peso das folhas (BRAGA, 1971). A concentração de seus constituintes químicos varia durante o ciclo circadiano e sazonal, entre outros fatores abióticos (TAIZ & ZAIGER, 2004; RAVEN *et al.*, 2001).

As principais famílias que produzem os óleos essenciais pertencem às angiospermas dicotiledôneas, como Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae e Rutaceae, entre outras (SIMÕES *et al.*, 2005).

Os óleos essenciais são formados por misturas que envolvem de 50 a mais de 100 compostos orgânicos voláteis, lipofílicos e, geralmente são odoríferos e líquidos. Alguns autores os classificam como terpenos. Contudo, nem todos os óleos essenciais são terpenóides, sendo alguns constituídos de fenóis, alcoóis simples, aldeídos, cetonas, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e compostos com enxofre (SIMÕES *et al.*, 2005).

Os terpenóides são em geral monoterpenos e sesquiterpenos, terpenos com 10 e 15 carbonos formados pela junção de duas e três unidades isoprênicas, respectivamente. Até recentemente pensava-se que existisse somente uma via responsável na formação dos precursores dos terpenos e sendo esta considerada, por muito tempo, como caminho universal para produção de isopreno: a via do mevalonato que envolve o ácido (3R)-mevalônico como intermediário (SIMÕES *et al.*, 2005).

A via do mevalonato é derivada da condensação de três moléculas de acetil-CoA, que origina o β -hidróxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA), que após hidrólise e redução enzimática, origina o ácido mevalônico (MVA). O ácido mevalônico sofre sucessivas fosforilações dos grupos hidroxilas, seguida de descarboxilação e eliminação de um grupo pirofosfato. Uma isomerase remove o próton *pró-R* (H_R) em C-2 desta unidade isoprênica, originando o DMAP. A

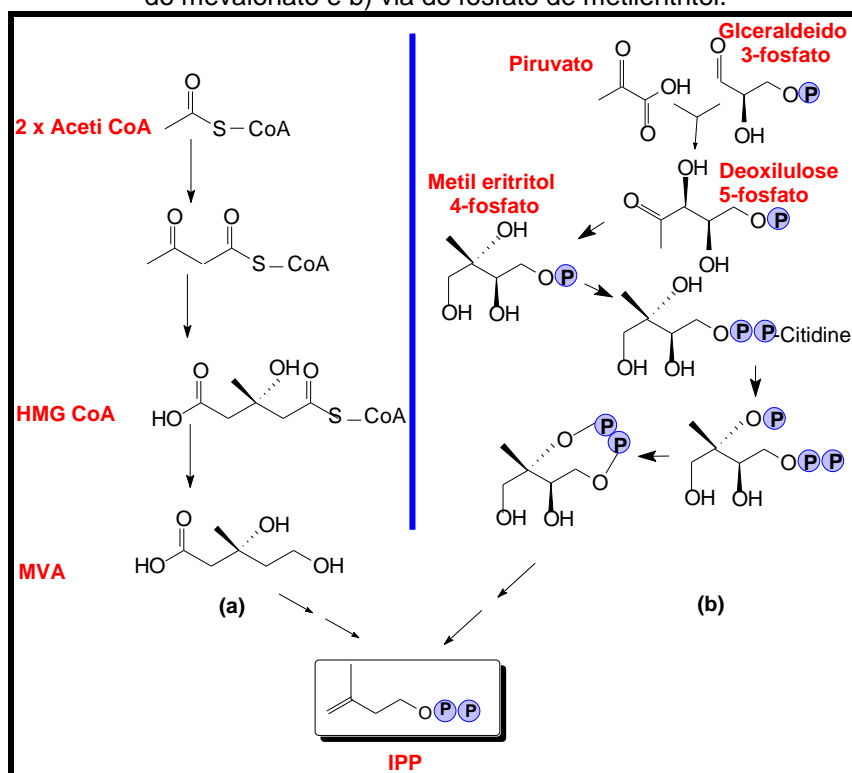
condensação de unidades isoprênicas origina as cadeias de pirofosfato de farnesila (C15), pirofosfato de geranila (C20) e pirofosfato de geranilfarnesila (C25), que são precursores dos sesquiterpenos (SIMÕES *et al.*, 2005).

No entanto foi descoberta, recentemente, a via do fosfato de desoxilulose, que se crê estar mais generalizada na natureza do que a via do mevalonato (SIMÕES *et al.*, 2005).

Por outro lado a via do fosfato de metileritritol (MEP) é metabolizada após sucessivas reações da glicose, do piruvato e o gliceraldeído 3-fosfato mediado pela coenzima difosfato de tiamina (TPP). Através de rearranjo pinacólico, seguido de redução, ocorre formação das unidades isoprênicas que são catalisadas pela enzima preniltransferase que produz o pirofosfato de geranila, conhecido como precursor dos monoterpenos.

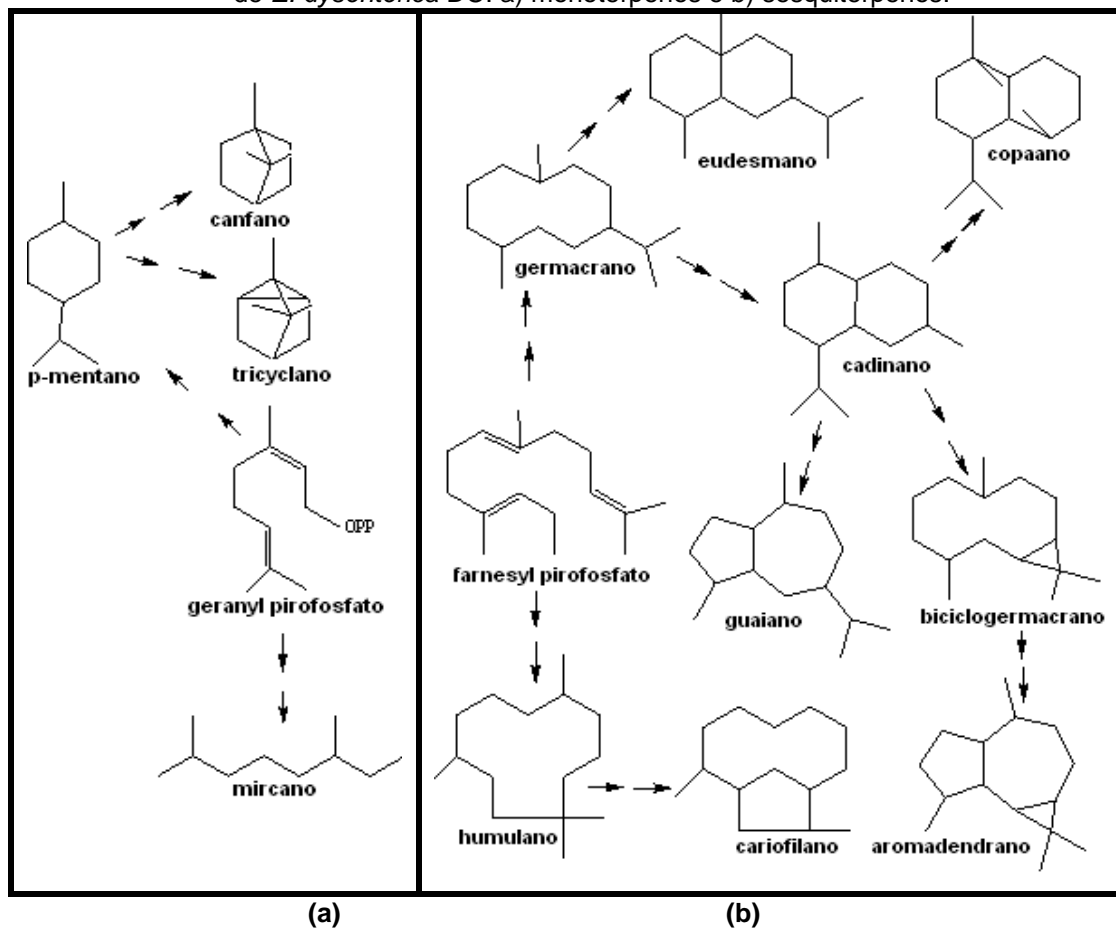
Para uma melhor compreensão a Figura 6 apresenta, de forma simplificada e esquemática, as duas vias de formação do isopreno, precursor dos terpenos.

Figura 6. Esquema simplificado das duas vias biossintéticas na formação do isopreno: a) via do mevalonato e b) via do fosfato de metileritritol.



A Figura 7 ilustra os esqueletos carbônicos formados após a fusão de unidades isoprênicas (C5) originando o difosfato de geranila (GPP, C10) e o difosfato de farnesila (FPP, C15).

Figura 7. Principais grupos biossintético (esqueleto carbônico) encontrados no óleo essencial de *E. dysenterica* DC: a) monoterpenos e b) sesquiterpenos.

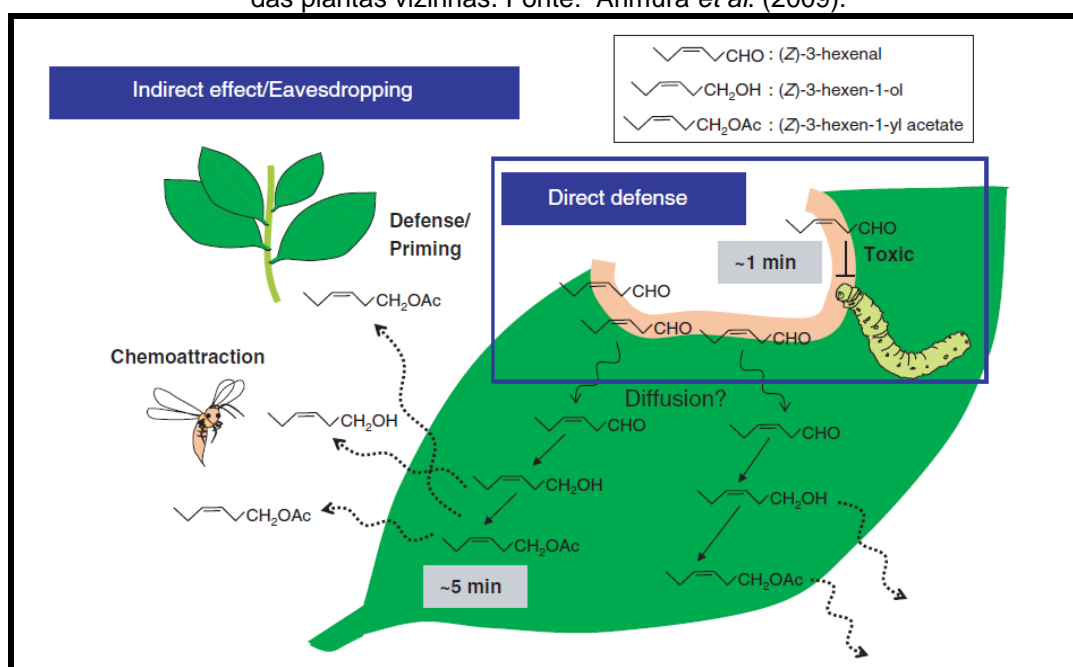


De acordo com Simões *et al.* (2005), a metabolização dos compostos primários nas duas vias biossintéticas ocorrem de forma distintas. Entre as diferenças, a via do mevalonato forma preferencialmente os sesquiterpenos e triterpenos, além de ocorrer no citoplasma da célula, enquanto que a via do metileritritol fosfato origina predominantemente os monoterpenos e ocorre nos cloroplastos das células (TAIZ & ZAIGER, 2004; RAVEN *et al.*, 2001).

4. Interações planta meio-ambiente e planta-animal

Embora o metabolismo especial nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente (Figura 8). Entretanto não são bem definidas as funções fisiológicas dos terpenos. Sabe-se que a composição destes varia muito dentro do reino vegetal. No entanto, a diversidade química não ocorre apenas entre e dentro de famílias de plantas, mas também, dentro do gênero de plantas ou mesmo dentro de uma espécie, em espécies aromáticas e não aromáticas (KLEINE & MULLER, 2011).

Figura 8. Biossíntese e os efeitos biológicos dos óleos essenciais. O (Z)-3-hexenal, é formado imediatamente após a perturbação dos tecidos da planta, no local da ferida causada por ataque de herbívoros ou danos mecânicos. Uma porção do aldeído pode difundir da ferida para toda a folha, formando (Z)-3-hexen-1-ol, álcool não tóxico, e o (Z)-3-hexen-1-il acetato. Estes podem ser úteis para a regulação da alimentação de herbívoros, presa (predadores) e para a defesa das plantas vizinhas. Fonte: Arimura *et al.* (2009).



Para sobreviver, durante sua evolução, os vegetais desenvolveram mecanismos de resposta contra danos e doenças que, quando acionados, reconhecem a agressão. Muitos são os tipos de estresses que os vegetais

podem enfrentar como as oscilações drásticas de temperatura, umidade, radiação solar, ataque de pestes ou patógenos, dentre outros (SOARES & MACHADO, 2007). Como defesa química, produzem determinados terpenos e alteram concentrações destes ou até mesmo mudam a constituição de compostos como mecanismo de resposta. Essas alterações na composição metabólica de uma planta alteram fortemente a comunidade de herbívoros (SOARES & MACHADO, 2007; KLEINE & MÜLLER, 2011).

Harborne (1993) salienta que algumas espécies de besouros evitam alimentar-se de tomates (*Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl.; Solanaceae) em decorrência do alto conteúdo do sesquiterpeno zingibereno. Enquanto Mumm *et al.* (2004) descreveram sobre o sesquiterpeno (E)- β -farneseno, encontrado em grande quantidade após a deposição de ovos do herbívoro *Diprion pini* L. (Hymenoptera, Diprionidae) em *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae), sendo esta reação considerada uma resposta da defesa desta espécie. Igualmente, este fenômeno ocorre com plantas que, quando infestadas por aranhas *Tetranychus urticae* Koch (Acari, Tetranychidae), produzem os compostos (E)- β -ocimeno e (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, os responsáveis em atrair para a planta o predador deste araneídeo (HARBORNE, 1993). Algumas coníferas produzem uma mistura de limoneno, pineno e mirceno em altas concentrações a fim de afetar o sistema nervoso e o desenvolvimento de alguns insetos (MAHMOUD & CROTEAU, 2002).

Contudo a variação no aumento do constituinte β -tujona, em *T. vulgare*, demonstrou que o pulgão *M. tanacetaria* desenvolveu tolerância a este constituinte, enquanto lepidópteros herbívoros generalistas mostraram-se intolerantes a altas concentrações deste composto (KLEINE & MÜLLER, 2011).

Goralka e Langenheim (1996) relatam sobre a variação no rendimento de monoterpenos das folhas em diferentes estágios do desenvolvimento de *Umbellularia californica* (Hook. & Arn.) Nutt. (Lauraceae) ao verificaram que à medida que a planta passava para a fase adulta o rendimento destes compostos terpênicos aumentava e ocorria uma diminuição na herbivoria, o que permitia a reprodução da planta.

Entretanto, esses metabólitos especiais, tidos como secundários, desempenham também as funções de acolhimento e/ou atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de sementes e microorganismos simbiontes. Em 1990, Borg-Karlson, observou que o (-)- γ -cadineno, conhecido como ferormônio de atração sexual de machos de abelhas do gênero *Andrera*, foi encontrado nas flores de orquídea do gênero *Ophrys*, assim atraindo o seu polinizador.

Esses constituintes também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como mudanças bruscas de temperatura, estiagem ou excesso de chuva, quantidade de luz, exposição à UV e deficiência de nutrientes minerais no solo. Segundo Mahmoud & Croteau (2002), a composição do óleo essencial de hortelã-pimenta pode ser afetada por condições ambientais, tais como fluxo de fótons de baixa densidade a por temperaturas altas, que favorecem a produção e acumulação de pulegona e mentofurano, os quais são responsáveis pelo odor e paladar desagradável da espécie.

Por outro lado, estudos mostram que os micronutrientes presentes no solo podem exercer função de cofatores na biossíntese de terpenos. Picaud *et al.* (2005) salientam que a presença de Mn^{2+} no solo, onde cominho (*Cuminum cyminum* L.; Apiaceae) fora cultivado, promoveu a produção do γ -humuleno e uma redução na quantidade dos demais terpenos, podendo ser explicada pela ação do Mg^{2+} sobre a enzima sesquiterpenosintase na biossíntese dos terpenos. Em contrapartida, o Mn^{2+} quando adicionado no cultivo da pimenta apresentou uma diminuição significativa de δ -cadineno, ou mesmo a ausência deste subproduto, que é dependente da enzima (E)- β -farnesenosintase (CROCK *et al.*, 1997).

Estudos com *Mentha piperita* L. (Lamiaceae), mostraram a influência marcante dos níveis de fósforo no conteúdo e rendimento do óleo essencial desta espécie (DAVID *et al.*, 2006). Sabe-se que o fósforo é essencial para o crescimento da planta e estudos mostram que este elemento participa de várias etapas na rota biossintéticas dos terpenos (RAVEN *et al.*, 2001).

Outro fator que pode influenciar a concentração desses constituintes químicos é a sazonalidade. Confirma-nos Taveira *et al.* (2003), em seus estudos com os óleos essenciais de folhas e da casca do tronco *Aniba canelilla* (Kunth) Mez. (Lauraceae), que o aumento ou redução nas concentrações dos constituintes depende do período de chuva ou de estiagem. Entretanto, os óleos essenciais de *Lantana camara* L. (Verbenaceae), coletadas em Madagascar (RANDRIANALIJAONA *et al.*, 2005), revelou uma estabilidade em relação aos constituintes químicos dos óleos essenciais ao longo do ano.

A variação dos constituintes químicos no metabolismo especial de plantas tem forte importância ecológica e é fator importante para a compreensão da história evolutiva de populações naturais, como eles afetam as interações intra e interespecíficas (BRENES-ARGUEDAS & COLEY, 2007).

No entanto estudos mostram que a variação de terpenos depende, principalmente, de fatores genéticos (KLEINE & MÜLLER, 2011).

Apesar de Curado *et al.* (2006) fornecerem evidências de que quimiotipos de terpenos são fortemente controladas por fatores genéticos, este também relatou casos de variação ambiental na relação terpenos e habitat, em condições extremas. Portanto, esta variação pode ser explicada por uma combinação de fatores de fontes genéticas ou ambientais. Estudos semelhantes foram descritos por Haider *et al.* (2004), analisando a influência de fatores ambientais na composição química dos óleos essenciais de Asteraceae, e também por Loziene e Venskutonis (2005) e Karousou & Kokkiini (2005), em estudos com Lamiaceae.

Os fatores espaciais podem ser críticos para cada um desses processos e os níveis e a estrutura espacial da quimiovariação podem afetar a competição (HULL-SANDERS *et al.*, 2007), adaptação local à presença de outras espécies de plantas (EHLERS & THOMPSON, 2004), a polinização (RAGUSO, 2008), o ciclo de nutrientes do solo (USHIO & ADAMS, 2011), a resistência diferencial ao congelamento (AMIOT *et al.*, 2005), comportamento de forragem e seleção de habitat (DEGABRIEL *et al.*, 2010), como também influenciar na adaptação e capacidade de seleção química da planta por herbívoros e patógenos (THRALL & YOUNG, 2001).

Este polimorfismo químico intraespecífico frequentemente ocorre em condições de estresse biótico ou abiótico e desempenha um importante papel na adaptação do indivíduo ao ambiente, permitindo, inclusive, a formação de novas comunidades. Essas características adaptativas dos óleos essenciais podem ser úteis e para explicar diversas questões sobre os principais fatores que afetam a estrutura de uma determinada população sob os aspectos químicos e ecológicos.

Capítulo 1

Variabilidade química espacial dos constituintes químicos das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae)



Publicado como: VILELA, E. C.; CARVALHO, T. C.; DUARTE, A. R.; NAVES, R. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Spatial structure of *Eugenia dysenterica* based on essential oil chemovariations and implications for conservation and management of the genetic diversity of its populations. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 23, no. 10, p. 1776-1782, 2012.

1.1. Objetivo

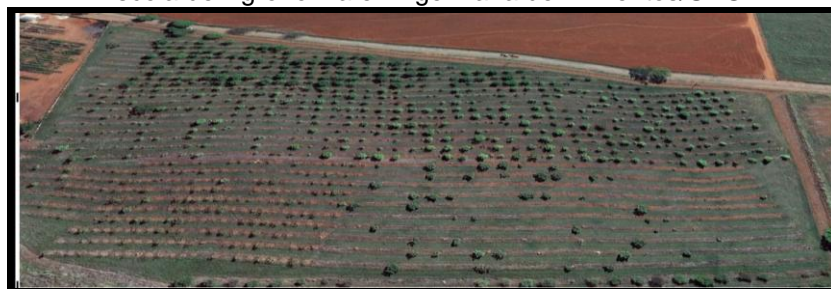
O objetivo deste capítulo foi avaliar os padrões espaciais da variação química dos constituintes dos óleos essenciais de oito subpopulações de *E. dysenterica* DC encontradas no Cerrado central brasileiro, a fim de inferir sobre os prováveis processos que estão atuando na diferenciação química dessas subpopulações.

1.2. Experimental

1.2.1. Coleta do material botânico das populações estudadas de *E. dysenterica* DC

Em julho de 2010 foram coletados, no viveiro da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, 0,3 kg (trezentos gramas) de folhas de *E. dysenterica* DC oriundas de 121 indivíduos descendente das oito subpopulações situadas no cerrado goiano (Figura 9).

Figura 9. Local de coleta (a) Vista aérea dos quatro blocos e (b) Vista aproximada do viveiro. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos/UFG.



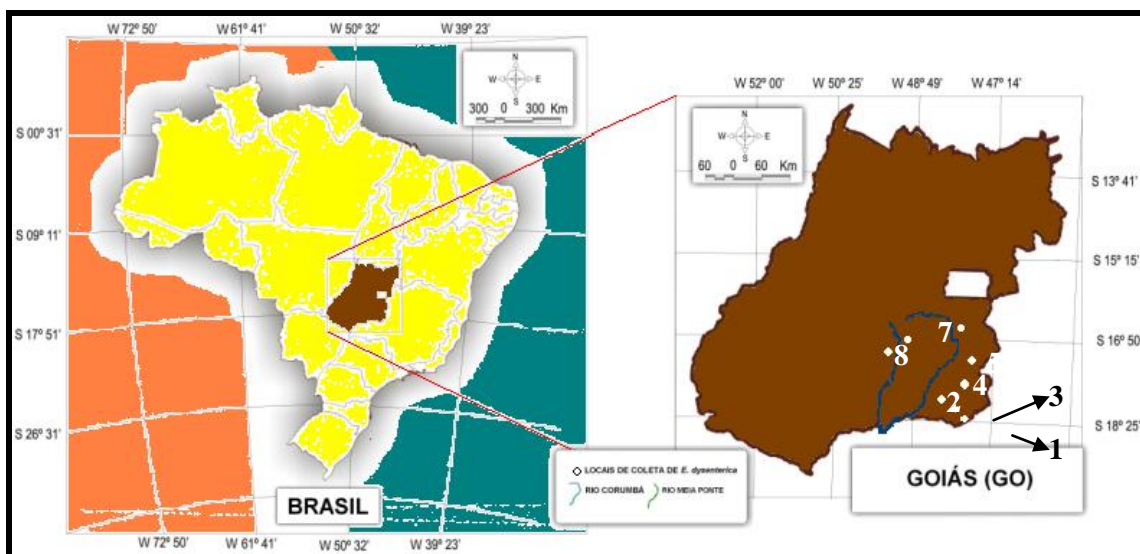
(a)



(b)

As árvores se originaram de sementes plantadas seguindo um delineamento em blocos casualizado, cujo efeito ambiental local foi totalmente aleatorizado. A localização das populações originais (Figura 10) e o número de espécimes amostrado se encontram na Tabela 1.

Figura 10. Localização das oito áreas de coleta de *E. dysenterica* DC no cerrado goiano.



A localização das progênies das subpopulações foi feita por coordenadas geodésicas, a partir de um sistema de posicionamento global (GPS) e a altitude medida por altímetro, com precisão de 10m.

Tabela 1. Localidades e coordenadas geográficas das subpopulações e o número de espécimes de cagaiteira amostradas em cada área do cerrado goiano.

População (localização)	Nº de árvores amostradas	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)
1 Catalão-1	13	18°07'35"	47°54'20"	880
2 Catalão-2	11	18°02'03"	48°02'31"	860
3 Três Ranchos	10	18°17'15"	47°48'41"	820
4 Campo Alegre de Goiás	23	17°39'11"	47°46'37"	930
5 Cristalina	18	17°10'47"	47°31'07"	890
6 Luziânia	11	16°28'48"	47°48'40"	900
7 Senador Canedo	24	16°37'13"	49°04'29"	840
8 Goiânia	11	16°40'30"	49°14'42"	740
Total de Amostras	121			

1.2.2. Extração dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica*

Com a finalidade de avaliar os óleos essenciais, as folhas foram secas à temperatura ambiente durante sete dias até peso constante. Após este período, foram pulverizadas de 50-100 g (cinquenta à cem gramas) da fitomassa de cada amostra e submetidas a hidrodestilação (3 h), utilizando um aparelho de Clevenger modificado. No final de cada hidrodestilação, os óleos foram recolhidos e secos com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), em seguida, transferidos para frascos de vidro, onde foram mantidos a uma temperatura de -18°C . Os rendimentos, em porcentagens, de óleo foram baseados no peso seco das amostras de plantas.

1.2.3. Parâmetros químicos do solo dos locais das progênes e dos nutrientes foliares das folhas de *E. dysenterica* DC.

Os parâmetros dos solos dos locais de amostragem (P, K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , pH, matéria orgânica, capacidade de troca catiônica (CEC), acidez potencial ($\text{H} + \text{Al}^{3+}$) e texturas do solo, bem como os nutrientes foliares de cada população (N, P, S, K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+}), foram previamente relatado por Telles *et al.* (2001a) e ordenados numa matriz de dados de ambiente com 29 variáveis para cada sitio de amostragem. A matéria orgânica do solo e texturas foram submetidos à transformação angular (valores em %), enquanto as outras variáveis foram transformadas por $\log(x + 1)$, em virtude dos dados estarem em mg/g. A matriz ambiental contendo as variáveis de nutrientes foliares, composição química e textura dos solos de amostragem estão apresentados no apêndice (S6).

1.2.4. Análises dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica*

As amostras dos óleos essenciais foram submetidas à GC/EM em um equipamento Shimadzu (QP505A), utilizando coluna capilar (CBP-5; 30 m de

comprimento \times 0.25 mm de diâmetro interno \times 0.25 μ m de espessura do filme, 5% de fenilmetilpolisiloxano), conectado a um detector quadrupolar de massas operando no modo EI a 70eV, a uma vazão de 1 mL/min (Hélio); temperaturas do injetor a 220°C e interface a 240°C e aquecimento programado (60-246°C, gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 270°C, com isoterma de 5 min). O volume de injeção das amostras foi de 0,4 μ L diluídas em hexano (10% p/v), com uma razão de split de 1:20. A análise foi conduzida no modo varredura, a 70 eV, com intervalo de massa de 40-400 m/z e a uma velocidade de 1,0 varredura/s.

Os constituintes dos óleos essenciais foram identificados comparando-se os espectros de massa com os registrados pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (1998), e por comparação dos espectros de massa e os índices de retenção lineares calculados (RI) com os valores encontrados na literatura (ADAMS, 2007), os índices de retenção foram obtidos por co-injeção de uma mistura de hidrocarbonetos lineares, C₈-C₃₂ (Sigma, EUA), e pelos índices de retenção aritméticos segundo Dool & Kratz (1963). A análise quantitativa dos óleos essenciais das populações foi efetuada pela integração do cromatograma total de íons (TIC). Os cromatogramas estão representados no apêndice (S1).

1.2.5. Análises estatísticas dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* DC das oito populações estudadas

Porém as comparações múltiplas de médias, tendo as populações como fator, foram estabelecidas através de análise de variância (ANOVA). Verificou-se todos os dados quanto à homocedasticidade através do teste de Hartley. Quando foi observado heterocedasticidade, utilizou-se a transformação angular [$\arcsen(\text{raiz quadrada}(x/100))$] ou a ordem dos mesmos (rank). Além disso, sempre que a diferença entre as médias na ANOVA foi estabelecida, realizou-se um teste de Tukey. Os resultados são apresentados como valores médios seguido do desvio padrão das medições independentes. Valores p

inferiores a 0,05 foram considerados significativos. Todas as ANOVAs foram realizadas no Statistical Analysis System, v. 6.12 (SAS; Cary, NC, 1996) via PROC GLM.

Contudo, as matrizes foram submetidas a análise de redundância canônica (RDA) afim de se inferir sobre o padrão de variação explicado pelas interrelações entre os indivíduos (espécimes de cagaiteira) e os constituintes químicos dos óleos essenciais (121×49) e também pelos constituintes dos óleos essenciais reorganizados de acordo com os esqueletos carbônicos biossintéticos (121×14), tratados como variáveis de resposta, condicionados pelos parâmetros químicos do solo e nutrientes foliares (121×27), tratados como variáveis ambientais ou explicativas (LEPS & SMILAUER, 2007). Utilizou-se o teste de Monte-Carlo (999 permutações) para avaliar a significância do primeiro autovalor, assim como a soma de todos os autovalores canônicos (traço da matriz). As matrizes dos constituintes químicos dos óleos essenciais (média > 1%) e dos constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos normalizados, encontram-se no apêndice (S4 e S5 respectivamente).

Em adição, foi utilizada a análise de discriminante canônica, via SAS CANDISC, para avaliação do poder discriminante de algumas variáveis de resposta na tendência de agrupamentos sugeridos nos dois primeiros eixos da Análise de Redundância Canônica (RDA). A capacidade preditiva da função discriminante foi avaliada pelo método de validação cruzada. O sumário da análise de discriminante canônico pode ser encontrado no apêndice (S7).

Através de RDAs parciais foi possível restringir o número de ordenações ao controlar o efeito de um número de variáveis explicativas significativas. O particionamento da variação total nas espécimes entre os componentes ambiental e espacial foi obtida por RDAs parciais (BORCARD, LEGENDRE & DRAPEAU, 1992). A matriz de dados espaciais consistiu das coordenadas geográficas tridimensionais UTM dos indivíduos de *E. dysenterica* DC (norte, leste e altitude), os quais foram sumarizados pelos dois primeiros eixos fatoriais de uma PCA que representaram as novas coordenadas X e Y.

Não obstante, a superfície espacial foi obtida utilizando essas novas coordenadas X e Y, com a adição de todos os termos de uma equação polinomial de terceiro grau completa ($X^3+X^2+X+Y^3+Y^2+Y+X^2Y+XY^2+XY$), conhecida como equação polinomial de tendência de superfície, o qual sumarizou as tendências de gradientes lineares e superfícies complexas que exigem os termos quadráticos e cúbicos.

Os monômios significativos foram selecionados via o procedimento de seleção automática do pacote estatístico CANOCO for Windows (JONGMAN *et al.*, 2002; TER BRAAK, & ŠMILAUER, 2002; ŠMILAUER, 2003 e LEPŠ & SMILAUER, 2007), com ajuste de Bonferroni e o fator de inflação da variável (VIF) como critério para avaliar a multicolinearidade na regressão. A matriz espacial, ou seja, de coordenadas geograficas (UTM), o polinômio e o sumário da RDA encontram-se no apêndice (S3 e S7 respectivamente).

O particionamento da variação ofereceu quatro frações de variação dos dados das espécimes: [A] fração da variação explicada pelos fatores ambientais dos locais de amostragem; [B] fração da variação compartilhada por fatores ambientais e espaciais; [C] fração de variação explicada pelos fatores espaciais puros, e [D] contendo a porção da variação total não explicada pelos conjuntos de dados (apêndice S9), segundo a Figura 11 (BORCARD, LEGENDRE & DRAPEAU, 1992; LEGENDRE & LEGENDRE, 2003).

Figura 11. Particionamento da variação total em termos das contribuições ambiental/espacial.

Fração [a]	Fração [b]	Fração [c]	Fração [d]
Matriz ambiental (solo+folha) = X			
	Matriz espacial (coordenadas geográficas) = W		
			Não explicada
Variância total (constituintes químicos dos óleos essenciais) = Y			

A análise do padrão químico espacial foi também obtida pelo autocorrelograma multivariado de Mantel, a fim de avaliar a relação entre a matriz de espécimes (constituintes dos óleos essenciais/esqueleto carbônico

biossintético) e a matriz de distância geográfica (MANTEL, 1989, SOKAL & ODEN, 1978a, b; LEGENDRE & FORTIN, 1989). A distância Euclidiana foi usada para se obter as matrizes de similaridade. Os autocorrelogramas multivariados de Mantel (com 999 permutações) foram obtidos no programa Pattern Analysis, Spatial Statistics and Geographic Exegesis-PASSAGE (ROSENBERG & ANDERSON, 2011). Os sumários dos autocorrelogramas multivariados de Mantel com os constituintes químicos dos óleos essenciais e com os constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos biossintéticos encontram-se no apêndice (S10).

1.3. Resultados e Discussão

Para este estudo foram analisadas 60 (sessenta) espécimes de cagaiteira, sendo que em cada planta foram retiradas de duas a três porções de amostras de folhas totalizando em 121 (cento e vinte e uma) amostras, as quais foram extraídas e analisadas por CG/EM. Após a análise dos óleos essenciais identificamos e quantificamos 49 (quarenta e nove) constituintes químicos (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagens^a dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* DC coletadas de oito populações do cerrado goiano.

	Constituinte	IR ^b	Subpopulações ^c							
			1	2	3	4	5	6	7	8
1	Santolinatrieno ^d	906	3,05 a	1,38 a	-	0,44 a	-	1,36 a	-	2,74 a
2	Triciclono	921	3,36 a	3,01 a	2,04 a	7,02 a	3,85 a	2,03 a	6,78 a	3,66 a
3	α -Pineno ^e	932	0,04 a	-	0,06 a	0,01 a	0,02 a	-	-	-
4	α -Fencheno ^d	945	-	0,26 a	0,07 a	-	-	0,09 a	-	0,02 a
5	Canfeno ^d	946	1,06 b	0,96 b	0,73 b	3,30ab	2,98ab	0,75 b	6,50 a	4,31ab
6	6-Metileptan-2ol ^d	958	0,37 a	0,82 a	0,08 a	-	-	0,47 a	-	0,11 a
7	Mirceno ^d	988	0,25 c	0,27bc	0,23bc	1,77 a	1,85ab	0,57abc	2,17ab	1,88abc
8	ρ -Cimeno ^d	1020	0,06 a	-	0,03 a	-	0,58 a	0,07 a	0,04 a	0,04 a
9	Limoneno ^d	1024	6,77 a	1,47 a	0,97 a	1,88 a	2,55 a	3,73 a	5,10 a	3,41 a
10	1,8-Cineol ^d	1026	0,38 a	0,20 a	0,70 a	0,19 a	1,27 a	0,18 a	0,15 a	0,06 a

Continuação da Tabela 2

Constituinte	IR ^b	Subpopulações ^c							
		1	2	3	4	5	6	7	8
11 (Z)- β -Ocimeno ^d	1032	1,43 a	2,44 a	2,96 a	2,05 a	7,68 a	1,32 a	5,68 a	0,46 a
12 (E)- β -Ocimeno ^d	1044	0,30 a	0,56 a	0,69 a	0,42 a	2,05 a	0,70 a	1,59 a	0,21 a
13 Terpinoleno	1086	-	-	0,03 a	-	-	-	0,02 a	-
14 Linalool ^e	1095	0,19 c	0,45bc	1,18 a	0,19 c	0,65ab	0,59abc	0,54ab	0,50abc
15 Endofenchol	1165	0,13 a	0,16 a	0,12 a	-	-	0,17 a	-	-
16 Borneol ^d	1165	0,62 a	0,41 a	0,20 a	0,03	-	0,41 a	-	0,06 a
17 α -Terpineol ^e	1186	1,56 a	1,60 a	0,68 a	0,58 a	0,39 a	0,87 a	0,51 a	0,68 a
18 α -Copaeno ^d	1374	8,87ab	12,67 a	10,6 ab	10,27 a	6,87abc	12,9 ab	3,66 c	5,34 bc
19 (Z)-Cariofileno ^d	1408	-	3,30 a	0,13 a	-	-	4,22 a	-	4,93 a
20 (E)-Cariofileno ^d	1417	13,2bcd	14,6cd	18,1abcd	20,9ab	31,9 a	7,98cd	20,8ab	7,15d
21 α -Guaieno ^d	1437	1,68 a	-	2,26 a	0,86 a	0,82 a	0,32 a	0,93 a	0,96 a
22 6,9-Guaiadieno ^e	1441	0,51 a	0,64 a	0,33 a	0,48 a	0,54 a	-	0,96 a	0,46 a
23 α -neo-Cloveno ^d	1452	0,32 a	0,64 a	1,65 a	0,66 a	0,89 a	-	1,88 a	1,05 a
24 α -Humuleno ^d	1452	11,94 a	7,02 a	9,37 a	12,7 a	7,68 a	10,72 a	8,31 a	11,23 a
25 9-epi-(E)- Cariofileno ^d	1462	-	0,32 a	0,37 a	0,46 a	0,60 a	0,48 a	0,15 a	1,80 a
26 γ -Muuroleno	1478	0,98 ab	1,50 a	1,44 a	0,82ab	0,70 ab	0,63 ab	0,25 b	0,75 ab
27 α -Amorfeno ^d	1483	-	0,25 a	0,09 a	0,09 a	0,14 a	1,25 a	0,11 a	0,21 a
28 β -Selineno ^d	1489	0,53 a	-	0,78 a	0,42 a	0,35 a	0,14 a	0,99 a	1,64 a
29 δ -Selineno	1492	-	-	-	3,00 a	1,88 a	-	1,17 a	1,98 a
30 Viridifloreno ^d	1496	-	0,15 a	-	-	-	1,41 a	1,15 a	0,89 a
31 α -Selineno ^d	1498	0,59 a	-	0,93 a	0,50 a	0,28 a	0,12 a	0,45 a	4,00 a
32 α -Muuroleno ^d	1500	1,08 ab	1,26 a	1,17 ab	0,47 c	0,44 c	0,7 abc	0,21 c	0,07 bc
33 α -Bulneseno ^d	1509	1,48 a	-	2,41 a	1,10 a	1,05 a	-	1,43 a	0,24 a
34 δ -Amorfeno ^d	1511	1,10 a	-	0,18 a	-	0,89 a	1,13 a	0,51 a	-
35 γ -Cadineno ^d	1513	1,34ab	3,24ab	2,16ab	1,85b	2,05ab	1,27ab	10,73a	7,77ab
36 7-epi- α - Selineno ^d	1520	-	1,43 a	0,96 a	1,55 a	1,00 a	0,12 a	1,01 a	1,28 a
37 δ -Cadineno	1522	9,66 a	12,17a	9,97 a	10,1a	10,97a	8,42 a	5,55 a	5,05 a
38 α -Calacoreno ^e	1544	0,09 a	0,52 a	0,26 a	-	-	0,41 a	-	0,16 a
39 Epóxido de italiceno ^e	1553	0,47 ab	0,95 a	0,61 ab	0,26 b	-	0,41 ab	0,02	0,09 b
40 Álcool cariofilenílico ^d	1570	0,4abcd	0,68ab	0,62 a	0,08 d	0,1bcd	0,5abc	0,13cd	0,1abcd
41 Pigmaeína ^d	1582	0,17 a	0,33 a	0,25 a	3,01 a	1,31 a	0,20 a	0,72 a	0,32 a
42 Óxido de cariofileno ^e	1584	1,33 ab	1,54ab	3,26 a	0,85 b	0,54 b	1,94 ab	1,05ab	2,69 a

Continuação da Tabela 2

Constituinte	IR ^b	Subpopulações ^c							
		1	2	3	4	5	6	7	8
43 Epóxido de humuleno II ^e	1608	2,80 ab	0,87ab	3,76 ab	0,98ab	0,45 b	3,62 a	0,09	4,02 a
44 Muurola-4,10(14)-dien-1 β -ol ^e	1630	4,25 a	3,80abc	3,32abc	1,33bcd	1,06bcd	6,60 a	0,46 d	1,52bcd
45 Epóxido allo-aromadendreno ^d	1634	3,59 ab	1,29 bc	2,25 ab	0,45 cd	0,06	4,26 a	0,10 d	1,13 cd
46 α -Muurolol ^d	1644	1,06 ab	1,63 a	1,44 a	0,50 ab	0,08 b	1,47 a	0,21 b	0,44 ab
47 Selin-11-en-4 α -ol ^d	1656	0,20 a	-	0,58 a	0,17 a	0,11 a	-	0,07 a	0,72 a
48 14-Hidróxi-(Z)-cariofileno ^e	1660	0,50 a	0,76 a	0,77 a	0,14 a	-	0,37 a	-	0,14 a
49 14-Hidróxi-9-epi-(E)-cariofileno	1673	-	0,10 a	0,26 a	-	-	0,11 a	-	-
Hidroc. monoterpênicos ^e		19,7abc	10,36bc	7,81 c	16,9abc	21,57ab	10,61bc	27,88a	16,72abc
Monoterpenos oxigenados ^e		2,34a	2,82 ab	2,89 ba	0,99 b	2,30 ab	2,21 ab	1,2ab	1,30 ab
Monoterpenos ^d		28,7ab	13,18 b	10,70 b	17,9 ab	23,9 ab	12,82 b	29,1 a	18,02 ab
Hidroc. sesquiterpênicos		47,6c	59,4abc	62,9 abc	65,8 ab	68,50 a	51,7bc	60,1abc	55,1 abc
Sesquiterpenos oxigenados ^d		19,6a	11,94 a	17,24 a	5,23 b	3,02 bc	19,73 a	2,29 c	12,59 a
Sesquiterpenos		61,2ab	71,4ab	80,1a	71,0ab	71,5ab	71,4ab	62,3b	67,7ab
Outros ^d		6,36a	1,14 a	0,33 a	3,01 a	1,31 a	0,66 a	0,72 a	0,44 a
Total identificado ^d		84,90b	85,69 b	91,15 b	91,92 b	96,70 a	84,89 b	92,15ab	86,18 b

^aBaseada nos dados originais. ^bÍndice de retenção calculado. ^c1: Catalão 1; 2: Catalão 2; 3: Três Ranchos; 4: Campo Alegre de Goiás; 5: Cristalina; 6: Luziânia; 7: Senador Canedo; 8: Goiânia. ^dTransformado pela ordem dos mesmos (rank) e ^etransformação angular na ANOVA. Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey. t = traço (<0,03%). - = não detectado.

Diferenças quantitativas foram observadas entre os principais constituintes em função dos sítios de amostragem. Verifica-se que as amostras oriundas de Cristalina (5) e de Senador Canedo (7) apresentaram os maiores teores de (E)-cariofileno (5: 31,94% e 7: 20,75%, valor médio 15,19%), enquanto que o γ -cadineno foi majoritário em Senador Canedo (7: 10,73%). Também foram observadas divergências consideráveis em relação ao α -copaeno, com valores percentuais elevados nas amostras provenientes de

Catalão-2 (12,67%) e Campo Alegre de Goiás (10,27%), e conteúdo baixo em amostras de Senador Canedo (3,66%).

Por outro lado os monoterpenos foram predominantes em Senador Canedo (29,08%), enquanto que os hidrocarbonetos sesquiterpênicos ocorreram com percentuais mais altos em Cristalina (68,50%), enquanto os sesquiterpenos apresentaram altos teores em Três Ranchos (80,12%). Não obstante dois dos constituintes majoritários dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC, o α -humuleno (2: 7,02% e 4: 12,69%, valor médio 9,90%) e δ -cadineno (8: 5,05% e 2: 12,17%, valor médio 8,85%), não apresentaram diferenças químicas significativas entre as oito populações analisadas. Estes resultados estão de acordo Duarte *et al.* (2009), embora apresentem diferenças quali e quantitativas quanto as constituintes minoritários.

Nota-se baixos teores de sesquiterpenos oxigenados em Campo Alegre de Goiás (4), Cristalina (5) e Senador Canedo (7) (2,29-5,23%), e também teores reduzidos de hidrocarbonetos monoterpênicos (7,81%) foram encontrados na população de Três Ranchos (3), no entanto quantidades moderadas de monoterpenos (12,8-29,1%, valor médio 15,69%) foram análogas entre as populações analisadas.

Com a intenção de enfatizar as variações químicas ao nível dos diferentes grupos biossintéticos da via do mevalonato os constituintes químicos, também, foram agrupados de acordo com os seus esqueletos carbônicos (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagens^a dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC rearranjados de acordo com o esqueleto carbônico biossintético.

Constituinte	Subpopulações ^c							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1 Triciclano	3,54a	3,30a	2,22a	7,59a	3,93a	2,26a	7,54a	4,14a
2 Canfano ^c	1,13b	1,10b	0,79b	3,55ab	3,04b	0,83b	7,29a	4,69ab
3 Mircano ^b	2,35b	4,30ab	5,64ab	4,82ab	12,5a	3,70ab	10,83a	3,59ab
4 Mentano ^b	9,39a	3,75a	2,63a	2,89a	4,95a	6,31a	6,47a	5,11a

Continuação da Tabela 3

Constituinte	Subpopulações ^c							
	1	2	3	4	5	6	7	8
5 Aromadendrano ^b	9,79abc	14,86a	11,48ab	11,35ab	6,98bcd	14,60a	3,83d	5,76cd
6 Copaano ^b	4,09ab	1,69bc	2,50ab	0,49c	0,06	7,14a	1,63c	2,53bc
7 Cariofilano ^b	16,71a	9,14a	14,73a	14,82a	8,30a	17,17a	9,23a	18,05a
8 Guaiano ^b	4,68a	0,75a	5,44a	2,62a	2,48a	0,48a	3,54a	2,02a
9 Humulano ^b	17,8b	24,8ab	25,9ab	24,3ab	34,2a	18,09b	23,49ab	19,68ab
10 Cadinano	22,69ab	28,97a	21,9ab	16,68b	16,85ab	25,2ab	18,95ab	17,5ab
11 Eudesmano ^b	2,14a	1,50a	3,51a	6,10a	4,34a	0,52a	4,42a	11,96a
12 Outros ^b	5,71a	5,85a	3,29a	4,82a	2,34a	3,68a	2,79a	4,93a
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

^aBaseada nos dados originais. ^bTransformado pela ordem dos mesmos (rank) e pela ^ctransformação angular na ANOVA. ^d1: Catalão 1; 2: Catalão 2; 3: Três Ranchos; 4: Campo Alegre de Goiás; 5: Cristalina; 6: Luziânia; 7: Senador Canedo; 8: Goiânia. Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

Diante destes resultados podemos verificar que as amostras das progênes de Luziânia (6), Cristalina (5) e Catalão-2 (2), apresentaram diferenças significativas em relação aos aromadendranos (6: 14,60%), humulanos (5: 34,21%) e cadinanos (2: 28,97%). Notadamente os cariofilanos (8,30-18,05%), eudesmanos (0,52-11,96%), mentanos (2,63-9,39%) e triciclanos (2,26-7,59%), embora compondo alguns dos grupos biossintéticos principais, não apresentaram diferenças significativas entre as populações amostradas.

A fim de inferir sobre o padrão de variabilidade química entre os espécimes de *E. dysenterica* DC foi aplicado o método de redundância canônica (RDA), sendo os constituintes químicos dos óleos essenciais, condicionados pelas variáveis físico-químicas do solo e das análises químicas foliares das progênes. As características relevantes dos solos que apresentaram maior variação entre as populações originais amostradas foram silte, matéria orgânica, macro (Ca^{2+} e Mg^{2+}) e micronutriente (Fe^{3+} e Zn^{2+}), e os nutrientes foliares que apresentaram maior variação entre as populações originais foram Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Na^+ , N, Ca^{2+} e Mg^{2+} .

Luziânia (6), enquanto que o aumento da RDA2 está associado principalmente a um aumento em macronutrientes foliares e do solo (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+}) das amostras provenientes de Goiânia (8) e Senador Canedo (7), que também revelam uma grande quantidade de γ -cadineno (7,77-10,7%, média de 9,8%). Além disso, a diminuição nos valores dos dois eixos da RDA está associada ao aumento de silte e matéria orgânica do solo e ao alto teor de (E)-cariofileno (20,9-31,9%, 25,8%) nas progênies de Campo Alegre de Goiás (5) e Cristalina (6). Esses resultados podem estar associados à pressão de herbivoria, em função da reconhecida ação defensiva do (E)-cariofileno (LOVE *et al.*, 2009, KLEINE & MÜLLER, 2011).

A RDA sugere três agrupamentos naturais de amostras (Figura 12b), um localizado na bacia do rio Meio Ponte (grupo I), um na bacia do Rio Corumbá (grupo II) e um terceiro grupo formado pelo divisor das águas do rio Corumbá e bacia do rio São Marcos (grupo III). Todas essas bacias hidrográficas são afluentes da margem direita do rio Paranaíba. O grupo I está isolado das outras populações pelo rio Corumbá e seus afluentes. As progênies de Luziânia (6) estão separadas do grupo II pela Serra dos Cristais, enquanto que os espécimes de Campo Alegre de Goiás (5) estão próximos a Serra do Contraforte Central. Estes relevos geográficos acidentados sugerem um isolamento de algumas das espécimes estudadas, fato citado por Telles *et al.* (2001 a,b) como isolamento por distância, ocorrendo restrição ao fluxo gênico entre elas. Das localidades estudadas, exceto as áreas de Catalão-1 (1), Cristalina (5) e Luziânia (6), as demais se apresentam com maior grau de antropização, seja por se localizarem dentro da área urbana, como as amostras de Goiânia (8) encontradas em quintais de residências, ou por estarem destinadas a pastagens.

Diferenças quantitativas foram observadas entre os principais constituintes químicos de acordo com os agrupamentos sugeridos na RDA. O α -copaeno apresentou um percentual elevado nas amostras dos grupos III e II, e expressivamente menor no grupo I, sendo um dos poucos constituintes majoritários com grande variação entre os agrupamentos. Por outro lado, os

teores elevados de γ -cadineno e (Z)-cariofileno nos grupos I e II, respectivamente, diferenciaram o grupo III, enquanto que teores elevados de (E)-cariofileno separou o grupo II dos demais grupos.

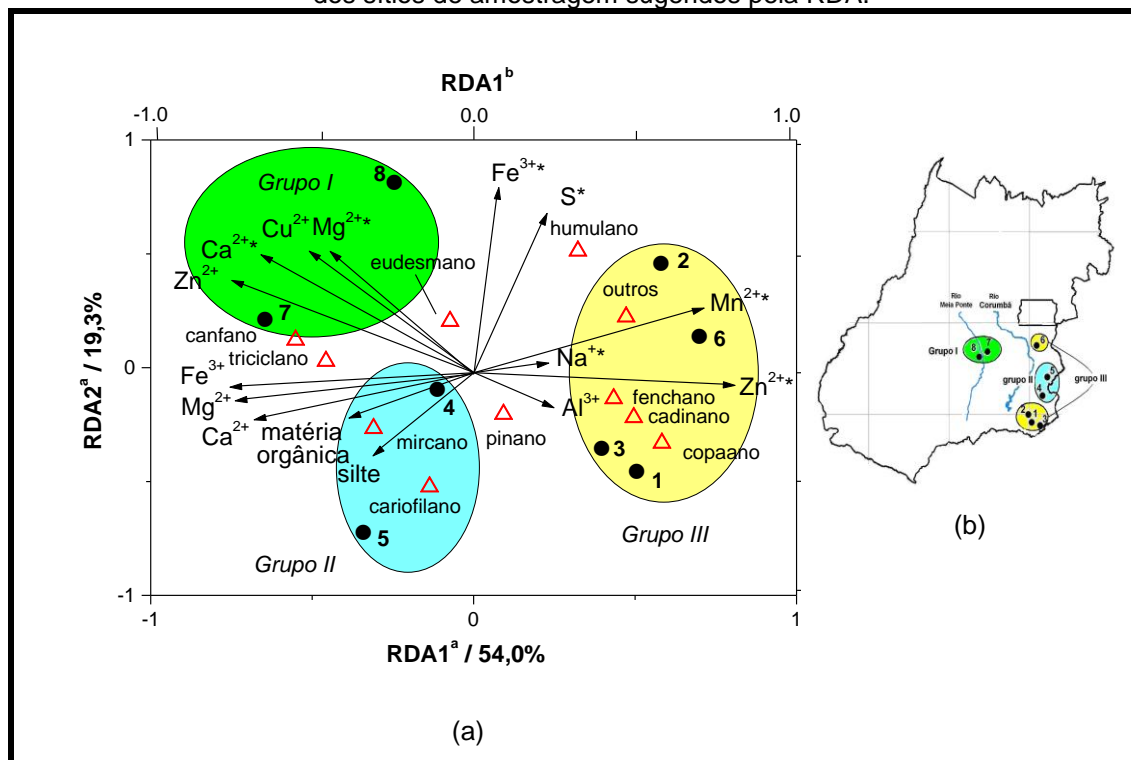
Picaud *et al.* (2005) relacionaram a interação positiva do íon Mn^{2+} (folha) e negativa com o Mg^{2+} (solo) com a produção de δ -cadineno supondo, deste modo, ser uma exigência de íons metálicos divalentes como cofator enzimático pela sesquiterpenosintases. Essas hipóteses foram confirmadas através do estudo com hortelã pimenta, onde o único subproduto produzido pela (E)- δ -farnesenosintase, em presença de íons Mn^{2+} , foi o δ -cadineno. De forma similar pode-se observar no triplot da RDA, a relação entre a presença Mn^{2+} nas folhas e o δ -cadineno. Em adição, Rezende *et al.* (2013) associaram a presença de íons divalentes metálicos com a formação de sesquiterpenos em folhas de *Syzygium jambos* (L.) Auston (Myrtaceae).

Misra & Sharma (1991), em estudos sob o efeito de altas concentrações de Fe^{3+} em *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae), revelaram uma forte correlação entre este elemento e a produção de monoterpenos. Os resultados assemelham-se aos deste trabalho, onde os solos de Senador Canedo (7) e de Goiânia (8), ricos em ferro, apresentaram uma forte correlação com os monoterpenos.

Uma estrutura hierárquica similar foi encontrada na RDA com os constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos biossintéticos (Figura 13).

Os aumentos nos valores da RDA1 e 2 estão relacionados ao aumento de micronutrientes foliares, enquanto a diminuição desses valores, correlacionam-se com os parâmetros físico-químicos dos solos. Os canfanos e triciclanos apresentam-se majoritariamente em amostras de Senador Canedo e Goiânia, enquanto que sesquiterpenos caracterizam principalmente os demais sítios de amostragem.

Figura 13. Triplot da RDA mostrando a distribuição de populações de *E. dysenterica* DC (●, 1-8), de acordo com os esqueletos carbônicos dos constituintes químicos. Os parâmetros dos nutrientes do solo e foliar (*), tratados como variáveis ambientais estão representadas por setas longas a partir da origem. Os grupos biossintéticos são representados por triângulos vermelhos. População: 1: Catalão-1, 2: Catalão-2, 3: Três Ranchos, 4: Campo Alegre de Goiás, 5: Cristalina, 6: Luziânia, 7: Senador Canedo, 8: Goiânia. (b) Agrupamentos dos sítios de amostragem sugeridos pela RDA.



A partir desses resultados as amostras foram caracterizadas em relação aos grupamentos naturais sugeridos com base nas RDAs anteriores (Tabela 4).

Tabela 4. Porcentagens^a dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC agrupados de acordo com os resultados das RDAs.

Constituinte	IR ^b	Agrupamentos ^c		
		I (n = 35)	II (n = 41)	III (n = 45)
1 Santolinatrieno ^f	906	0,86 ab	0,25 b	1,55 a
2 Triciclano	921	5,80 a	5,63 a	2,66 b
3 α -Pineno	932	-	t	t
4 α -Fencheno	945	-	-	0,10
5 Canfeno ^d	946	5,81 a	3,16 a	0,89 b
6 6-Metilheptan-2-ol	958	t	-	0,44
7 Mirceno ^d	988	2,08 a	1,81 a	0,33 b

Continuação da Tabela 4

Constituinte	IR ^b	Agrupamentos ^c		
		I (n = 35)	II (n = 41)	III (n = 45)
8 ρ -Cimeno ^d	1020	0,04 a	0,25 a	0,04 a
9 Limoneno ^d	1024	4,57 a	2,18 a	3,45 a
10 1,8-Cineol ^d	1026	0,12 a	0,66 a	0,36 a
11 (Z)- β -Ocimeno ^d	1032	4,04 a	4,52 a	1,99 a
12 (E)- β -Ocimeno ^e	1044	1,16 a	1,14 a	0,55 a
13 Terpinoleno ^e	1086	t	-	t
14 Linalool ^e	1095	0,53 a	0,39 a	0,57 a
15 Endofenchol	1165	-	-	0,14
16 Borneol	1165	t	t	0,42
17 α -Terpineol ^e	1186	0,56 ab	0,49 b	1,20 a
18 α -Copaeno ^d	1374	4,19 c	8,78 b	11,17 a
19 (Z)-Cariofileno	1408	1,55 a	-	1,86 a
20 (E)-Cariofileno ^d	1417	16,48 b	25,76 a	13,39 b
21 α -Guaieno	1437	0,94 a	0,84 a	1,07 a
22 6,9-Guaiadieno ^e	1441	0,80 a	0,51 a	0,38 a
23 α -neo-Cloveno ^e	1452	1,62 a	0,76 ab	0,62 b
24 α -Humuleno	1452	9,23 a	10,49 a	9,87 a
25 9-epi-(E)-Cariofileno ^d	1462	0,67 a	0,52 a	0,28 a
26 γ -Muuroloeno	1478	0,40 b	0,77 ab	1,12 a
27 α -Amorfenol ^d	1483	0,14 a	0,11 a	0,38 a
28 β -Selineno ^d	1489	1,20 a	0,39 a	0,36 a
29 δ -Selineno ^e	1492	1,42 a	2,51 b	-
30 Viridifloreno ^d	1496	1,07 a	-	0,38 a
31 α -Selineno ^d	1498	1,57 a	0,40 a	0,41 a
32 α -Muuroloeno ^e	1500	0,16 c	0,45 b	1,05 a
33 α -Bulneseno	1509	1,05 a	1,08 a	0,96 a
34 δ -Amorfenol	1511	0,35 a	0,39 a	0,63 a
35 γ -Cadineno ^d	1513	9,80 a	1,94 b	1,97 ab
36 7-epi- α -Selineno ^e	1520	1,09 a	1,31 a	0,59 a
37 δ -Cadineno	1522	5,40 b	10,50 a	10,04 a
38 α -Calacoreno	1544	0,05	-	0,31
36 7-epi- α -Selineno ^e	1520	1,09 a	1,31 a	0,59 a
37 δ -Cadineno	1522	5,40 b	10,50 a	10,04 a
38 α -Calacoreno	1544	0,05	-	0,31
39 Epóxido de italiceno	1553	t	0,14 b	0,60 a
40 Álcool cariofilenílico ^e	1570	0,11 b	0,11 b	0,52 a
41 Pigmaína ^d	1582	0,60 b	2,26 a	0,23 b
42 Óxido de cariofileno	1584	1,57 ab	0,72 b	1,96 a
43 Epóxido de humuleno II ^d	1608	1,32 b	0,75 b	2,74 a
44 Muurolo-4,10(14)-dien-1 β -ol ^e	1630	0,79 c	1,21 b	4,51 a
45 Epóxido allo-aromadendreno ^d	1634	0,43	0,28	2,89

Continuação da Tabela 4

Constituinte	IR ^b	Agrupamentos ^c		
		I (n = 35)	II (n = 41)	III (n = 45)
46 α -Muurolo ^d	1644	0,28 a	0,32 b	1,38 a
47 Selin-11-en-4 α -ol	1656	0,28 a	0,14 a	0,28 a
48 14-Hidróxi-(Z)-cariofileno ^e	1660	0,04 b	0,08 b	0,62 a
49 14-Hidróxi-9-epi-(E)-cariofileno	1673	-	-	0,11
Hidrocarbonetos monoterpênicos		24,37 a	18,95 a	11,57 b
Monoterpenos oxigenados ^d		1,23 b	1,56 b	2,70 a
Monoterpenos		25,6 a	20,51 ab	14,28 b
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos ^d		58,51 b	66,99 a	56,57 b
Sesquiterpenos oxigenados ^d		5,53 b	4,26 b	15,89 a
Sesquiterpenos		64,04 a	71,25 a	72,46 a
Outros		0,63	2,26	0,67
Total identificado ^d		90,27 ab	94,02 a	87,41 b

^a Baseada nos dados originais. ^b Índice de retenção calculado. ^c I: Goiânia, Senador Canedo; II: Cristalina, Campo Alegre de Goiás; III: Catalão 1, Catalão 2, Três Ranchos, Luziânia. ^d Transformado pela ordem dos mesmos (rank) e ^e transformação angular na ANOVA. Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey. t = traço (<0,03%). - = não detectado.

No entanto, diferenças significativas foram observadas entre os principais constituintes químicos de acordo com os agrupamentos. O α -copaeno apresentou teor elevado nas amostras dos grupos II e III, e expressivamente menor no grupo I, sendo um dos poucos constituintes majoritários com grande variação entre os grupamentos. Por outro lado, os altos teores de triciclono e hidrocarbonetos monoterpênicos nos grupos I e II os diferenciam do grupo III, enquanto que teores elevados de (E)-cariofileno separaram o grupo II dos demais grupos. O (E)-cariofileno se sobressai devido às propriedades farmacológicas, como antiinflamatório (TAMBE *et al.*, 1996), anticancerígeno (REZENDE *et al.*, 2013), citotóxicos (KUBO *et al.*, 1996), espasmolítico e anestésico local (CABO *et al.*, 1986). Além disso, esse constituinte pode sofrer oxidação quando exposto ao ar, resultando no óxido de (E)-cariofileno, o qual apresenta atividade alergênica moderada (SKOLD *et al.*, 2006).

Por outro lado, tanto os monoterpenos quanto sesquiterpenos oxigenados caracterizaram o grupo III, sendo os monoterpenos oxigenados

reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas (MORAES, 2008). Por exemplo, o δ -cadineno presente majoritariamente nos grupos II e III é precursor do gossipol, que atua na defesa química das plantas (CASTRO *et al.*, 2004).

Não obstante, os monoterpenos apresentaram maior teor no grupo I. De acordo com Murari (2007), os monoterpenos são compostos de interesse farmacêutico por apresentarem atividade anestésica local e antimicrobiana e utilizada como antipruriginosos, expectorantes, carminativos, antissépticos e também empregados no tratamento de infecções respiratórias. Ainda possuem atividade acaricida, antiinflamatória, antileishmaniose e antiviral.

Embora o limoneno e o α -humuleno tenham apresentado percentuais médios elevados, eles não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Legaut *et al.* (2003) realizaram um estudo sobre a atividade antitumoral do (E)-cariofileno e α -humuleno, contra linhagens de células de tumores sólidos, cujos resultados sugeriram que esta atividade está relacionada com o α -humuleno, altamente ativo contra várias das linhagens de células tumorais, enquanto o (E)-cariofileno provou ser inativo.

Em adição, os constituintes químicos rearranjados de acordo com o esqueleto carbônico biossintéticos (Tabela 5), sugerem a separação dos três agrupamentos prévios, principalmente devido às variações nos teores dos aromadendranos, os quais apresentaram grandes diferenças entre os grupos, sendo o maior teor no grupo III (12,58%) e o menor no grupo I (4,44%). Segundo Lago & Roque (2009) e Costa *et al.* (2012), os aromadendranos apresentam atividade antifúngica. Por sua vez, os humulanos distinguiram o grupo II (28,63%), sendo atribuídas atividades antiinflamatórias e antitumorais (LEGAULT *et al.*, 2003). Os cadinanos discriminaram o grupo III (24,67%) em relação aos outros grupos, enquanto os cariofilanos, embora com teores altos, não apresentaram diferenças significativas entre os três agrupamentos.

Tabela 5. Porcentagens^a dos constituintes químicos de acordo com o esqueleto carbônico nos três grupos sugeridos pelas RDAs dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC de oito subpopulações do cerrado goiano.

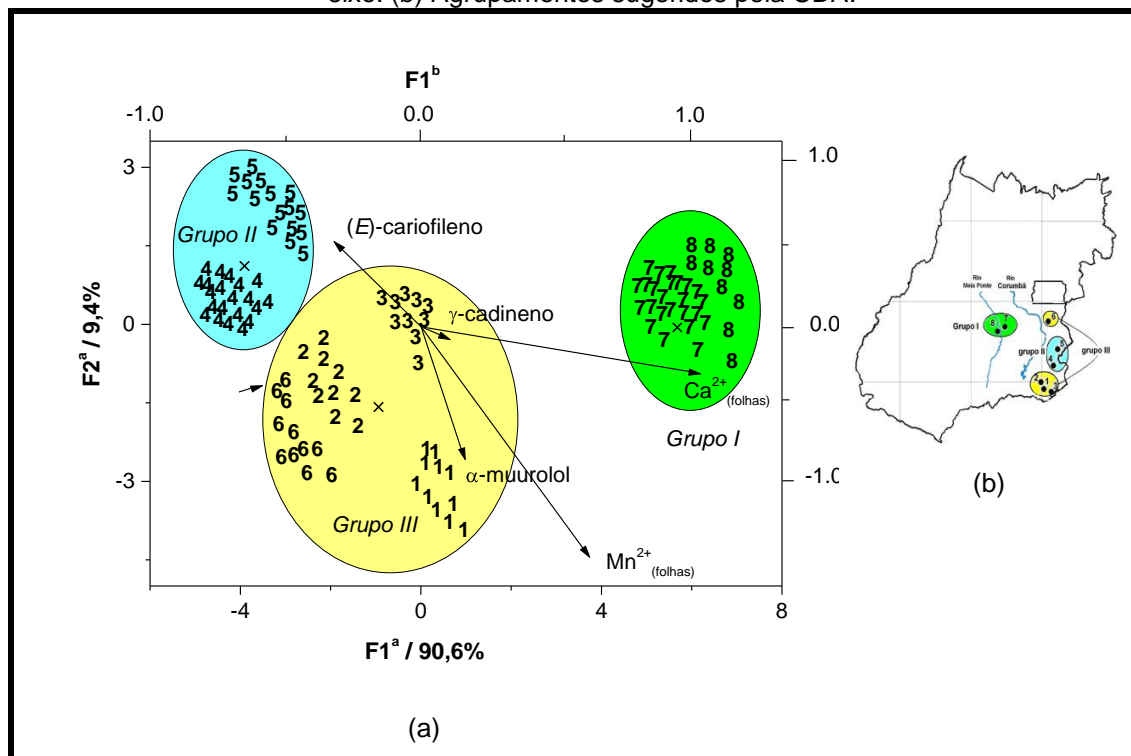
Grupo biossintético	Agrupamentos ^b		
	I (n = 35)	II (n = 41)	III (n = 45)
Triciclano	6,47 a	5,98 a	2,87 b
Canfano ^c	6,48 a	3,32 a	0,97 b
Mircano ^d	8,56 a	8,21 a	3,89 b
Mentano	6,04 a	3,80 a	5,76 a
Aromadendrano ^c	4,44 c	9,43 b	12,58 a
Copaano ^d	1,91 b	0,30 b	3,89 a
Cariofilano	12,00 a	11,96 a	14,53 a
Guaiano	3,06 a	2,56 a	2,86 a
Humulano ^c	22,29 ab	28,63 a	21,37 b
Cadinano	18,50 b	16,75 b	24,67 a
Eudesmano ^c	6,79 a	5,33 a	1,89 a
Outros	3,46 a	3,73 a	4,71 a
	100,00	100,00	100,00

^aBaseada nos dados originais. ^bI: Goiânia, Senador Canedo; II: Cristalina, Campo Alegre de Goiás; III: Catalão 1, Catalão 2, Três Ranchos, Luziânia. ^cTransformado pela ordem dos mesmos (rank) e ^dtransformação angular na ANOVA. Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

A análise de discriminante linear (CDA) conduzida no CANOCO foi efetuada no intuito de se detectar os padrões de distribuição dos indivíduos (amostras) e identificar as variáveis capazes de discriminar os agrupamentos. Para tanto, os grupos aqui estudados foram codificados como variáveis categóricas com base nas análises de RDAs. Para a obtenção das variáveis discriminantes utilizou-se a seleção progressiva de variáveis associada ao teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações), com o nível de significância ajustado pelo método de Bonferoni.

A validação das funções discriminantes foi realizada pela análise de discriminante canônico (CDA), assumindo os grupos I-III e apenas o γ -cadineno e (E)-cariofileno como variáveis dependentes, no entanto como variáveis preditoras os nutrientes foliares Ca^{2+} e Mn^{2+} . A CDA confirmou uma tendência de agrupamento no primeiro plano fatorial da RDA (Figura 14).

Figura 14. (a) Biplot gerado pela CDA das amostras de *E. dysenterica* DC de oito locais de amostragem, de acordo com os agrupamentos a que pertencem: I (7: Senador Canedo; 8: Goiânia), II (4: Campo Alegre de Goiás; 5: Cristalina) e III (1: Catalão-1, 2: Catalão-2, 3: Três Ranchos; 6: Luziânia). Eixo a: refere-se aos escores das amostras. Eixo b: refere-se aos pesos das variáveis discriminantes representados por setas longas a partir da origem. A seta pequena refere-se à amostra mal classificada pela validação cruzada. Cruzes representam os centróides dos agrupamentos e os valores entre parênteses referem-se à variância explicada em cada eixo. (b) Agrupamentos sugeridos pela CDA.



A primeira função discriminante F1 separa o agrupamento II principalmente devido aos pesos negativos da variável (E)-cariofileno, enquanto o alto peso positivo (F1) para o Ca²⁺_{foliar} distinguiu o agrupamento I. O agrupamento III caracterizou-se pelos altos pesos negativos (F2) para o Mn²⁺_{foliar} e para o α-muurolol.

A validação das funções discriminantes foi realizada pelo método da validação cruzada (Tabela 6), resultando em 98% de classificação correta. Observou-se que três amostras, pertencentes a Luziânia (6, cluster III) foram classificadas como pertencente ao agrupamento II. Essas amostras mal classificadas podem ter sido causadas por valores mais elevados de (E)-cariofileno nas amostras, o que é característico do agrupamento I.

Tabela 6. Sumário da análise de discriminante canônico sobre as amostras de *E. dysenterica* DC.

A. Funções Canônicas	Autovalores	Porcentagem relativa	Correlação canônica	Lâmbda de Wilks	F	GL	P
F1	15,719	90,6	0,970	0,023	128,37	10; 228	0,0001
F2	1,630	9,4	0,767	0,380	46,85	4; 115	0,0001
B. Coeficientes padronizados	(E)-cariofileno	γ -cadineno	α -muurolol	Ca ²⁺ (folha)	Mn ²⁺ (folha)		
F1	-0,30	0,10	0,11	1,27	0,65		
F2	0,20	-0,01	-0,46	-0,09	-0,94		
C. Baricentros das classes	I	II	III				
F1	5,87	-3,81	-1,10				
F2	0,58	1,27	-1,60				
D. Validação (Validação cruzada)	Porcentagem de classificação correta						
	I	II	III	Total			
	100,0	100,0	93,0	98,0			

N = 121; variáveis discriminantes: (E)-cariofileno, γ -cadineno, α -muurolol, Ca²⁺(folha), Mn²⁺(folha). Grupos I (n = 35); II (n = 41); III (n = 45).

Segundo Cheng *et al.* (2007), o (E)-cariofileno é utilizado pelas plantas como mecanismo de defesa em resposta a ataques de parasitas. Em estudo sobre o ataque do parasitóide *Anagrus nilaparvatae* Pang & Wang (Hymenoptera: Mymaridae) à espécie de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae) foi constatada uma produção de altos teores de (E)-cariofileno após o ataque deste parasita.

O particionamento da variação total dos dados nas matrizes de resposta foi obtido por meio de RDAs parciais, através da decomposição da variação total dos constituintes químicos dos óleos essenciais (matriz dependente, Y) em duas matrizes preditoras; uma contendo as características físico-químicas do solo e os dados químicos foliares (matriz ambiental, X) e a outra contendo as coordenadas geográficas dos locais das progênies (matriz espacial, W), conforme sugerido por BORCARD *et al.* (1992), MÉOT *et al.* (1998;), WARGNER & FORTIN (2005) e LEGENDRE & LEGENDRE (2003).

O particionamento da variação decompõe, para cada análise, a variação canônica em eixos canônicos, e cada eixo pode ser testado estatisticamente por meio da permutação de Monte Carlo (Tabela 7). Nesse

caso são utilizadas RDAs parciais com as matrizes ambiental (X) e espacial (W) como covariáveis.

Tabela 7. Sumário do particionamento da variação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC por meio de RDAs parciais.

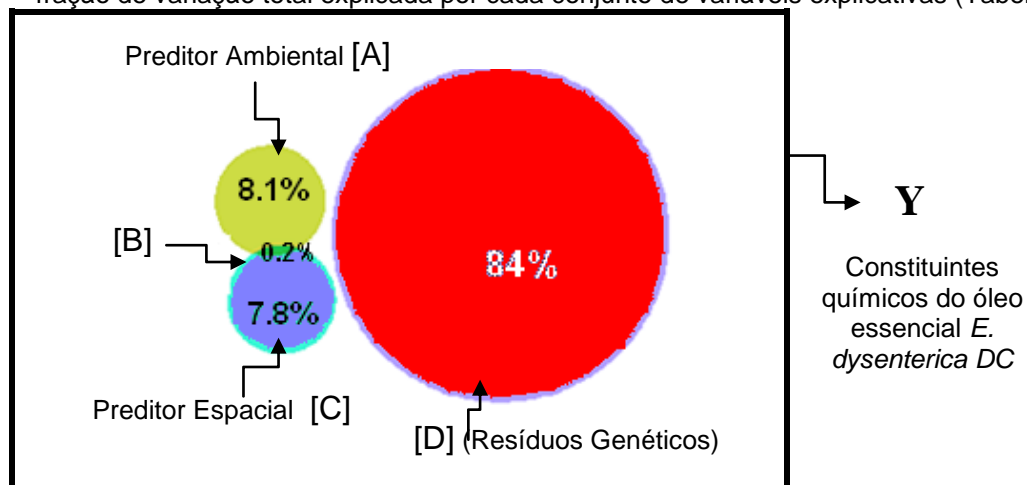
Efeito e variáveis principais (covariáveis)	Componente da variação	Variação explicada (Soma λ^a , %)	P^b (Soma λ)	Variação Inexplicada (λ_1^c , %)	P (λ_1)
Efeito total					
Ambiente, espaço	[A+B+C]	16,1	0,001	8,3	0,001
Efeitos parciais					
Ambiente	[A+B]	8,3	0,001	3,8	0,001
Ambiente (espaço)	[A]	8,1	0,001	4,4	0,001
Espaço	[B+C]	8,0	0,001	6,0	0,001
Espaço (ambiente)	[C]	7,8	0,001	6,5	0,001
Efeito conjunto					
Ambiente, espaço	[B]	0,2			
Resíduos	[D]	84,0			

^asoma de autovalores canônicos (λ) dividido pela variância total ($1,0 \times 100$); ^bprobabilidade pelo teste de Monte Carlo (999 permutações); ^cprimeiro autovalor. Os dados espaciais consistem dos monômios significativos (Y^2 , X^2Y) da superfície de tendência polinomial de terceira ordem originado a partir dos dois primeiros eixos da PCA de coordenadas geográficas (UTM) dos locais de amostragem.

O particionamento da variação total presente nos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC sugere uma contribuição praticamente igual dos fatores ambientais ([A] = 8,1%) e a influência do espaço ([C] = 7,8%), enquanto que apenas 0,2% de variação dos óleos essenciais foi explicada pelo conjunto dos efeitos espacial e edáficos ([B]). Em contrapartida, a alta variação não explicada pelo modelo ([D] = 84%), sugere uma influência genética no padrão de variabilidade entre as populações, estando de acordo com estudos realizados com descritores morfológicos (TELLES *et al.*, 2001b), isoenzimáticos (TELLES *et al.*, 2001a, TRINDADE & CHAVES, 2005), bem como de marcadores genéticos (ZUCCHI *et al.*, 2005) e RAPD (ZHU *et al.*, 2005) que verificaram uma variabilidade altamente genética para a *E. dysenterica* DC.

Visando ilustrar a participação do ambiente e do espaço na explicação da variabilidade química dos óleos essenciais entre as populações de cagaiteiras, realizou-se o diagrama de Venn (Figura 15).

Figura 15. Diagrama de Venn representando a variação da composição química dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC atribuída a dois conjuntos de variáveis predictoras: ambiental (nutrientes foliares e parâmetros físico-químicos do solo) e espacial (coordenadas geográficas dos locais de coleta). A sobreposição entre os círculos representa a variação entre os conjuntos de variáveis explicativas. As letras maiúsculas entre parênteses referem-se à fração de variação total explicada por cada conjunto de variáveis explicativas (Tabela 7).



O diagrama descreve o particionamento da variação dos constituintes químicos dos óleos essenciais (variáveis de resposta Y; retângulo), em termos dos dois conjuntos de variáveis explicativas: ambiental ([A]) e espacial ([C]), e a variância residual ([D]). Embora que as frações [A] e [C] possam ser testadas em sua significância estatística, o mesmo não é possível para a fração [B], que não pode ser testada individualmente. O modelo mostrou que a maior parte da variabilidade química dos óleos essenciais da *E. dysenterica* DC é residual (DUARTE *et al.*, 2012). A intersecção entre os conjuntos ambiental/espacial é considerada pequena, demonstrando que a influência na variabilidade dos constituintes químicos nos óleos essenciais é maior com os conjuntos de variáveis isolados do que a interação entre eles.

O padrão de variabilidade químico-espacial foi também avaliado utilizando o teste multivariado de Mantel para estabelecer a significância estatística das matrizes de distância Euclidiana provenientes das variáveis dos constituintes químicos dos óleos ou compostos químicos reorganizados de acordo com os esqueletos carbônicos e a distância geográfica entre os sítios de amostragem (TELLES *et al.*, 2001a; SOKAL & ODEN, 1978a, b). As matrizes de distância apresentaram uma correlação fraca ($R = 0,132$), porém altamente significativa ($p < 0,0001$), demonstrando que há relação entre a

variabilidade química dos óleos essenciais com a distância geográfica dos locais de origem das amostras.

Embora as RDAs parciais e o teste generalizado de Mantel tenham sido capazes de detectar e quantificar a influência espacial (BORCARD, & LEGENDRE & DRAPEAU, 1992; LEGENDRE & LEGENDRE, 2003; WAGNER & FORTIN, 1975), nada foi revelado sobre o tipo de relação que existe entre os constituintes químicos dos óleos essenciais e os conjuntos de dados espaciais. Assim, os autocorrelogramas multivariados de Mantel (Figura 16) foram obtidos para o conjunto dos constituintes químicos e daqueles rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos biossintéticos, com a utilização de análises geoestatísticas (ROSSI *et al.*, 1992).

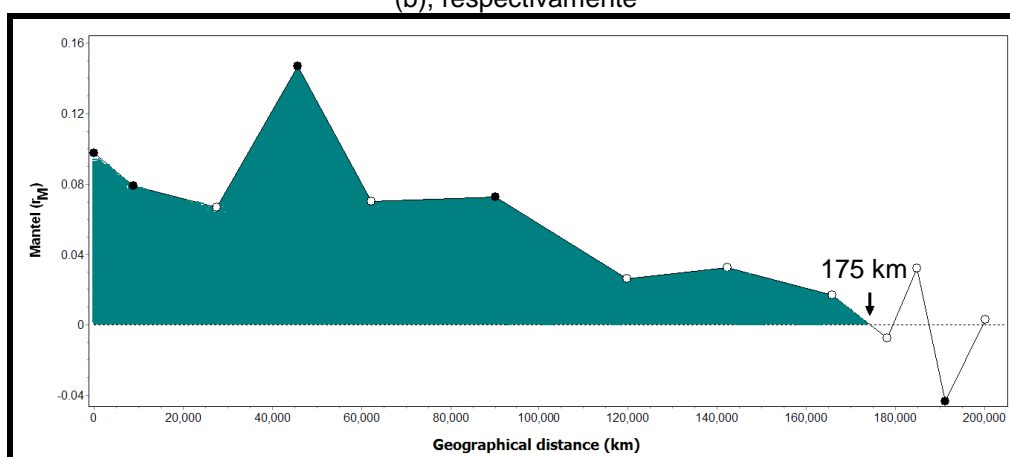
Os perfis dos autocorrelogramas de Mantel mostraram uma diminuição na similaridade química com o aumento da distância geográfica. Este padrão assemelha-se do modelo de isolamento-por-distância (SOKAL & KARLBERG, 2006), confirmando que a distribuição espacial dos conjuntos de dados dos óleos essenciais não é aleatória.

Ao contrário do padrão espacial encontrado nos óleos essenciais de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. (Myrtaceae) ter ocorrido em uma escala local, sugerindo a formação de ecótipos distintos, a diferenciação química entre amostras de *E. dysenterica* DC pode ser explicada pelo isolamento devido à distância geográfica, como resultado de baixo nível de fluxo gênico entre as populações (TRINDADE *et al.*, 2005; ZUCCHI *et al.*, 2003; ZUCCHI *et al.*, 2005 e TELLES *et al.*, 2003, DUARTE *et al.*, 2012).

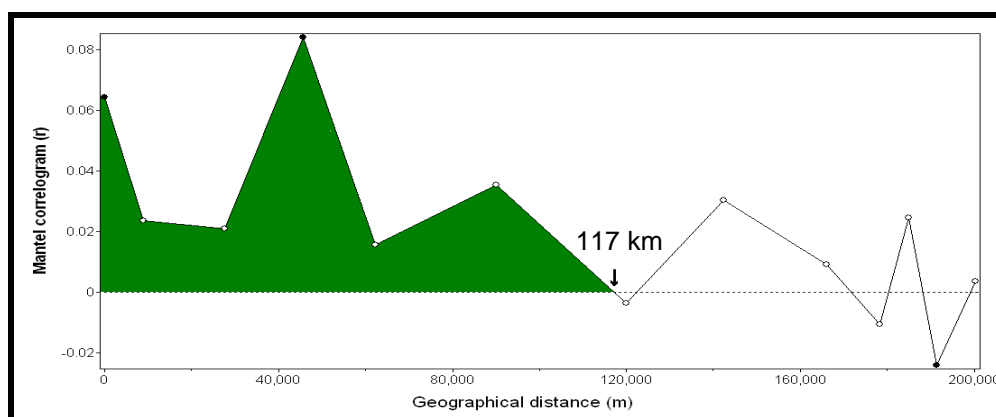
Os interceptos nos autocorrelogramas de Mantel (175 e 117 km, Figuras 17a e 17b, respectivamente) mostram que só as populações localizadas a essas distâncias mais curtas possuem semelhanças químicas em seus óleos essenciais, ou seja, abaixo deste valor (interceptos), as populações são consideradas um grupo do ponto de vista químico e, conseqüentemente, como uma unidade química operacional, semelhante às unidades genéticas (DINIZ-FILHO & TELLES, 2002). Assim, sugere-se que as populações a uma distância mínima de 120 km (esqueleto de carbono conjunto de dados) são diferentes no que diz respeito às quimiovariações, considerando os óleos

essenciais, o que parece refletir a variabilidade genética entre as populações amostradas.

Figura 16. Estrutura espacial das populações de *E. dysenterica* DC com base nos autocorrelogramas multivariados de Mantel (a) dos constituintes químicos dos óleos essenciais e (b) dos constituintes químicos dos óleo essenciais reorganizados de acordo com os esqueletos carbônicos. Os círculos em preto representam valores significativos ($p < 0,05$) para o teste de Mantel (999 permutações). As linhas tracejadas referem-se à ausência de autocorrelação espacial e as setas pequenas referem-se ao intercepto a 175 Km (a) e 117 Km (b), respectivamente



(a)



(b)

A divergência entre as populações, em termos da composição química dos óleos essenciais, estaria ocorrendo devido ao fator geográfico que impede o fluxo gênico entre os indivíduos. Desta forma, a variabilidade nos óleos essenciais está relacionada às variações genéticas sofridas pelos espécimes dessas populações e estão estruturadas no espaço à distância abaixo de 120 km.

Estudos com *Thymus pulegioides* L. e *Cunila galioides* Benth. (Lamiaceae) exibiram as mesmas características das populações originais quando coletadas no habitat natural e cultivadas em outro local, sugerindo uma predominância de fatores genéticos na variabilidade química dos óleos essenciais. No entanto, os padrões de variabilidade química espacial de produtos naturais são muito pouco descritos na literatura e relacionados à compostos fenólicos e alcalóides (COVELO & GALLARDO, 2004; WU *et al.*, 2010; SACRISTAN-SORIANO *et al.*, 2011). Quanto aos óleos essenciais os padrões de estrutura espacial são muito pouco conhecidos (KLEINE & MÜLLER, 2011).

Algumas diferenças foram observadas entre os grupos pelas análises de RDA/CDA e os resultados da estatística espacial. As populações 1-3 e de Luziânia (6) (grupo III), com distância superior a 180 km entre elas, sugere duas unidades químicas distintas, apesar de terem sido agrupados pela RDA/CDA. No entanto, as amostras das populações oriundas de Cristalina (5) e Campo Alegre de Goiás (4) se afastam das de Luziânia e das populações 1-3 por aproximadamente 130 km, respectivamente, justificando o agrupamento de suas populações (grupo II). Isso mostra que as populações localizadas a leste do Rio Corumbá são mais complexas para fins conservacionistas, um resultado que também está de acordo com marcadores genéticos (TELLES *et al.*, 2003; DUARTE *et al.*, 2009 e 2010).

Em estudos genéticos anteriores, o intercepto foi localizado a cerca de 120 km, sugerindo que pelo menos as populações para o leste e oeste da bacia do rio Corumbá, devem ser consideradas como unidades diferentes de conservação e, assim, pelo menos uma população de cada lado da bacia deveria ser conservada. A semelhança química entre os dois conjuntos de dados coincide com os resultados de outros estudos utilizando marcadores genéticos e isoenzimáticos, RAPD, polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP), SSR e ISSR, conforme sugerido por NAN *et al.* (2005), ADAMS *et al.* (2006), TRINDADE *et al.* (2009) e BEN EL HADJ ALI *et al.* (2012).

Contudo, a influência do ambiente e de fatores genéticos na variabilidade química dos óleos essenciais é amplamente conhecida (FRACARO & ECHEVERRIGARAY, 2001; LOZIENE & VENSKUTONIS, 2005, FRANZ & NOVAK, 2010), sendo descrita a ocorrência de quimiotipos (PAULA *et al.*, 2011; LYRA *et al.*, 2008), ecótipos (DUARTE *et al.*, 2010b; DUARTE *et al.*, 2012) e biótipos (COSTA *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2009) para espécies vegetais nativas do Cerrado, em especial do estado de Goiás.

Independentemente do processo operacional a quimiovariação do óleo essencial de *E. dysenterica* DC, pode ser usado como uma ferramenta adicional para estabelecer áreas de conservação *in situ* ou áreas de amostragem para a conservação *ex situ*, definindo a representatividade populacional e uma população mínima viável para a conservação (VENCOVSKY & CROSSA, 2003; MENGES, 2000a, b).

1.4. Conclusão

As análises dos óleos essenciais de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central brasileiro revelou um polimorfismo químico, correlacionados aos fatores ambientais, como nutrientes do solo e foliares, e a localização geográfica das populações. A fragmentação do Cerrado em sua história, bem como a separação das populações pelas bacias do rio Corumbá e do rio Meia-Ponte parecem ser os principais fatores que influenciaram na diferenciação química das populações, embora os fatores genéticos sejam as principais causas para a variabilidade dos óleos essenciais. Além disso, as populações localizadas a uma distância superior a 120 km apresentam maior variabilidade química em seus óleos essenciais e podem ser consideradas como áreas prioritárias de conservação do potencial químico de *E. dysenterica* DC.

Capítulo 2

Análises quimiométricas espaciais da variabilidade do óleo essencial da *Eugenia dysenterica* DC



Publicado como: VILELA, E. C.; DUARTE, A. R.; NAVES, R. V.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Spatial chemometric analyses of essential oil variability in *Eugenia dysenterica*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, no. 5, p. 873-879, 2013.

2.1. Objetivo

O objetivo deste capítulo foi a utilização de modelagem teórica para a interpolação (krigagem) ou mapeamento de probabilidade das quimiovariações dos óleos essenciais de oito populações de *E. dysenterica* DC, a fim de inferir sobre quais grupos populacionais são prioritários para ações de preservação, conservação e gestão dessa espécie nativa do Cerrado brasileiro.

2.2. Experimental

2.2.1. Dados dos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* DC

Os dados completos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC foram descritos no Capítulo 1. Resumidamente, foram extraídos os óleos essenciais de 121 espécies de cagaita provenientes de oito populações do cerrado do Estado de Goiás. O conjunto de dados dos óleos essenciais foi representado pelo dos constituintes químicos dos óleos essenciais (121 amostras x 49 variáveis) ou dos constituintes rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos biossintéticos (121 amostras x 13 variáveis), ambos estão apêndice S4 e S5).

2.2.2. Análises quimiométricas espaciais dos dados dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC

Para a realização das análises quimiométricas espaciais tanto dos constituintes químicos dos óleos essenciais, quanto dos constituintes químicos rearranjados de acordo com o esqueleto carbônico biossintético, foram utilizados os escores do primeiro eixo da análise de redundância canônica (RDA1). A RDA1 representa a variabilidade dos óleos essenciais nas amostras, uma vez que resume as informações químicas multidimensional dos indivíduos (amostras de *E. dysenterica* DC). A RDA1 corresponde à principal fração da

variância explicada pelas variáveis espaciais e ambientais (VILELA *et al.*, 2012). As análises espaciais foram realizadas também com os dados dos terpenos oxigenados (soma dos monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos oxigenados, em valores percentuais), monoterpenos oxigenados e sobre os hidrocarbonetos sesquiterpênicos, pois representam as principais classes biossintéticas presentes nos óleos essenciais das folhas de *E. dysenterica* DC.

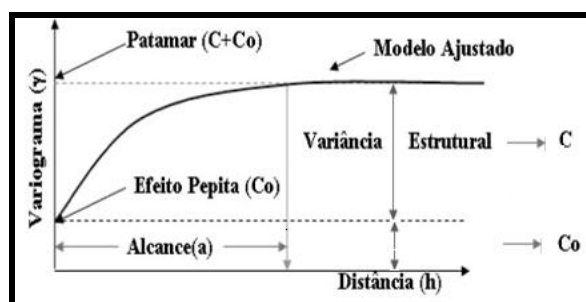
Para determinar a correlação entre a escala química espacial e a dependência entre as populações, a semi-variância $\gamma(h)$ foi estimada utilizando a equação 1 (BACHMAIER, & BACKES, 2008).

$$\gamma(h) = [1/2n(h)] \left[\sum_{i=1}^{n(h)} (Z_{x_i} - Z_{x_i+h})^2 \right] \quad \text{Equação 1}$$

Onde: $n(h)$ é o número de pares na classe (lag) a intervalos de distância h ; Z_{x_i} e Z_{x_i+h} são os valores dos parâmetros químicos nos locais x_i e x_i+h , respectivamente.

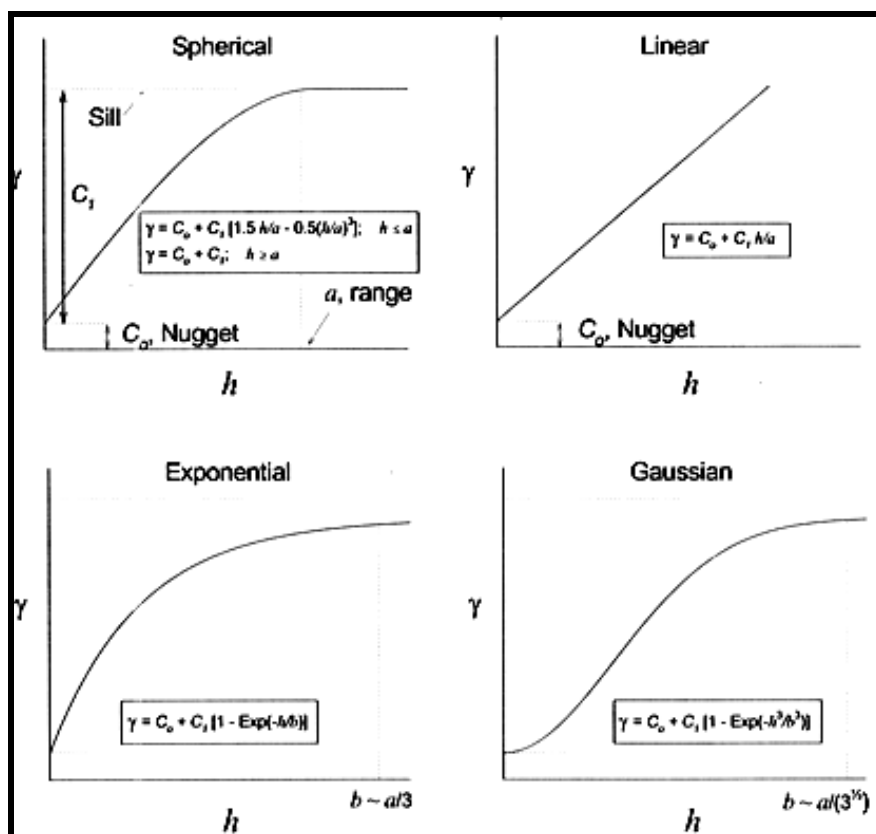
O número de classes ($n = 14$) foi determinado pela regra de Sturge (LEGENRE & LEGENDRE, 2003). Este método evita inflacionar arbitrariamente a variância espacial explicada em função do tamanho da classe (lag). O variograma (Figura 17) demonstra e quantifica a continuidade espacial das variáveis e ao mesmo tempo descreve o comportamento destas variáveis. Deste modo o variograma demonstra a relação de $\gamma(h)$ que pode mostrar tanto um comportamento puramente aleatório ou estruturado, sendo ambos descrito por modelos teóricos.

Figura 17. Modelo geral de variograma, mostrando o patamar, efeito pepita e o alcance. A variância espacialmente estruturada é representada pela fração C .



O modelo hipotético pode ser linear, esférico, Gaussiano ou exponencial (Figura 18). As funções matemáticas dos modelos devem permitir que a matriz de covariâncias, nele baseada, possa ser invertida, como ocorre na krigagem. Somente certos modelos podem ser usados. O variograma indica o quão bem os valores se ajustam ao modelo e possui ferramentas de diagnóstico para refiná-lo, em busca de valores de variância próximos a $h=0$.

Figura 18. Modelos matemáticos aplicados ao variograma.



Na maioria dos modelos a variância começa com valores acima de zero (intercepto em γ), o qual é denominado de efeito pepita (nugget), C_0 , e correspondendo à variância aleatória (inexplicável). Esta variação pode ser atribuída à variabilidade da resolução de amostragem ou a erros de medição. Caso exista correlação espacial nos constituintes químicos dos óleos essenciais, a variância aumenta nos intervalos de distância definidas, até o seu máximo, conhecido como patamar (C_0+C). Este corresponde ao valor da variância no qual o variograma se estabiliza. A variação entre o efeito pepita e o patamar (C) é a variância espacial explicada pelos dados químicos. A relação $[C/(C_0+C)]$ determina a existência de uma correlação espacial (variação estrutural, Q), ou seja, fornece uma medida da variância da amostra (C_0+C), que é explicada pela variância espacialmente estruturada (C). Portanto, valores elevados indicam a existência de um padrão espacial nos dados.

Alternativamente, o índice de Cambardella, $I_c = [C_0/(C_0+C)]$, foi também utilizado para comparar o grau de dependência espacial (CAMBARDELLA, KARLEN & PRECIS, 1999). Este índice calcula a proporção da variância não explicada, ou seja não estruturada no espaço, e também é uma boa indicação para determinar se o conjunto de dados estão organizados espacialmente. Para tanto, quando o valor de I_c for menor que 25 ($I_c < 25$) verifica-se uma forte dependência espacial e pequena variação não explicada ou aleatória no conjunto de dados; já os valores de I_c entre 25 e 75 ($25 < I_c < 75$) representam uma moderada dependência espacial. Contudo, os valores de I_c acima de 75 ($I_c > 75$) revelam que a distribuição espacial é totalmente aleatória, ou seja, randomizada.

A distância em que o modelo atinge o patamar, conhecida como range, mostra a extensão da dependência espacial para os dados. Além disso, a distância de correlação média ($MCD = 3/8 \times \text{patamar} \times Q$) foi calculado para cada variável a fim de se comparar em que distância ocorre uma alta dependência espacial entre os dados no variograma (BALUJA *et al.*, 2012).

Portanto, se os dados apresentarem somente efeito pepita, ou seja, os dados sofrem flutuações, podemos estimar uma independência espacial entre eles.

Os coeficientes de variação (CV) foram também calculados para todas as variáveis de resposta, bem como o efeito pepita, alcance, Q, Ic, coeficiente de correlação (r), sendo que os parâmetros MCD foram obtidos a partir do modelo do variograma que melhor ajustou aos dados. Todos os dados químicos das amostras foram investigadas para a anisotropia, sendo esta a propriedade espacial para a qual a dependência espacial (autocorrelação) muda também devido à direção entre as amostras.

Quando percebeu-se uma dependência espacial entre a distribuição química foi possível realizar uma modelagem de dados conhecida por Krigagem. Esta é uma técnica de interpolação linear que proporciona a melhor estimativa linear imparcial, o que minimiza o erro de predição da variância das variáveis espaciais. A krigagem rastreia as mudanças na dependência espacial ao longo da área de estudo, gerando uma superfície suavemente interpolada, e permite ao usuário uma grande flexibilidade na definição do modelo a ser usado na interpolação.

Embora os mapas resultantes forneçam uma boa visualização do padrão espacial, foram utilizados mapas de probabilidade que excederam o valor da média das variáveis de resposta, a fim de evitar a suavização excessiva nos mapas de krigagem (COVELO & GALLARDO, 2004; 2009). As probabilidades foram calculadas através da realização de 1000 simulações condicionadas sobre a distribuição dos valores médios previstos a partir das variáveis de respostas.

Para avaliar a influência do meio ambiente sobre a variabilidade do óleo essencial de *E. dysenterica* DC, as variáveis ambientais, representadas tanto pelos nutrientes foliares (P, K⁺, Mg²⁺ e Cu²⁺) quanto os monômios significativos (Y², X²Y) do polinômio de superfície, foram representadas pelo primeiro eixo da RDA parcial (VILELA *et al.*, 2012) e submetida ao mapeamento de probabilidade. Assim, os mapas de influências puramente ambientais foram obtidos e compartilhados com os descritores espaciais. O ajuste do variograma foi realizado pela técnica de validação cruzada. Todos os

cálculos foram realizados com o GS+ (Geostatistics for the Environmental Sciences) e alguns dos variogramas foram obtidos pela biblioteca Gstat (PEBESMA, 2004) para o programa R, versão 2.15.0 (R Development Core Team, 2008).

2.3. Resultados e Discussão

Para identificar a existência das estruturas espaciais e descrever a variabilidade espacial das variáveis de resposta os variogramas foram obtidos a partir dos primeiros eixos das RDAs dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC, para as populações estudadas, e desses constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos biossintéticos. Ainda foram utilizados os valores percentuais dos terpenos oxigenados (mono e sesquiterpenos), monoterpenos oxigenados e hidrocarbonetos sesquiterpênicos, as principais classes biossintéticas no óleo.

No estudo dos variogramas o efeito pepita pode fornecer informações importantes em relação aos erros de medição e/ou à quimiovariações dos óleos essenciais não detectadas e próximas aos sítios de amostragem ou abaixo da distância mínima h . Além disso, os variogramas fornecem informações sobre a dependência espacial de cada variável de resposta (efeito pepita/patamar) e o alcance efetivo da autocorrelação espacial. Esses resultados podem contribuir para a formação de unidades químicas operacionais semelhantes às unidade genéticas para fins de conservação e manejo das populações (DINIZ-FILHO & TELLES, 2002).

No presente estudo, observou-se que o modelo Gaussiânico ajustou com grande sucesso frente a maioria das variáveis de resposta dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC (Tabela 8).

Tabela 8. Parâmetros para os modelos de variogramas de resposta dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC.

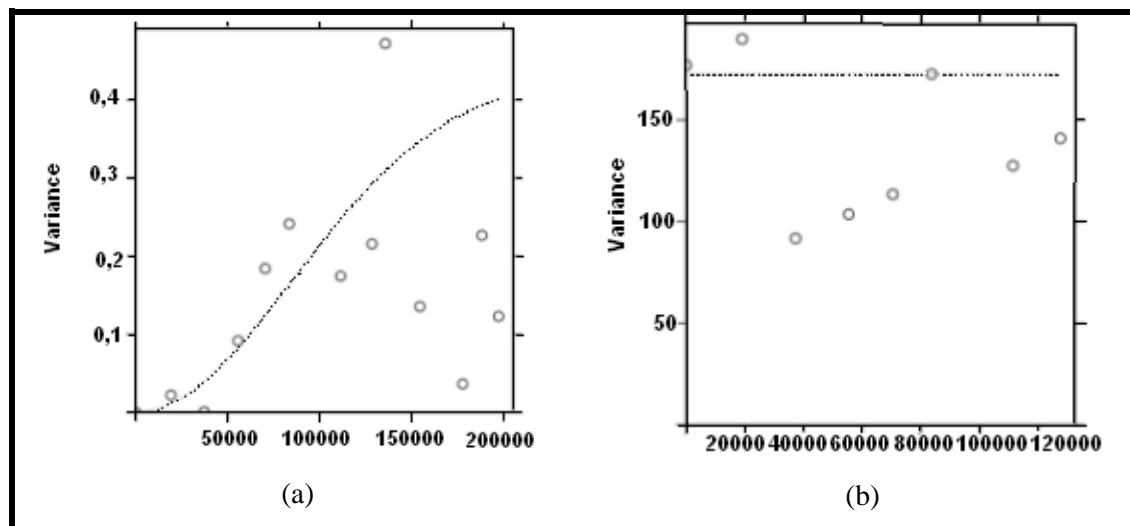
Variável resposta	CV (% ^a)	Modelo	Efeito pepita	Patamar	Alcance (m)	I_c (% ^b)	Q (% ^c)	r	MCD (m ^d)
Const. dos óleos ^e	27,1	Gaussiano	0,0001	0,226	120204,3	0,04	99,96	0,781	45056,7
Const. esqueleto carbônico	28,9	Gaussiano	0,0001	0,199	153113,3	0,05	99,95	0,803	57388,7
Terpenos oxigenados	24,9	Gaussiano	0,0030	0,034	138044,5	8,9	91,1	0,844	47146,9
Monoterpenos oxigenados	62,8	Gaussiano	0,1852	0,371	77595,9	49,9	50,1	0,901	14588,4
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	19,2	linear	135,4	135,4	111301,3	100,0	0,0	0,322	0,0

^aCoefficiente de variação; ^bÍndice de Cambardella ($C_0/[C_0+C]$); ^cVariância estrutural ($C/[C_0+C]$); ^dMédia da correlação da distância ($3/8 \times \text{alcance} \times Q$); ^eEscores do primeiro eixo da RDA.

De acordo com o Índice de Cambardella (CAMBARDELLA, KARLEN & PRECIS, 1999), a dependência espacial dos constituintes químicos dos óleos essenciais (via RDA) foi o mais elevado entre todas as variáveis de resposta. Pode-se observar que a relação efeito pepita/patamar foi de 0,04% para os constituintes químicos e 0,05% para os dados utilizando os esqueletos carbônicos biossintéticos. Portanto, pelo menos 99,9% da variância total nos conjuntos de dados dos óleos essenciais podem ser explicadas pela variância espacialmente estruturada. Por outro lado, o efeito pepita foi maior para os monoterpenos oxigenados (49,9%) em relação aos terpenos (totais) oxigenados (8,9%), indicando uma moderada dependência espacial dessa classe biossintética. Nota-se uma tendência semelhante para o coeficiente de variação.

De fato, a variabilidade dos monoterpenos oxigenados (CV = 62,8%) foi 2,5 vezes maior do que a variabilidade provocada por alterações nos terpenos oxigenados (CV = 24,9%). Em contraste, o modelo do variograma dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (CV = 19,2%) mostrou apenas efeito pepita, sugerindo assim uma distribuição espacial aleatória, ou seja, a ausência de dependência espacial nessa classe biossintética (Figuras 19a e 19b).

Figura 19. Variogramas para os óleos essenciais de oito populações de *E. dysenterica* DC, representadas pelo (a) conjunto de dados dos constituintes químicos dos óleos essenciais e (b) do teor de hidrocarbonetos sesquiterpeno, ambas ao longo da distância geográfica dos locais de amostragem. Os modelos ajustados mostram uma variação espacialmente estruturada (a) e só efeito pepita, sem estrutura espacial nos dados (b).



O alcance efetivo nos variogramas (distância em que é atingido o patamar) apresenta um aumento progressivo para as classes biossintéticas oxigenadas (monoterpenos oxigenados e terpenos oxigenados). O parâmetro MCD (alcance médio da distância) com os valores elevados demonstra a existência de uma dependência espacial entre as populações estudadas. Segundo a Tabela 8, os valores de MCD expõem-se para todos os constituintes oxigenados em estudo, sendo 15 km para os monoterpenos oxigenados e 47 km para os terpenos oxigenados, tornando assim possível descrever o aumento progressivo da dimensão das áreas geográficas que apresentam conteúdos semelhantes de terpenos oxigenados.

Contudo o MDC dos monoterpenos oxigenados de 14588,4 m consiste em apenas duas vezes o intervalo da distância de classe (lag) com valor de 7823,8m, além de um elevado efeito pepita ($C_0 = 0,1852$) e moderada dependência espacial ($I_c = 49,9\%$). Em outras palavras, a variabilidade do conteúdo de monoterpenos oxigenados no óleo essencial ocorreu em distâncias mais curtas do que as que envolvem as outras variáveis de resposta, em relação a dois pontos de amostragem adjacentes.

Estes resultados demonstram a mudança no padrão espacial de distribuição no conteúdo de terpeno contidos no óleo essencial ao longo de diferentes classes biossintéticas. A alta proporção do efeito pepita pode também refletir um forte grau de variação intra e interespécimes próximas ao local de coleta das amostras. Além disso, esse efeito deve estar relacionado, pelo menos parcialmente, à coleta de amostras de folhas, que ocorreu em junho, durante a estação seca. Durante este período ocorre o pico de atividade de folheamento, senescência e emissão de novas folhas (SANO & ALMEIDA *et al.*, 1998), requerendo assim, grandes quantidades de carbono e macronutrientes para a biossíntese de proteínas e ácidos nucléicos, que é significativamente aumentada em folhas jovens com uma elevada capacidade de sintetizar e armazenar os óleos essenciais. Durante o crescimento das folhas, há um aumento na produção de óleos essenciais que são usados na defesa constitutiva da planta, com o intuito de impetir o ataque de herbívoros, ou mesmo, como resposta ao dano induzido por herbívoros, atraindo predadores ou parasitas (DICKE & HIKER, 2003; JURGENS *et al.*, 2006).

Além disso, com a troca na biossíntese de terpenos (de monoterpênos para sesquiterpênos), as diferenças no conteúdo de sesquiterpênos oxigenados diminuem, entre as amostras, da mesma maneira em que o alcance efetivo e o valor de MCD aumentam para essa classe biossintética. Pressumivelmente, este efeito revela que um patamar é então atingido, o que resulta em uma homogeneidade intra e interpopulacional.

O alcance efetivo, observado no conjunto de dados dos constituintes dos óleos essenciais, foi em 120,2 km e ocorreu em uma distância geográfica semelhante a 117 km, determinado anteriormente pelo autocorrelograma multivariado de Mantel (VILELA *et al.*, 2012).

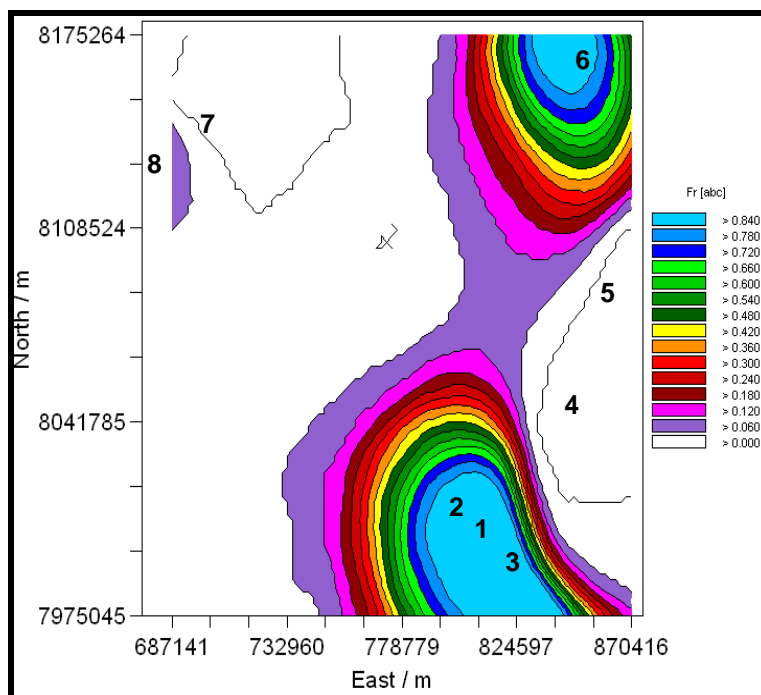
O padrão espacial para os óleos essenciais de *E. dysenterica* DC está de acordo com o modelo de evolução por isolamento por distância observado como os descritores morfológicos e isoenzimáticos (TELLES *et al.*, 2001a, b; TRINDADE & CHAVES, 2005), bem como para a sequência de repetição simples (SSR) e amplificação aleatória de polimorfismo de DNA (RAPD), além de outros marcadores genéticos (ZUCCHI *et al.*, 2005; ZUCCHI *et al.*, 2003) e

moleculares (NAN *et al.*, 2003; ADAMS *et al.*, 2006; TRINDADE *et al.*, 2009; BEN EL HADJ ALI & GUETAT, 2012). Todos esses descritores mostraram um perfil genético semelhante para as populações localizadas a cerca de 120 Km, coincidentes com àquela observada para os constituintes dos óleos essenciais de *E. dysenterica DC.*

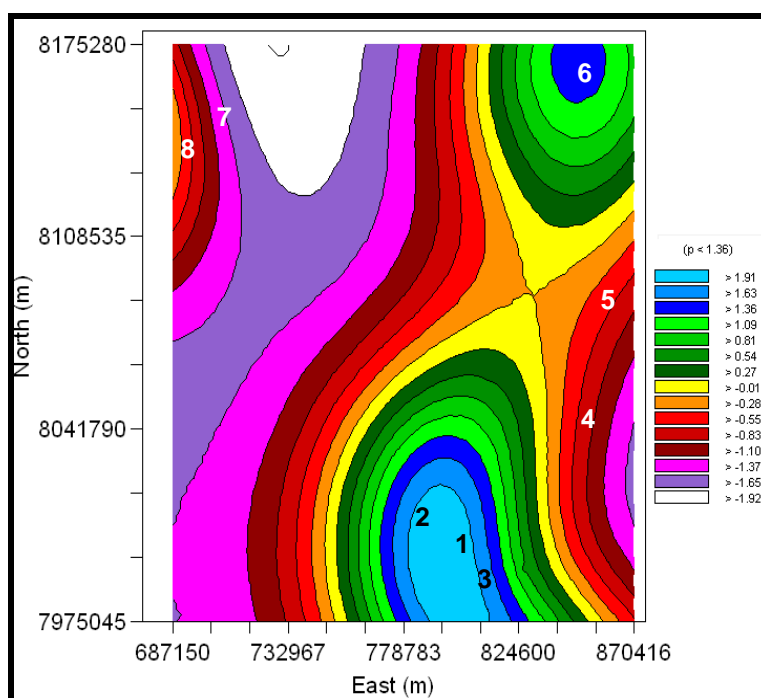
No entanto, embora esses resultados sejam concordantes, todos eles são incapazes de estimar a proporção correta dos dados originais explicados pelas estruturas espaciais (LEGENDRE & FORTIN, 2010).

Portanto foram obtidos mapas de probabilidade baseados nos modelos ajustados dos variogramas para as variáveis de resposta (Tabela 8), tendo como referência o valor médio da variável (Figuras 20 e 21).

Figura 20. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) dos constituintes químicos dos óleos essenciais e (b) dos constituintes químicos rearranjados de acordo com o esqueleto carbônicos biossintéticos, ambos em relação ao valor médio.

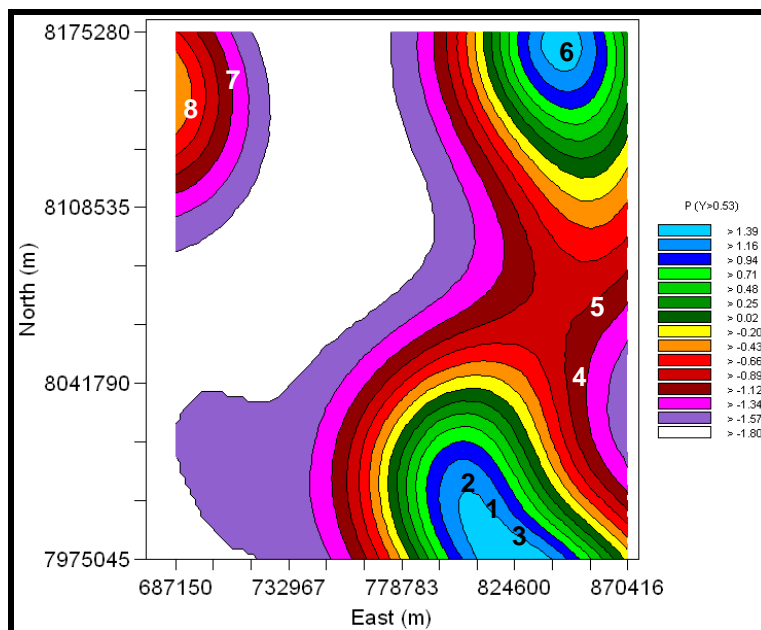


(a)

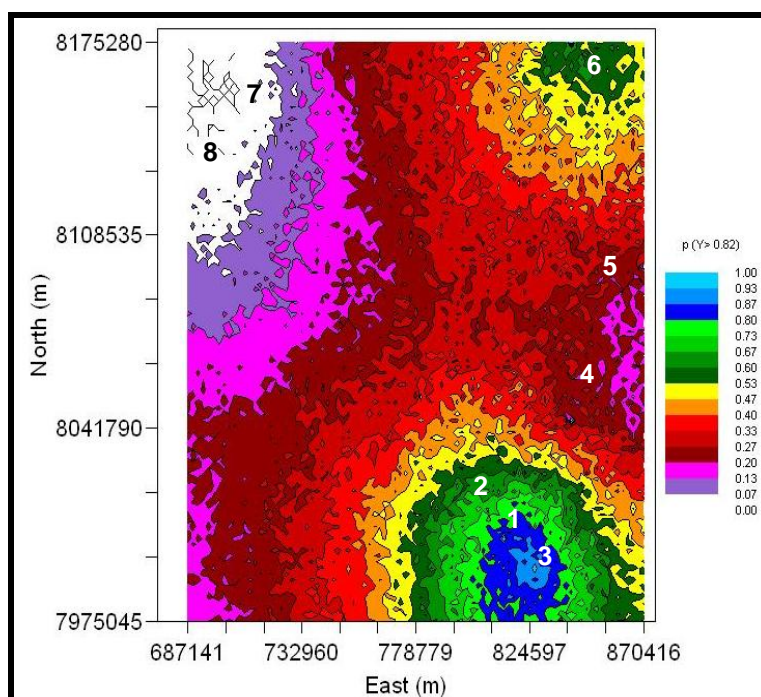


(b)

Figura 21. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) da soma dos terpenos oxigenados e (b) dos monoterpenos oxigenados dos óleos essenciais, ambos em relação ao valor médio.



(a)



(b)

Os mapas apresentaram variações e semelhanças entre os padrões espaciais das populações. Em ambos há duas áreas estão bem definidas: uma área de grande variabilidade no óleo essencial em populações localizadas ao longo da Bacia do Rio Corumbá, no sentido norte-sul; e outra área (leste-oeste), com baixa variabilidade química do óleo essencial. Esta variabilidade química pode ser explicada como resultado da endogamia associada a uma baixa taxa de migração de genes entre as populações (ZUCCHI *et al.*, 2003; ZUCCHI *et al.*, 2005; TELLES *et al.*, 2003; CHAVES *et al.*, 2011).

A bacia do Rio Corumbá separa as duas populações do Noroeste, Goiânia (8) e Senador Canedo (7), por meio de uma depressão formada pelo rio e seus afluentes. Esta barreira poderia contribuir, pelo menos parcialmente ao isolamento ecológico, um pré-requisito para a especiação e variação química entre as populações desses locais.

Como as progênies foram avaliadas em delineamento experimental com aleatorização ambiental é de natureza preponderantemente genética. Mesmo assim, poderão ocorrer influências não genéticas devido a efeito materno, via influência do vigor da semente, nessas variáveis.

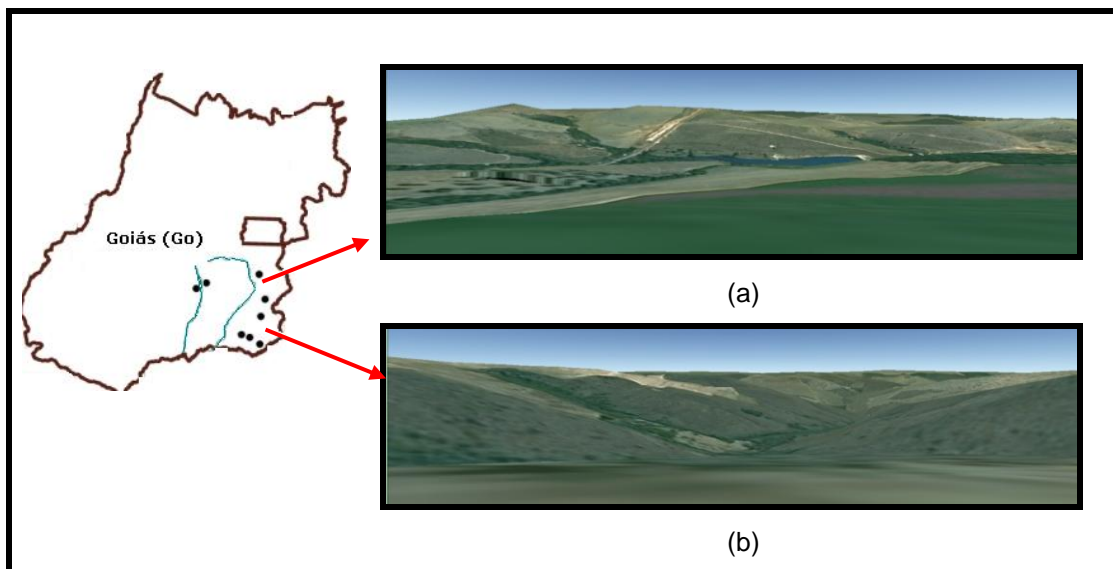
Em grandes populações com distribuição contínuas, não havendo restrição ao fluxo gênico, espera-se que a frequência média dos alelos em diferentes populações sejam a mesma. Assim, não haveria diferenças genotípicas entre as populações. No entanto, a existência de diferenças significativas entre as populações indica alguma restrição ao fluxo gênico entre elas, resultando em populações estruturadas espacialmente.

Outro fator confirmado é que plantas cultivadas adjacentes, no mesmo ambiente, exibem a composição típica de suas populações silvestres (DUARTE *et al.*, 2009; DARTE *et al.*, 2010). Além disso, amostras de Senador Canedo e Goiânia tendem a revelar um certo nível de segregação para essas variáveis de resposta. Estas variações não foram previamente observadas pelas técnicas de RDA e nem com os marcadores moleculares (genéticos), embora que essa tendência de separação local pode ser atribuídas à Bacia do Rio Meia Ponte que separa estes locais de amostragem. De acordo com Loveless & Hamrick

(1984), as populações de plantas são organizadas em grupos de genótipos no espaço e no tempo e não casualmente. Essa estrutura pode se manifestar entre populações distintas geograficamente, dentro de um grupo, ou mesmo em progênies de indivíduos, resultante de um conjunto de ações, como migração, seleção e deriva genética, as quais devem agir separadamente dentro do contexto histórico e biológico de cada espécie.

Por outro lado, as amostras oriundas de Campo Alegre de Goiás (4) e Cristalina (5) apresentam uma baixa variabilidade química nos óleos essenciais e correspondem a uma transição entre as áreas de padrão mais elevado de variabilidade. Essas populações localizam-se entre duas barreiras geográficas, as Serra dos Cristais e Serra do Contraforte Central (Figura 22) e são fatores importantes para o isolamento e especiação dessas populações.

Figura 22. Mapa do Estado de Goiás mostrando as bacias do Rio Corumbá e do Rio Meia Ponte que separam as populações 1-6 e 7 de 8 de *E. dysenterica* DC, respectivamente. (a) Serra dos Cristais e (b) Serra do Contraforte Central que isolam as populações 4 e 5. Populações: 1 = Catalão-1, 2 = Catalão-2, 3 = Três Ranchos, 4 = Campo Alegre e Goiás, 5 = Cristalina, 6 = Luziânia, 7 = Senador Canedo, 8 = Goiânia. Fonte: Google Earth.



As barreiras físicas são marcantes principalmente entre as populações 7 e 8 com as demais. As populações 1-6 encontram-se entre os rios São Marcos e Corumbá, formando um corredor, o qual pode ter possibilitado a

continuidade dos espécimes no passado. No entanto, o crescente desmatamento realizado outrora e a heterogeneidade ambiental, associado à outras variáveis ecológicas podem ter promovido o isolamento destas populações.

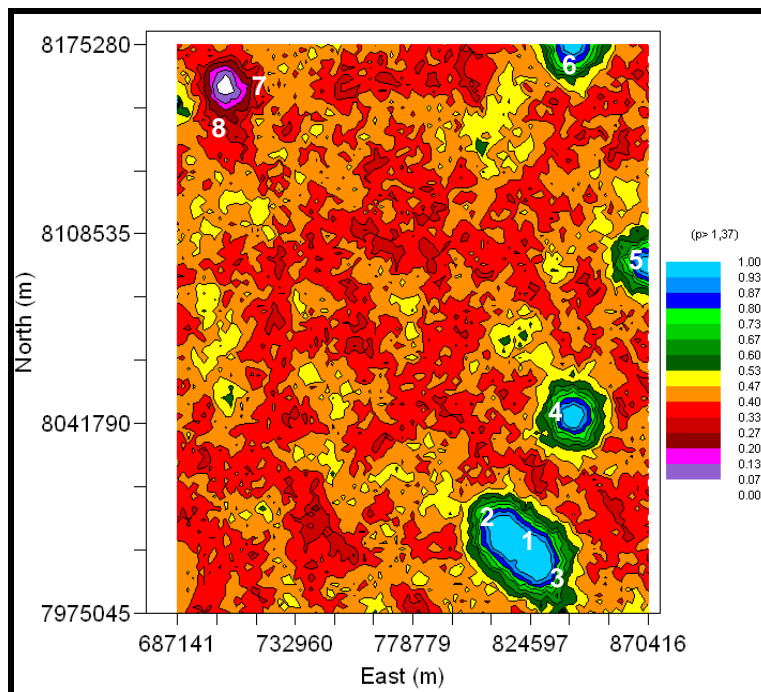
Para Mettler & Gregg (1973) as populações de uma espécie separadas por barreiras geográficas (isolados geográficos) são mais independentes, o fluxo gênico é restrito e a seleção pode levar à adaptação local. Populações pequenas e localizadas de espécies endêmicas são mais susceptíveis à deriva e fluxo gênico limitado, aumentando a diferença genética interpopulacional. Os fatores históricos e ambientais heterogêneos também são associados a distribuição das espécies. Segundo Martins (1988), o processo de quebra da distribuição contínua de espécie em “ilhas”, ocorreu no passado em extensas áreas devido, principalmente, às atividades extrativistas, pastoris e agrícolas e vem ocorrendo aceleradamente no presente, influenciando na estrutura demográfica e na manutenção da variabilidade e sobrevivência da espécie.

Outra fonte de variação dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC é devido à influência ambiental, determinada pelos nutrientes foliares (P^+ , K^+ , Mg^{2+} e Cu^{2+}) e parâmetros do solo, que representam cerca de 8% da quimiovariação (VILELA *et al.*, 2012).

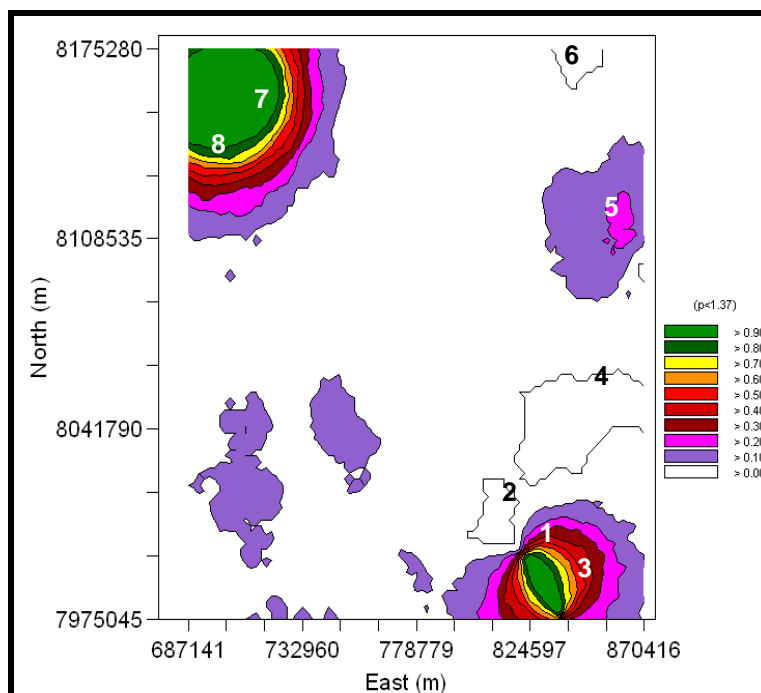
Os perfis dos mapas de probabilidade, obtidos pela influência ambiental pura e compartilhada com preditores espaciais, coincidem com as regiões de grande variação do óleo essencial e são uma indicação relativa a divergência de terpenos (Figura 23).

Os micronutrientes são necessário para a síntese dos sequiterpenos, os quais dependem de íons metálicos bivalentes como cofatores, em especial o Mg^{2+} , o que também pode ter influenciado a quantidade de subprodutos obtidos a partir destas reações. Por exemplo, o óleo essencial de *M. cauliflora* apresentou uma forte correlação com íons metálicos divalentes, especialmente Mg^{2+} , os quais atuam como cofatores enzimáticos das sequiterpenosintases (DUARTE *et al.*, 2010b; DUARTE *et al.*, 2012; PICAUD *et al.*, 2005).

Figura 23. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) do componente ambiental puro (nutrientes foliares: P, K⁺, Mg²⁺, Cu²⁺) e (b) compartilhado pelos preditores espaciais da variabilidade dos óleos essenciais, ambos em relação ao valor médio.



(a)



(b)

Não obstante, a acumulação de terpenos também está relacionada ao alto conteúdo de P^+ e K^+ no solo ou quando, em meios de cultura, são suplementados com o aumento da concentração de fósforo (KOSINSKI, 1996; ORMEÑO *et al.*, 2007). O fósforo, por sua vez, é um elemento essencial para o crescimento da planta, estando presente em compostos fosfatados que encerram energia (ATP e ADP), ácidos nucleicos, várias coenzimas e fosfolípidos, além de participar de etapas na rota biossintética dos terpenos (RAVEN *et al.*, 2001). De acordo com David *et al.* (2006), altos níveis de fósforo alteraram o conteúdo e rendimento do óleo essencial de *Mentha piperita* L. (Lamiaceae).

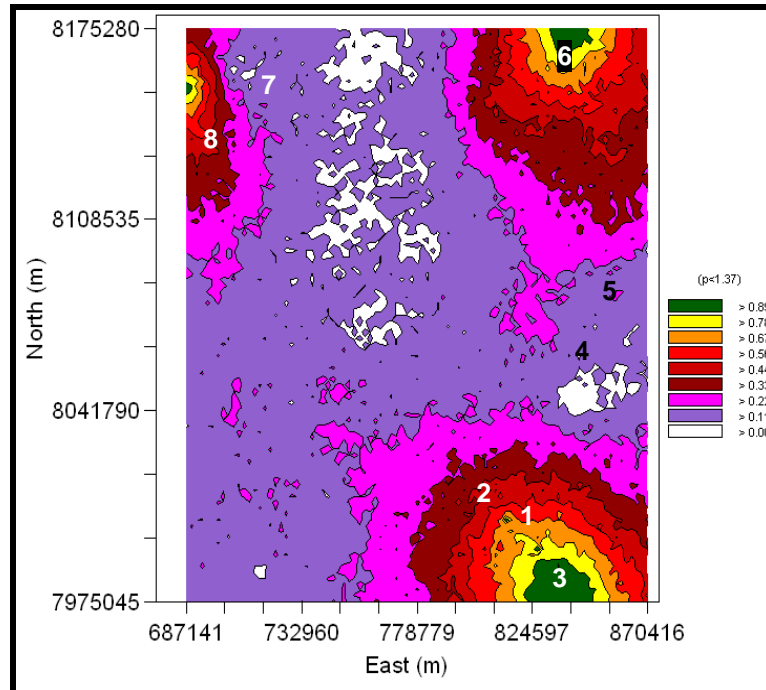
Entre as hipóteses sobre a utilização de nutrientes pela planta, a de Coley, Bryant & Chapin (1985) define que o tipo e a quantidade de defesas das plantas são determinadas pela disponibilidade de recursos no habitat em que estão. Já Bryant, Chapin & Kein (1983) sugerem que a biossíntese de metabólitos especiais são baseados em carbono (CSBC: taninos, flavonóides, ligninas e terpenos) e é determinada por um balanço entre taxa de fotossíntese e taxa de crescimento da planta. Sendo assim, solos pobres, ou com deficiência de nutrientes, apresentam uma diminuição na fotossíntese e apresentam um pequeno desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, um acúmulo de carboidratos. Diante de tal fato ocorre o inverso em solos fertilizados. Há ainda a hipótese de Herms & Mattson (1992), que se baseia no balanço entre o crescimento e diferenciação, no qual uma maior fonte de recursos (nutrientes, luz e água) resulta em desenvolvimento no crescimento da planta e uma baixa produção de metabólitos especiais. No entanto, sob condições de baixa disponibilidade de recursos, a taxa de biossíntese desses metabólitos é aumentada em resposta ao estresse abiótico.

Em solos adubados, algumas espécies apresentam altos teores de óleos essenciais, como nas Lamiaceae, *Hyptis marruboides* Epling (SALES *et al.*, 2009) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), descrito por Anwar *et al.* (2005). Porém, outras Lamiaceae são indiferentes à adubação, como *Thymus vulgaris*

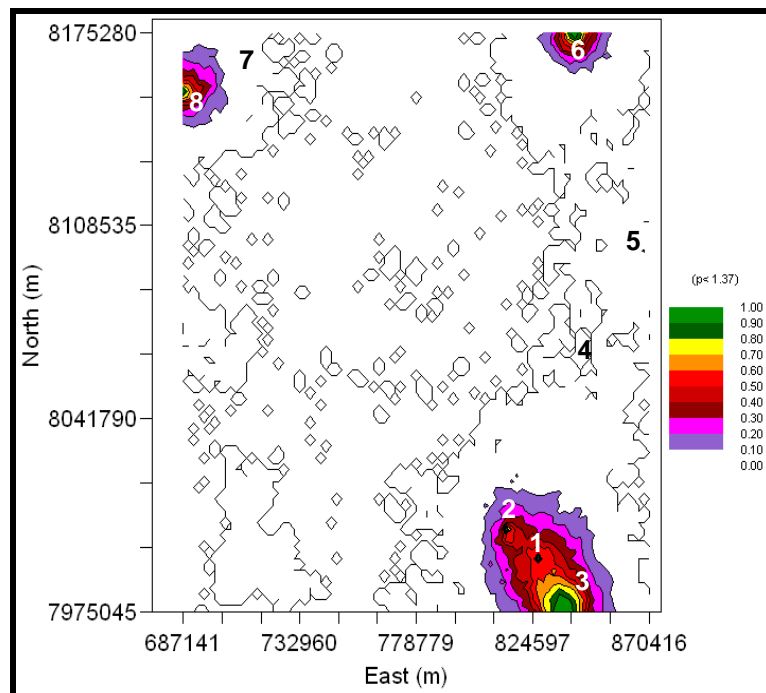
L. (EDRIS *et al.*, 2009). Ainda, *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) apresentou uma leve redução do teor de óleo essencial em solos adubados (SAXENA & SINGH, 1998). Essa divergência reflete a diversidade de fatores que influenciam o metabolismo vegetal, resultado da interação de fatores genéticos, bióticos e abióticos, podendo ainda um fator prevalecer sobre o outro.

Populações de *E. dysenterica* DC da bacia do Rio Meia Ponte (7 e 8), ou próximas às serras (4 e 5), foram discriminadas pela influência espacial e por compartilharem uma influência ambiental no local de amostragem (Figura 24).

Figura 24. Mapas de probabilidade da distribuição dos óleos essenciais nas folhas de oito populações de *E. dysenterica* DC do Cerrado central do Brasil, gerados a partir: (a) da influência espacial pura e (b) compartilhada pelos preditores ambientais, ambos em relação ao valor médio.



(a)

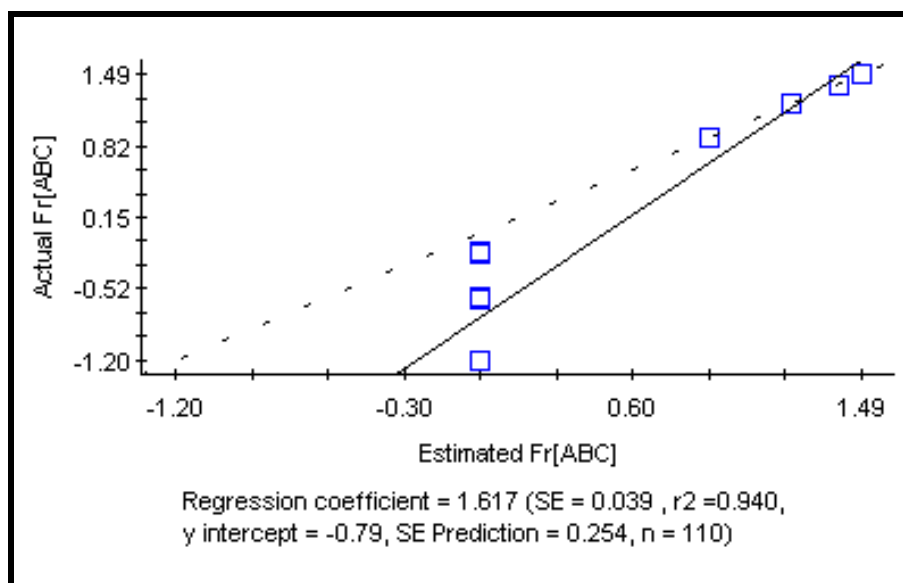


(b)

As simulações apresentam com riqueza de detalhes a variabilidade espacial, reproduzindo muita das características originais dos dados. Essas simulações podem ser realizadas muitas vezes, produzindo superfícies com pequenas diferenças (probabilidade) entre si. Cada uma das superfícies simuladas reproduz as características conhecidas e modeladas dos dados e representando uma possível imagem de como a variável de resposta se comportará espacialmente.

A validação dos modelos dos variogramas foram realizados pela técnica de validação cruzada, utilizando o programa GS+. A Figura 25 mostra a validação do modelo matemático para a variabilidade dos constituintes químicos dos óleos essenciais (normalizados e após transformação angular), o qual correspondente à fração total, [A+B+C], do particionamento da variação.

Figura 25. Validação cruzada para o modelo do variograma da fração [A+B+C], correspondente ao dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica* DC.



Neste caso, a reta ajustada encontra-se próxima à reta da bisetris (45°), com o coeficiente de regressão (coeficiente angular) de 1,6717, um erro padrão de 0,039 e intercepto (coeficiente linear) em -0.79. O coeficiente de determinação (r^2) foi de 0,940, indicando que somente 6% da variação não são

explicadas pelas variáveis explicativas. O coeficiente de determinação é influenciado pelo número de pares, podendo considerá-lo como satisfatório. A Tabela 9 apresenta um sumário da valiação cruzada para todos os modelos previamente investigados aplicados aos constituintes dos óleos essenciais de *E. dysenterica DC.*

Tabela 9. Sumário da validação para os modelos dos variogramas dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *E. dysenterica DC.*

Variável modelada	r^2	SE	SEP	n	Coef.reg.	Intercepto (y)
Constituintes dos óleos	0,940	0,039	0,254	110	1,617	-0,790
Esqueletos carbônicos	0,817	0,073	0,439	108	1,576	-0,700
Terpenos oxigenados	0,638	0,068	0,107	109	0,940	0,031
Monoterpenos oxigenados	0,028	0,317	2,073	118	0,585	0,990

As estimações produzidas geram uma representação suavizada da distribuição real da variável. Em termos estatísticos, isto significa que a variância das estimativas é menor do que a variância dos valores reais. Em termos práticos, o valor previsto está condicionado em viés, subestimando os valores muito elevados e sobestimando os valores muito baixos.

Contudo, quando se deseja uma melhor estimativa do valor de uma propriedade utiliza-se a Krigagem. Este método determina propriedades médias, quando se deseja prever informações da variabilidade de determinadas amostras, realizamos simulações, as quais reproduzem a maior quantidade das propriedades do conjunto original dos dados.

Ao contrário da avaliação frequente da distribuição geográfica da diversidade genética (STICH *et al.*, 2010), a descrição da estrutura espacial da variabilidade de constituintes químicos tem sido pouco estudada até o momento e, restritos a alcalóides, taninos e fenóis totais (VILELA *et al.*, 2012; TOMMASI *et al.*, 2007; TOMMASI *et al.*, 2008; ZAOUALI & BOUSSAID, 2008; BEN EL HADJ ALI *et al.*, 2010).

Os resultados desse trabalho convergiram em abordagens de autocorrelação espacial, como o teste de Mantel e outras formas derivadas,

não sendo possível, no entanto, estimar corretamente a proporção de variação de dados originais explicada pelas estruturas espacial e ambiental (LEGENDRE & FORTIN, 2010). Por outro lado, a análise de tendência espacial por meio de superfície de resposta tem enfrentado dificuldades na interpretação dos termos dos polinômios (JOMBART , DRAY & DUFOUR, 2009), assim como tem sido incapaz de modelar corretamente os padrões em escala geográfica fina, de poucos metros (BOCARD & LEGENDRE, 2002).

Do mesmo modo, os métodos quimiométricos espaciais que utilizam variogramas na interpretação da quimiovariação dos óleos essenciais podem ser usados como ferramentas adicionais para estabelecer, as áreas de conservação *in situ* ou *ex situ* de *E. dysenterica* DC. Além disso, o particionamento da variação dos óleos essenciais e os modelos obtidos por meio de variogramas contribuem para esclarecer o papel ecológico dos óleos essenciais em espécies da família Myrtaceae, até o momento não investigados (STEFANELLO *et al.*, 2011).

2.4. Conclusão

Os métodos quimiométricos espaciais detectaram e caracterizaram a estrutura espacial das oito populações de *E. dysenterica* DC estudadas baseando-se em modelos ajustados de variogramas e mapas de probabilidade. Os mapas de probabilidade foram essenciais para estimar pontos não amostrados, ou seja, tornou possível prever valores em áreas onde as observações não estão disponíveis. Todavia tanto o autocorrelograma multivariado de Mantel e a análise de tendência de superfície de resposta demonstraram que as populações de *E. dysenterica* DC diferem quimicamente sempre que há entre as populações uma distância geográfica superior a 120 Km. Apesar de ser pouco utilizadas, essas metodologias podem conduzir a uma integração efetiva sob as perspectivas ecológicas, genéticas e químicas na área de Química de Produtos Naturais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P.; SOCORRO, M.; ELIZONDO, G.; ELIZONDO, M. G.; SLINKMAN, E.; Biochem. Syst. Ecol. 2006, 34, 2005.
- ADAMS, R.P., Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4th ed. Carol stream: Allured, 2007.
- ALMEIDA, S. P.; SILVA, J.; RIBEIRO, J. F.; Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos Cerrados: araticum, barú, cagaita e jatobá; EMBRAPA-CPAC: Planaltina, 1987.
- ALMEIDA, S. P. *Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes*. In Cerrado: ambiente e flora. EMBRAPA-CPAC: Planaltina, 1998.
- AMIOT, J.; SALMON, Y.; COLLIN, C.; THOMPSON, J. D.; Ecol. Lett., 8, 370, 2005.
- ANWAR, M.; PATRA, D. D.; CHAND, S. AIPESH, K.; NAQVI, A. A.; KHANUJA, S. P. S. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of french Basil. Comm. Soil Science Plant Analysis 36, p. 1737 – 1746, 2005.
- BACHMAIER, M.; BACKES, M.; PRECIS. Agric., 9, 173, 2008.
- BALUJA, J.; DIAGO, M. P.; GOOVAERTS, P.; TARDAGUILA, J.; AUST. J. Grape Wine Res., 18, 173, 2012.
- BEN EL HADJ ALI, I.; ZAOUALI, Y.; BEJAOU, A.; BOUSSAID, M.; Chem. Biodivers., 7, 1276, 2010.
- BEN EL HADJ ALI, I.; GUETAT, A.; BOUSSAID, M.; Ind. Crops Prod., 40, 277, 2012.
- BORCARD, D.; LEGENDRE, P.; DRAPEAU, P.; Partialling out the spatial component of ecological variation. Ecology. 73, p. 1045-1055, 1992.
- BORCARD, D.; LEGENDRE, P.; Ecol. Modell., 153, 51 2002.
- BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S.; KLEIN, D. R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation in vertebrate herbivory. Oikos, 40, p. 357 – 368, 1983.
- CABO, J.; CRESPO, M. E.; JIMÉNES, J. ZARZUELO, A. The spasmolytic activity of various aromatic plants from the province of granada. the activity of the major components of their essential oils. Planta med. 20:213-218, 1986.
- CAMBARDELLA, C. A.; KARLEN, D. L.; PRECIS. Agric., 1, 5, 1999.
- CASTRO, H. G.; *et al.* Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. Quim. Nova, vol. 27, n.1, 55-57, 2004.
- CHAVES, L. J.; VENCOVSKY, R.; SILVA, R. S. M.; TELLES, M. P. C.; ZUCCHI, M. I.; COELHO, A. S. G.; Conserv. Genet., 12, 569, 2011.

- CHENG, A. X.; XIANG, C. Y.; LI, J. X.; YANG, C. Q.; HU, W. L.; WANG, L. J.; LOU, Y. G.; CHEN, X. Y. The rice (E)- β -caryophyllene synthase (Os TPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. *phytochemistry* 68, p. 1632-1641, 2007.
- COLEY, P. D.; BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230, p. 895, 1985.
- COSTA, T. R.; FERNANDES, O. F. L.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. L FERREIRA, H. D.; SALES, B. H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 111-117, 2000.
- COSTA, V. C. O.; TAVARES, J. F.; QUEIROGA, C. S.; CASTELLO-BRANCO, M. V. S.; DINIZ, M. F. F. M.; LIMA, C. U. G. B.; SANTOS, B. V. O.; PITA, J. C. L. R.; SILVA, M. S.; SETTE, I. M. F. Constituintes químicos das folhas de *Rollinia leptopetala*, *Qim. Nova*, vol. 35, n. 1, 138-142, 2012.
- COSTA, D. P., ALVES, E.G., SILVA, L. M. A., SANTOS, S. C., NAVES, R. V., SERAPHIN, J. C., FERRI, P. H., Seasonal variability of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 20, 1287, 2009.
- COSTA, D.P., ALVES, E.G., SILVA, L.M.A., SANTOS, S.C., NAVES, R.V., SERAPHIN, J.C., FERRI, P.H., Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 21, 851, 2010.
- COVELO, F.; GALLARDO, A.; *Plant Soil*, 259, 267, 2004.
- COVELO, F.; GALLARDO, A.; *For. Ecol. Manage.*, 258, 2511, 2009.
- CURADO, M. A; OLIVEIRA, C. B. A.; JESUS, J. G.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H.; Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*, 67, 2363-2369, 2006.
- CROCK, J.; WILDUNG, M.; CROTEAU R. Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase DNA clone from Peppermint (*Mentha piperita*, L.) that produces the aphid alarm pheromone (E)- β -farnesene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 94, p. 12833–12838, 1997.
- DAVID, E. F. S.; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M. Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha Piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8, p. 183-188, 2006.
- DEGABRIEL, J. L.; MOORE, B. D.; MARSH, K. J.; FOLEY, W. J.; *Chemoecology* 2010.
- DICKE, M.; HILKER, M.; *Basic Appl. Ecol.*, 3,4, 2003.
- DINIZ-FILHO, J. A. F.; TELLES, M. P. C.; *Conserv. Biol.*, 16, 924, 2002.
- DONADIO, L. C.; MARTINS, A. B. G.; VALENTE, J. P.; *Fruticultura tropical; jaboticabal: Funep*, 1992.
- DOOL, H. V. D.; KRATZ, P. D.; *J. Chromatogr.*, 11, 463, 1963.

- DUARTE, A. R., NAVES, R. R., SANTOS, S. C., SERAPHIN, J. C., FERRI, P. H., Genetic and environmental Influence on essential oil composition of *Eugenia dysenterica*. Journal of the Brazilian Chemical Society 21, 1459, 2010a.
- DUARTE, A. R., SANTOS, S. C., SERAPHIN, J. C., FERRI, P. H., Environmental influence on the phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* Leaves. Journal of the Brazilian Chemical Society 21, 1672, 2010b.
- DUARTE, A. R., SANTOS, S. C., SERAPHIN, J. C., FERRI, P. H., Influence of spatial, edaphic and genetic factors on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* Fruits. Journal of the Brazilian Chemical Society 23, 737, 2012.
- DUARTE, A. R., NAVES, R. R., SANTOS, S. C., SERAPHIN, J. C., FERRI, P. H., Seasonal influence on the essential oil variability of *Eugenia dysenterica*. Journal of the Brazilian Chemical Society 20, 967, 2009.
- DUARTE, E. F.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D.; GUIMARÃES, N. N. R Germinação e vigor de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* MART. ex DC.) em função de seu tamanho e tipo de coleta. Pesquisa Agropecuária Tropical, 36 (3): 173-179, 2006.
- DUBOC, E.; GUERRINI, I. A. Desenvolvimento inicial e nutrição da cagaita em áreas de cerrado degradado. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Cerrados. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Junho, 2007.
- EDRIS, A. E.; SHALABY, A. S.; FADEL, H. M. Effect of organic agriculture practices on the volatile flavor components of some essential oil plants growing in egypt:: III. *Tymus vulgaris* L. essential oil. Journal of essential oil Bearing Plants 12, p. 319-326, 2009.
- EHLERS, B. K.; THOMPSON, J. D.; Oecologia, 2004.
- FERREIRA, M. B. & SILVA, L. H. S. 1980. Dispersão de plantas lenhosas de cerrado - germinação e desenvolvimento. Informe Agropecuário, 6:27-32, 1980.
- FONSECA, A.; MUNIZ, I. A. F.; Inf. Agropec., 16-12, 1992.
- FRACARO, F., ECHEVERRIGARAY, S., Micropropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of south Brazil. *Journal Plant Cell Tissue and Organ Culture* 64, 1, 2001.
- FRANZ, C., NOVAK, J., Sources of Essential Oils. In Handbook of Essential Oils. Science, Technology, and Applications. Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (eds.). CRC Press, Boca Raton, 2010.
- GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I.; J. Agric. Food Chem., 58, 4666, 2010.
- GORALKA, R. J. L. & LANGENHEIM, J. H. Implications of foliar monoterpenoid variation among ontogenetic stage of the California bay Tree (*Umbellularia californica*) for deer herbivory. *Biochemical Systematic and Ecology* 24, p.13-23, 1996.
- HAIDER, F., DWIVEDI, P., SINGH, S., NAQVI, A.A., BAGCHI, G., Influence of transplanting time on essential oil yield and composition in *Artemisia annua* plants grown under the climatic conditions of sub-tropical north India. *Flavour Frag. J.* 19, 51–53, 2004.

- HARBORNE, J. B. Advances in chemical ecology. Natural Product Reports p. 327-347, 1993.
- HERMS, D. A. & MATTSON, W. J. The dilemma of plants: To grow or defend. quarterly review of biology 67, p. 283 – 335, 1992.
- HULL-SANDERS, H. M.; CLARE, R.; JOHNSON, R. H.; MEYER, G. A.; J. Chem. Ecol. 2007.
- JOMBART, T.; DRAY, S.; DUFOUR, A.-B.; Ecography, 32, 161, 2009.
- JONGMAN, R. H. G.; TER BRAAK, C. J. F.; VAN TONGEREN, O. F. R.; Data analysis in community and landscape ecology; Cambridge University Press: Cambridge, 2002.
- JURGENS, A.; FELDHAAR, H.; FELDMEYER, B.; FIALA, B.; Biochem. Syst. Ecol., 34, 97, 2006.
- KAROUSOU, R., Koureas, D. N., KOKKIINI, S., Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. Phytochemistry 66, 2668-2673, 2005.
- KLEINE, S. & MÜLLER, C. Intraspecific plant chemical diversity and its relation to herbivory, Ecologia. 166:175-186. 2011.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B.; Conserv. Biol., 19, 707, 2005.
- KOSÍNSKI, I.; POL. ECOL. STUD., 22, 17, 1996.
- KUBO, I. CHAUDHURI, S. K.; KUBO, Y.; SANCHES, Y.; OGURA, T.; SAITO, T. ISHIKAWA, H. Cytotoxic and oxidative sesquiterpenoids from heterotheca inuloides. Planta Med 62:427-430, 1996.
- LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Estudo Fitoquímico Da madeira de *Guarea macrophylla* (MELIACEAE). Quim. Nova, vol.32, n.9, 2351-2354, 2009.
- LEGAULT, J.; DAHL, W.; DEBITON, E.; PICHETTE, A.; MADELMONT, J.C. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by α -Humulene as possible mechanism of action. Planta Médica, v. 69, n.5, p.402-407, 2003.
- LEGENDRE, P.; FORTIN, M. J.; Vegetatio, 80, 107, 1989.
- LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L.; Numerical Ecology, 2nd ed.; Elsevier Science: Amsterdam, 2003.
- LEGENDRE, P.; FORTIN, M. J.; Mol. Ecol. Resour., 10, 831, 2010.
- LEPŠ, J.; ŠMILAUER, P.; Multivariate analysis of ecological data using CANOCO; Cambridge University Press: Cambridge, 2007.
- LIMA, T. B.; SILVA, O. N.; OLIVEIRA, J. T. A.; VASCONCELOS, I. M.; SCALABRIN, F. B.; ROCHA, T. L.; GROSSI-DE-SA, M. F.; SILVA, L. P.; GUADAGNIN, R. V.; QUIRINO, B. F.; CASTRO, C. F. S.; LEONARDECZ, E. L.; FRANCO, O. L.; Peptides, 31, 1426, 2010.
- LIMA, T. C.; Modelagem dos vetores de mudança na paisagem do bioma cerrado. Boletim CEDECOM 1821. UFMG, 2013.

- LOVE, A.; NAIK, D.; BASAK, S. K.; BABU, S.; PATHAK, N.; BABU, C. R.; *Chem. Biod.*, 6, 2263, 2009.
- LYRA, C. C. V. G, OLIVEIRA, C. B. A., VIEIRA, R. F., SANTOS, S. C., SERAPHIN, J. C., FERRI, P. H., Intra specific variability in the essential oil composition of *Lychnophora ericoides*. Journal of the Brazilian Chemical Society 19, 842, 2008.
- LOVELESS, M. D.; HAMRCK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in pant populations. Annual Review Of Ecology And Systematics, Palo Alto, v.15, p. 65-95, 1984.
- LOZINE, K., VENSKUTONIS, P. R., Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. Biochem. Syst. Ecol. 33, 517-525, 2005.
- MAHMOUD, S. S. & CROTEAU, R. B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. Review. Trends in Plant Science, 1360-1385. 2002.
- MANTEL, N.; Cancer Res., 27, 209, 1989.
- MARTINS, P. S. Preservação e genética evolutiva. in encontro sobre recursos genéticos, 1, 1988, Jaboticabal, SP. Anais. Jaboticabal: UNESP, P. 82 – 66, 1988.
- MARRIS, E.; Nature, 437, 944, 2005.
- MENGES, E. S.; Tree, 15, 51, 2000a.
- MENGES, E. S.; Ecol. Bull., 48, 73, 2000b.
- MÉOT, A.; LEGENDRE, P. BOCARD, D.; Partialling out the spatial component of ecological variation: questions and propositions in the linear modeling framework, environmental and ecological statistics. 5, p. 1-27, 1998.
- METTLER, L.E.; GREGG, T.G., Genética de populações e evolução. Tradução por Roland Vencovsky, João Lúcio de Azevedo, Gerhard Bandel. São Paulo: EDUSP, Polígono. p.225-255, 1973.
- MISRA, A. & SHARMA, S. Critical concentration of iron in relation to essential oil yield and quality parameters of Japanese mint. Soil Science Plant Nutrition 37, p. 185-190, 1991.
- MITTERMEIER, R. A.; GIL, P. R.; HOFFMAN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G. A. B.; Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions; Conservation international: Arlington, 2005.
- MORAES, S. K. R. Constituintes químicos de algumas espécies de myristicaceae.. 174p. Tese - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- MUMM, R.; TIEMANN, T.; SCHULZ, S.; HILKER, M. Analysis of volatiles from black pine (*pinus nigra*): significance of wounding and egg deposition by a herbivorous sawfly. Phytochemistry 65, p.3221-3230, 2004.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J.; Nature, 403, 853, 2000.

- NAN, P.; PENG, S.; SHI, S.; REN, H.; YANG, J.; ZHONG, Y.; Z. Naturforsch., 58C, 57, 2005.
- NAVES, R. V.; ALMEIDA NETO, J. X., ROCHA, M. R., BORGES, J. D.; CARVALHO, G. C. CHAVES, L. J.; SILVA, V. A. Determinação de características físicas em frutos e teor de nutrientes, em folhas e no solo, de três espécies frutíferas de ocorrência natural nos cerrados de Goiás, Anais Esc. Agron. E Vet., 25(2):107-114, 1995.
- OLIVEIRA JR. J. P. de; LEANDRO, W. M.; OLIVEIRA, G. C.; NAVES, R. V.; VILELA, E. F.; MENDONÇA, R. S.; BORGES, J. D.; TRINDADE, M. da G.; REIS, A. J. S. Caracterização química do solo, de folhas e de frutos de cagaita (*Eugenia dysentérica* DC) no sudeste de Goiás. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro: SBCS., p. 20-21, 1997.
- OLIVEIRA, M. E. S.; PANTOJA, L.; DUARTE, W. F.; COLLELA, C. F.; VALARELLI, L. T.; SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R. Food Res. Int., 44, 2391, 2011.
- ORMEÑO, E.; FERNANDEZ, C.; BOUSQUET-MÉLOU, A.; GREFF, S.; MORIN, E.; ROBLES, C.; VILA, B.; BONIN, G.; Atmos. Environ., 41, 629, 2007.
- PAULA, J. A. M., PAULA, J. R., SÁ, F.A.S., TRESVENZOL, L.M.F., BARA, M.T.F., FERRI, P.H., Infraspecific chemical variability in the essential oil of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L.R. Landrum (Myrtaceae). Biochemical Systematics and Ecology 39, 643, 2011.
- PEBESMA, E. J. Multivariable Geostatistics in S: the gstat package. Computers & Geosciences, 30 683-691, 2004.
- PICAUD, S.; OLOFSSON, L.; BRODELIUS, M.; BRODELUIS, P. E. Expression, purification, and characterization of recombinant amorpho-4,11-diene synthase from *Artemisia annua* L. Archives of Biochemistry and Biophysics 436, p. 215-226, 2005.
- PROENÇA, C. E. B., GIBBS, P. E., Reproductive biology of eight sympatric myrtaceae from central Brazil. New Phytologist 126, 343, 1994.
- QUIRINO, B. F.; CASTRO, C. F. S.; LEONARDECZ, E. L.; FRANCO, O. L. Peptides, 31, 1426, 2010.
- RAGUSO, R. A.; Entomol. Exp. Appl., 128, 196, 2008.
- R Development Core Team; R: a Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, 2008.
- RANDRIANALIJANA, J. A.; RAMANOELINA, P. A. R.; RASOARAHONA, J. R.E.; GAYDOU, E. M.. Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L. essential oils from Madagascar. Analytica Chimica Acta 545, p.46-52, 2005.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Biologia vegetal, 6 ed. Rio de Janeiro; Editora Guanabara, Kogan, 2001.
- REZENDE, W. P.; BORGES, L. L.; ALVES, N. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Chemical variability in the essential oils from leaves of *Syzygium jambos*. Resv. Bras. Farmacogn. Vol. 23, n° 3. Curitiba, May/june 2013.

- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. In Cerrado: Ambiente e flora; SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P., eds.; Embrapa-CPAC: Planaltina, 1998.
- RIZZINI, C. T. Aspectos ecológicos da regeneração em algumas plantas do cerrado. In Simpósio Sobre o Cerrado, São Paulo, Sp. Anais. São Paulo: Edgard Blucher, p.61-64, 1971.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. Cien. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(1): 53-60, jan.-mar., 2007.
- ROSENBERG, M. S.; ANDERSON, C. D.; *Methods Ecol. Evol.* 2, 229, 2011.
- ROSSI, R. E.; MULLA, D. J.; JOURNEL, A. G.; FRANZ, E. H.; *Ecol. Monogr.*, 62, 277, 1992.
- SACRISTAN-SORIANO, O., BANAIGS, B., BECERRO, M.A., Relevant spatial scales of chemical variation in *Aplysina aerophoba*. *Marine Drugs* 9, 2499, 2011.
- SALES, J. F.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; SILVA, F.G.; CORREIA, R. M.; CARVALHO, J. G.; Biomass accumulation, foliar content of nutrients and yield of essential oil of Hortela-do-campo (*Hyptis marrubioides* EPL) cultivated under organic fertilization. *Bioscience Journal* 25, p. 60-68, 2009.
- SANGWAN NS, FAROOQI AHA, SHABIH F, SANGWAN RS. Regulation of essential oil production in plant. *Plant Growth Regul* 34: 3-21, 2001.
- SANO, E. E.; ROSA R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G.; *Environ. Monit. Assess.* 2009, 1, 1; http://www.mma.gov.br/estruturas/219/_arquivos/texto_indicadoresdesmatamento_2010_219.pdf, accessed in may, 2012.
- SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P., eds.; Embrapa-CPAC: Planaltina, 1998.
- SAS Institute Inc.; *Statistical Analysis System*; Cary: NC, 1996.
- SAXENA, A & SINGH, J. N. Effect of migration, mulch and nitrogen on yield and composition of Japanese mint (*Mentha arvensis subsp. Haplocalyx var. piperascens*) oil, *Indian Journal of Agronomy* 43, p. 179-182, 1998.
- SILVA, F.G.; OLIVEIRA, C. B. A.; PINTO, J. E. B. P.; NASCIMENTO, V. E.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability in the essential oils of wild and cultivated *Baccharis trimera*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18, p. 990-997, 2008.
- SILVA JUNIOR, M. C. 100 árvores do Cerrado: guia de Campo. Brasília: Rede de sementes do cerrado, 278p, 2005.
- SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* Dc.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* vol.23 no. 2 Jaboticabal Ang., 2001.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*, 5 ed. Porto Alegre: UFRGS/EDUFSC, 2005.

- SOARES, A. M. S., MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*. V.1, n., p. 14, 2007.
- SOKAL, R. R., ODEN, N. L., Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. *Biological Journal of Linnean Society* 10, 199, 1978a.
- SOKAL, R. R., ODEN, N. L., Spatial autocorrelation in biology. 2. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. *biological Journal of Linnean Society* 10, 229, 1978b.
- SKOLD, M.; KARLBERG, A.; MATURA, A.; BORJE, A. The fragrance chemical β -caryophyllene – air oxidation and skin sensitization. *Food Chem Toxicol* 44: 538-545, 2006.
- ŠMILAUER, P; CanoDraw for Windows 4.1; Microcomputer Power: New York, 2003.
- SOUZA, E. R. B.; CARNEIRO, I. F.; NAVES, R. V.; BORGES, J.D.; LEANDRO, W. M.; CHAVES, L. J. Emergência e crescimento de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.) em função do tipo e do volume de substratos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 31(2): 89-95, 2001.
- SOUZA, E. R. B.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D.; VERA, R.; FERNANDES, E. P.; SILVA, L. B.; TRINDADE, M. G. Fenologia de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.) no estado de Goiás, Ver. Bras. Frutic. Vol 30, num. 4, 2008.
- STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J.; *Chem. Biodivers.*, 8, 73, 2011..
- STICH, B.; HAUSSMANN, B. I. G.; PASAM, R.; BHOSALE, S.; HASH, T.; MELCHINGER, A. E.; PARZIES, H. K.; *BMC Plant Biol.*, 10, 216, 2010.
- TAMBE, Y.; TSUJIUCHI, H.; HONDA, G.; IKESHIRO, Y.; TANAKA, S. Gastric cytoprotection of the non-steroidal antiinflammatory sesquiterpene, β -caryophyllene. *Planta Med.* 62: 469-470, 1996.
- TAIZ, L. & ZAIGER, E. *Fisiologia Vegetal*, 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TAVEIRA, F. S. N.; LIMA, W. N.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, p. 69-75, 2003.
- TELLES, M. P.C; SILVA, R. S. M; CHAVES, L.J; COELHO, A. S. G; DINIZ FILHO, J. A. F. Divergência Entre Subpopulações De Cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) Em Resposta A Padrões Edáficos E Distribuição Espacial. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1387-1394, nov. 2001a.
- TELLES, M. P. DE C.; DINIZ-FILHO, A. F.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; Autocorrelação espacial das frequências alélicas em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC., Myrtaceae) no sudeste de Goiás. *Revista Brasil. Bot.*, São Paulo, v.24, n. 2, p. 145-154, jun. 2001b.
- TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; VALVA, F. D.; *Conserv. Genet.*, 4, 68, 2003.
- TER BRAAK, C. J. F.; ŠMILAUER, P.; CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5); Microcomputer Power: New York, 2002.

- TOMMASI, L.; NEGRO, C.; CERFEDA, A.; NUTRICATI, E.; ZUCCARELLO, V.; DE BELLIS, L.; MICELI, A.; J Essent. Oil Res., 19, 572, 2007.
- TOMMASI, L.; NEGRO, C.; DE BELLIS, L.; MICELI, A.; J Essent. Oil Res., 20, 295, 2008.
- THRALL, P. H.; BURDON, J. J.; YOUNG, A.; J. Ecol., 89, 736, 2001.
- TRINDADE, M. G & CHAVES, L. J. Genetic structure of natural *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) populations in northeastern Goiás, Brazil, accessed by morphological traits and rapid markers. *genetics and molecular Biology*, 28, 3, 407-413, 2005.
- TRINDADE, H.; COSTA, M. M.; LIMA, S. B.; PEDRO, L. G.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; Biochem. Syst. Ecol. 2009, 37, 670, 2009.
- USHIO, M. & ADAMS, J. M.; Open Ecol. J. 2011.
- VENCOVSKY, R. & CROSSA, J.; Crop Sci., 43,1912, 2003;
- VILELA, E. C.; CARVALHO, T. C.; DUARTE, A. R.; NAVES, R. V.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H.; J. Braz. Chem. Soc., 23, 1776, 2012.
- WAGNER, H. & FORTIN, M. J. Spatial analysis of landscapes: Concepts and statistics. *ecology*, 86, p. 1975-1987, 2005.
- WU, D.-C; ZHOU, J.-H; FAN, Z.-D.; LI, W.-B.; ZHANG, Y.-Y.; YANG, C.; XU, F.-H.; ZHU, K.; DUAN, F.-Y.; WANG, D.-X.; Acta Agron. Sin., 36, 141, 2010.
- ZAOUALI, Y.; BOUSSAID, M.; Biochem. Syst. Ecol., 36, 11, 2008.
- ZUCCHI, M. I.; BRONDANI, R. V.; PINHEIRO, J. B.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; VENCOVSKY, R.; Rev. Bras. Bot., 26, 449, 2003
- ZUCCHI, M. I.; PINHEIRO, J. B.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; COUTO, M. A.; MORAIS, L. K.; VENCOVSKY, R.; Pesq. Agropec. Bras., 40, 975, 2005.
- ZHU, H.L., ZHU, B.Z., FU, D.Q., Y., HÃO, Y.L., LUO, Y.B., Role of ethylene in the biosynthetic pathways of aroma volatiles in ripening fruit. *Russian Journal of Plant Physiology* 52, 691, 2005.

Apêndice



S1. Cromatogramas totais de íon (TIC) do óleo essencial das oito populações de *E. dysenterica* DC

Figura A1. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 1 (Catalão-1).

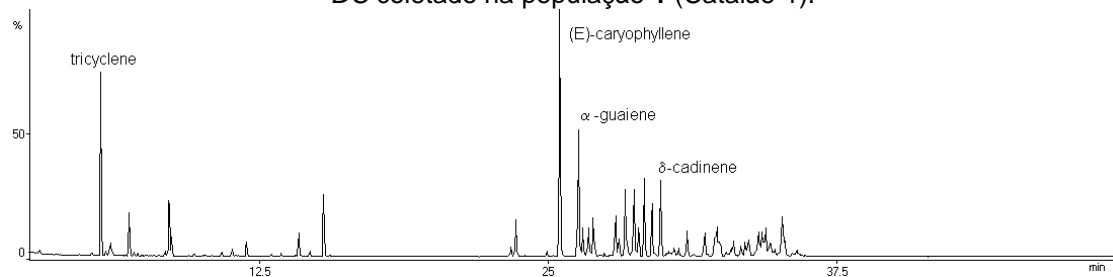


Figura A2. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 2 (Catalão-2).

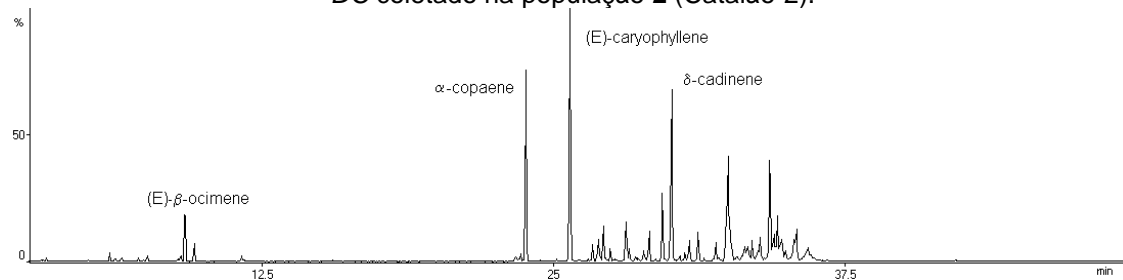


Figura A3. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 3 (Três Ranchos).

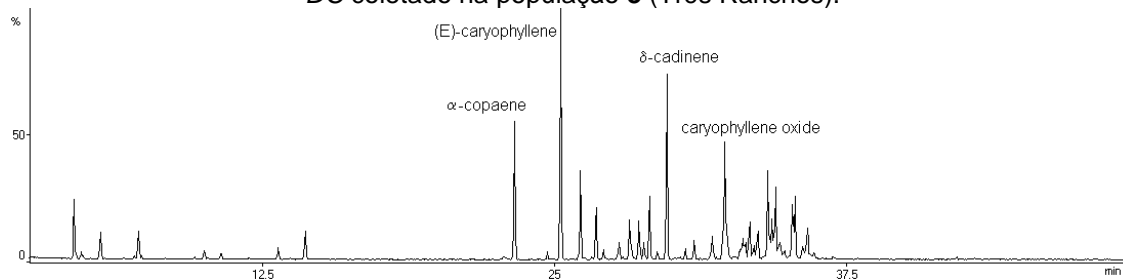


Figura A4. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 4 (Campo Alegre de Goiás).

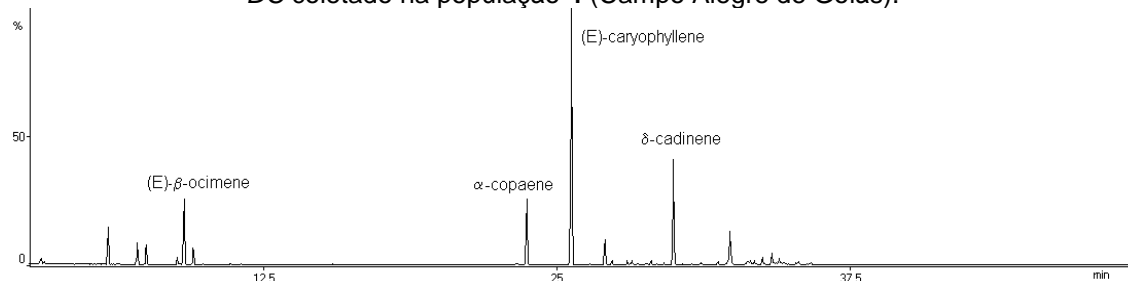


Figura A5. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 5 (Cristalina).

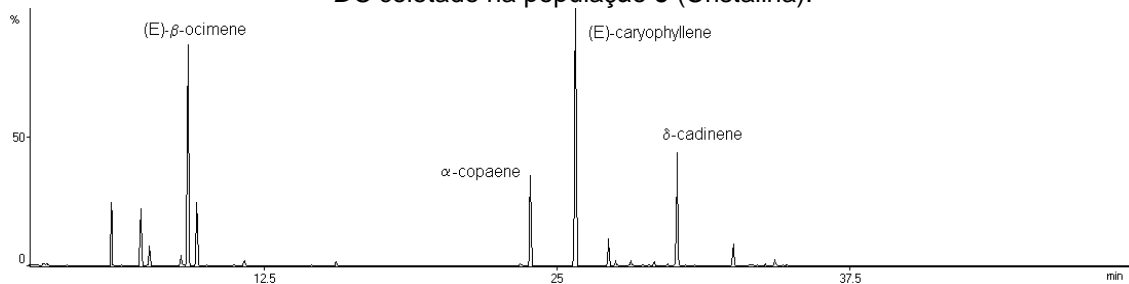


Figura A6. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 6 (Luziânia).

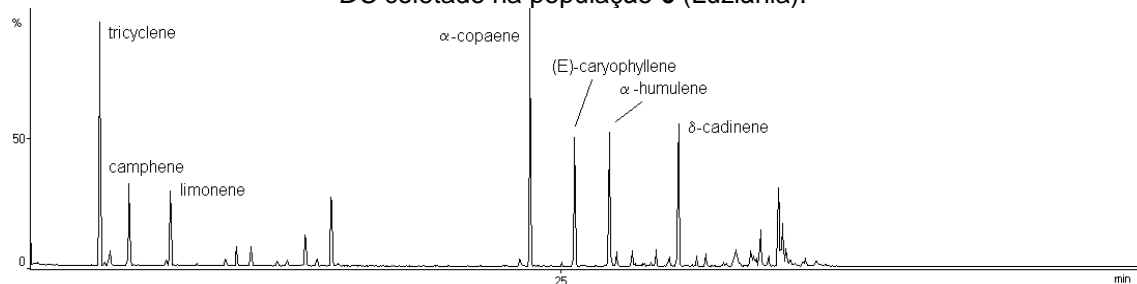


Figura A7. Cromatograma total de íon (TIC) representativa do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 7 (Senador Canedo).

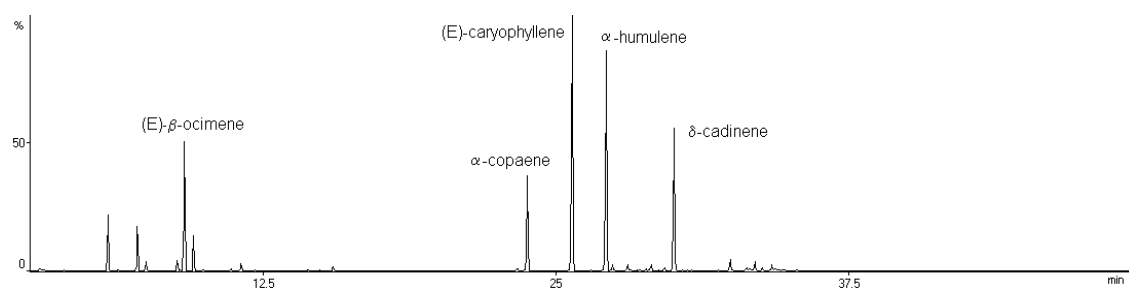
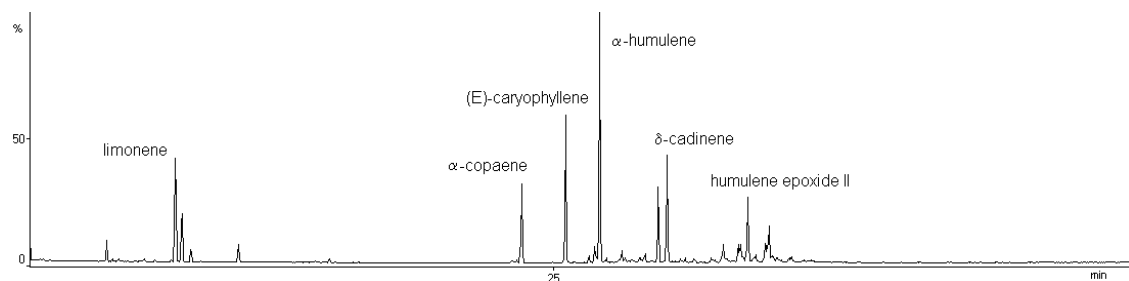


Figura A8. Cromatograma total de íon (TIC) representativo do óleo essencial de *E. dysenterica* DC coletado na população 8 (Goiânia).



S2. Número de identificação (pico), índice de retenção calculado (IR Cal), porcentagem do constituinte químico (%), índice aritmético (AI), índice de Kovats (KI) e proposta da estrutura química dos constituintes.

Pico	IR Cal.	%	AI	KI	Constituinte
1	920	10.73	921	926	triciclano
2	933	0.29	932	939	α -pineno
3	934	0.68	945	952	α -fencheno
4	963	2.81	946	954	canfeno
5	1014	0.28	1020	1024	p-cimene
6	1018	3.04	1024	1029	limonene
7	1021	0.37	1026	1034	1,8-cineol
8	1080	0.28	1086	1088	terpinoleno
9	1092	0.61	1095	1096	linalool
10	1108	0.65	1114	1116	α -endofenchol
11	1161	0.98	1165	1169	borneol
12	1186	1.90	1186	1188	α -terpineol
13	1376	8.26	1374	1376	α -copaeno
14	1407	0.44	1408	1408	Z-cariofileno
15	1420	13.59	1417	1419	E-cariofileno
16	1439	5.38	1437	1439	α -guaieno
17	1454	2.07	1452	1454	α -humuleno
18	1461	0.56	1462	1464	Óxido de cabreúva B
19	1477	1.14	1478	1479	δ -muuroleno
20	1487	1.97	1489	1490	β -sileneno
21	1490	0.25	-	-	NI*
22	1496	2.05	-	-	NI*
23	1500	1.1	1500	1500	α -muuroleno
24	1507	5.33	1509	1509	α -bulneseno
25	1515	0.58	1513	1513	γ -cadineno

Continuação S2

Pico	IR Cal.	%	AI	KI	Constituinte Proposto
26	1525	11.81	1522	1523	δ-cadinene
27	1543	0.44	-	-	NI*
28	1553	1.14	-	-	NI*
29	1571	1.14	1570	1572	Álcool cariofilênico
30	1582	1.08	1582	1583	pigmaceno
31	1584	3.53	-	-	NI*
32	1587	0.91	-	-	NI*
33	1599	0.39	-	-	NI*
34	1603	0.69	-	-	NI*
35	1606	0.69	-	-	NI*
36	1610	0.72	-	-	NI*
37	1615	0.62	-	-	NI*
38	1619	1.13	-	-	NI*
39	1630	2.97	-	-	NI*
40	1634	1.27	-	-	NI*
41	1638	1.65	-	-	NI*
42	1643	0.84	1644	1644	muurolol
43	1656	1.45	-	-	NI*
44	1660	1.79	-	-	NI*
45	1673	0.42	-	-	NI*

* NI- Não identificado

S3. Matriz de coordenadas geográficas (UTM) e de polinômio (matriz espacial).

Amostra	UTM			PCA		Polinômio de ordem 3 completo								
	Norte(m)	Leste(m)	Alt(m)	PC1 (X)	PC2 (Y)	X	Y	XY	X ²	Y ²	X ² Y	XY ²	X ³	Y ³
go1	8155568.51	687155.15	740.0	-2.0626	-0.8862	-2.0626	-0.8862	1.8278	4.2542	0.7853	-3.7699	-1.6197	-8.7744	-0.6959
go2	8155572.51	687150.15	740.0	-2.0626	-0.8864	-2.0626	-0.8864	1.8282	4.2543	0.7857	-3.7709	-1.6205	-8.7748	-0.6964
go3	8155560.51	687148.15	740.0	-2.0626	-0.8865	-2.0626	-0.8865	1.8286	4.2544	0.7859	-3.7716	-1.6211	-8.7751	-0.6967
go4	8155558.51	687158.15	740.0	-2.0626	-0.8867	-2.0626	-0.8867	1.8289	4.2544	0.7862	-3.7724	-1.6217	-8.7752	-0.6971
go5	8155575.51	687156.15	740.0	-2.0626	-0.8869	-2.0626	-0.8869	1.8293	4.2545	0.7865	-3.7731	-1.6223	-8.7755	-0.6975
go6	8155579.51	687159.15	740.0	-2.0627	-0.8870	-2.0627	-0.8870	1.8296	4.2546	0.7868	-3.7739	-1.6229	-8.7758	-0.6979
go7	8155552.51	687145.15	740.0	-2.0627	-0.8872	-2.0627	-0.8872	1.8299	4.2547	0.7871	-3.7746	-1.6235	-8.7760	-0.6983
go8	8155555.51	687141.15	740.0	-2.0627	-0.8873	-2.0627	-0.8873	1.8303	4.2547	0.7874	-3.7754	-1.6241	-8.7763	-0.6986
go9	8155549.51	687144.15	740.0	-2.0627	-0.8875	-2.0627	-0.8875	1.8306	4.2548	0.7876	-3.7761	-1.6246	-8.7766	-0.6990
go10	8155553.51	687146.15	740.0	-2.0627	-0.8876	-2.0627	-0.8876	1.8310	4.2549	0.7879	-3.7768	-1.6252	-8.7768	-0.6994
go11	8155576.51	687150.15	740.0	-2.0625	-0.8864	-2.0625	-0.8864	1.8281	4.2539	0.7857	-3.7705	-1.6204	-8.7736	-0.6964
cl1	8003615.23	813203.00	860.0	0.4317	-1.0727	0.4317	-1.0727	-0.4631	0.1864	1.1507	-0.2000	0.4968	0.0805	-1.2344
cl2	8003610.23	813213.00	860.0	0.4315	-1.0723	0.4315	-1.0723	-0.4627	0.1862	1.1499	-0.1997	0.4962	0.0803	-1.2330
cl3	8003625.23	813210.00	860.0	0.4315	-1.0725	0.4315	-1.0725	-0.4628	0.1862	1.1502	-0.1997	0.4963	0.0803	-1.2335
cl4	8003619.23	813208.00	860.0	0.4315	-1.0726	0.4315	-1.0726	-0.4628	0.1862	1.1505	-0.1997	0.4964	0.0803	-1.2340
cl5	8003621.23	813206.00	860.0	0.4314	-1.0728	0.4314	-1.0728	-0.4629	0.1861	1.1509	-0.1997	0.4965	0.0803	-1.2346
cl6	8003611.23	813199.00	860.0	0.4314	-1.0730	0.4314	-1.0730	-0.4629	0.1861	1.1512	-0.1997	0.4967	0.0803	-1.2352
cl7	8003612.23	813196.00	860.0	0.4314	-1.0731	0.4314	-1.0731	-0.4630	0.1861	1.1516	-0.1997	0.4968	0.0803	-1.2357
cl8	8003609.23	813210.00	860.0	0.4314	-1.0733	0.4314	-1.0733	-0.4630	0.1861	1.1519	-0.1997	0.4969	0.0803	-1.2362
cl9	8003613.83	813197.00	860.0	0.4313	-1.0733	0.4313	-1.0733	-0.4629	0.1860	1.1519	-0.1997	0.4968	0.0802	-1.2363
cl10	8003618.23	813198.00	860.0	0.4314	-1.0736	0.4314	-1.0736	-0.4631	0.1861	1.1526	-0.1998	0.4972	0.0803	-1.2373
cl11	8003623.23	813201.00	860.0	0.4318	-1.0727	0.4318	-1.0727	-0.4632	0.1864	1.1507	-0.2000	0.4969	0.0805	-1.2344
tr1	7975053.23	837145.43	820.0	0.4306	-1.9278	0.4306	-1.9278	-0.8301	0.1854	3.7162	-0.3574	1.6002	0.0798	-7.1640
tr2	7975050.23	837147.43	820.0	0.4303	-1.9272	0.4303	-1.9272	-0.8293	0.1852	3.7141	-0.3569	1.5982	0.0797	-7.1578
tr3	7975056.23	837135.43	820.0	0.4303	-1.9274	0.4303	-1.9274	-0.8293	0.1852	3.7147	-0.3569	1.5984	0.0797	-7.1595
tr4	7975059.23	837138.43	820.0	0.4303	-1.9275	0.4303	-1.9275	-0.8294	0.1851	3.7153	-0.3569	1.5986	0.0797	-7.1613
tr5	7975057.23	837132.43	820.0	0.4303	-1.9277	0.4303	-1.9277	-0.8294	0.1851	3.7159	-0.3568	1.5988	0.0796	-7.1631
tr6	7975049.23	837149.43	820.0	0.4303	-1.9278	0.4303	-1.9278	-0.8295	0.1851	3.7166	-0.3569	1.5991	0.0796	-7.1650
tr7	7975047.23	837151.43	820.0	0.4302	-1.9280	0.4302	-1.9280	-0.8295	0.1851	3.7171	-0.3569	1.5992	0.0796	-7.1666
tr8	7975045.23	837140.43	820.0	0.4302	-1.9281	0.4302	-1.9281	-0.8295	0.1851	3.7178	-0.3569	1.5994	0.0796	-7.1684
tr9	7975050.23	837141.43	820.0	0.4302	-1.9283	0.4302	-1.9283	-0.8295	0.1851	3.7184	-0.3568	1.5996	0.0796	-7.1702
tr10	7975054.23	837142.43	820.0	0.4309	-1.9283	0.4309	-1.9283	-0.8310	0.1857	3.7184	-0.3581	1.6024	0.0800	-7.1701
lz1	8175272.13	840505.54	900.0	0.0796	1.7146	0.0796	1.7146	0.1364	0.0063	2.9399	0.0109	0.2339	0.0005	5.0407
lz2	8175269.13	840507.54	900.0	0.0796	1.7144	0.0796	1.7144	0.1364	0.0063	2.9392	0.0109	0.2338	0.0005	5.0389
lz3	8175275.13	840509.54	900.0	0.0795	1.7142	0.0795	1.7142	0.1363	0.0063	2.9386	0.0108	0.2337	0.0005	5.0375
lz4	8175264.13	840498.54	900.0	0.0795	1.7141	0.0795	1.7141	0.1363	0.0063	2.9381	0.0108	0.2336	0.0005	5.0361
lz5	8175277.13	840492.54	900.0	0.0795	1.7139	0.0795	1.7139	0.1363	0.0063	2.9375	0.0108	0.2335	0.0005	5.0347
lz6	8175273.13	840510.54	900.0	0.0795	1.7138	0.0795	1.7138	0.1362	0.0063	2.9370	0.0108	0.2334	0.0005	5.0334
lz7	8175262.13	840512.54	900.0	0.0794	1.7136	0.0794	1.7136	0.1361	0.0063	2.9365	0.0108	0.2333	0.0005	5.0319
lz8	8175268.13	840490.54	900.0	0.0794	1.7135	0.0794	1.7135	0.1361	0.0063	2.9359	0.0108	0.2332	0.0005	5.0305
lz9	8175280.13	840495.54	900.0	0.0794	1.7133	0.0794	1.7133	0.1360	0.0063	2.9354	0.0108	0.2331	0.0005	5.0291
lz10	8175267.13	840493.54	900.0	0.0801	1.7133	0.0801	1.7133	0.1373	0.0064	2.9353	0.0110	0.2352	0.0005	5.0291
lz11	8175265.13	840501.54	900.0	0.0795	1.7144	0.0795	1.7144	0.1363	0.0063	2.9392	0.0108	0.2336	0.0005	5.0391
ct1	7993071.07	827482.28	880.0	0.7304	-0.9231	0.7304	-0.9231	-0.6742	0.5334	0.8522	-0.4924	0.6224	0.3896	-0.7867
ct2	7993068.07	827486.28	880.0	0.7299	-0.9220	0.7299	-0.9220	-0.6729	0.5327	0.8501	-0.4911	0.6205	0.3888	-0.7838
ct3	7993065.07	827489.28	880.0	0.7299	-0.9222	0.7299	-0.9222	-0.6730	0.5327	0.8504	-0.4912	0.6206	0.3888	-0.7842
ct4	7993060.07	827479.28	880.0	0.7299	-0.9224	0.7299	-0.9224	-0.6733	0.5327	0.8509	-0.4914	0.6210	0.3888	-0.7849
ct5	7993079.07	827470.28	880.0	0.7299	-0.9226	0.7299	-0.9226	-0.6734	0.5327	0.8512	-0.4915	0.6213	0.3888	-0.7854
ct6	7993081.07	827474.28	880.0	0.7299	-0.9227	0.7299	-0.9227	-0.6735	0.5328	0.8515	-0.4916	0.6215	0.3889	-0.7857
ct7	7993074.07	827480.28	880.0	0.7285	-0.9232	0.7285	-0.9232	-0.6725	0.5307	0.8523	-0.4899	0.6209	0.3866	-0.7868
ct8	7993076.07	827475.28	880.0	0.7298	-0.9231	0.7298	-0.9231	-0.6737	0.5326	0.8521	-0.4917	0.6219	0.3887	-0.7866
ct9	7993062.07	827476.28	880.0	0.7298	-0.9232	0.7298	-0.9232	-0.6737	0.5326	0.8524	-0.4917	0.6220	0.3886	-0.7869
ct10	7993066.07	827481.28	880.0	0.7305	-0.9233	0.7305	-0.9233	-0.6744	0.5336	0.8524	-0.4926	0.6227	0.3898	-0.7870
ct11	7993077.07	827472.28	880.0	0.7298	-0.9220	0.7298	-0.9220	-0.6729	0.5327	0.8501	-0.4911	0.6204	0.3888	-0.7838
ct12	7993073.07	827471.28	880.0	0.7302	-0.9232	0.7302	-0.9232	-0.6741	0.5332	0.8523	-0.4923	0.6223	0.3894	-0.7868
ct13	7993067.07	827487.28	880.0	0.7295	-0.9222	0.7295	-0.9222	-0.6727	0.5321	0.8505	-0.4907	0.6204	0.3881	-0.7843
cr1	8097229.66	870406.08	890.0	0.5858	0.6248	0.5858	0.6248	0.3660	0.3432	0.3903	0.2144	0.2287	0.2010	0.2439
cr2	8097231.66	870416.08	890.0	0.5854	0.6256	0.5854	0.6256	0.3662	0.3427	0.3914	0.2144	0.2291	0.2006	0.2449
cr3	8097219.66	870401.08	890.0	0.5854	0.6255	0.5854	0.6255	0.3661	0.3427	0.3912	0.2143	0.2290	0.2006	0.2447
cr4	8097225.66	870403.08	890.0	0.5854	0.6253	0.5854	0.6253	0.3660	0.3427	0.3910	0.2143	0.2289	0.2006	0.2445
cr5	8097235.66	870409.08	890.0	0.5853	0.6251	0.5853	0.6251	0.3659	0.3426	0.3908	0.2142	0.2288	0.2006	0.2443
cr6	8097224.66	870399.08	890.0	0.5853	0.6250	0.5853	0.6250	0.3658	0.3426	0.3906	0.2141	0.2286	0.2005	0.2441
cr7	8097222.66	870395.08	890.0	0.5853	0.6248	0.5853	0.6248	0.3657	0.3426	0.3904	0.2141	0.2285	0.2005	0.2439
cr8	8097234.66	870392.08	890.0	0.5853	0.6247	0.5853	0.6247	0.3656	0.3426	0.3902	0.2140	0.2284	0.2005	0.2438
cr9	8097233.66	870412.08	890.0	0.5853	0.6245	0.5853	0.6245	0.3655	0.3425	0.3900	0.2139	0.2283	0.2005	0.2436
cr10	8097239.66	870410.08	890.0	0.5860	0.6245	0.5860	0.6245	0.3659	0.3434	0.3900	0.2144	0.2285	0.2012	0.2436
cr11	8097215.66	870403.08	890.0	0.5854	0.6258	0.5854	0.6258	0.3663	0.3427	0.3916	0.2144	0.2292	0.2006	0.2451
cr12	8097212.66	870400.08	890.0	0.5855	0.6257	0.5855	0.6257	0.3664	0.3429	0.3914	0.2145	0.2292	0.2008	0.2449
cr13	8097218.66	870404.08	890.0	0.5852	0.6254	0.5852	0.6254	0.3660	0.3425	0.3912	0.2142	0.2289	0.2004	0.2447
cr14	8097220.66	870408.08	890.0	0.5852	0.6252	0.5852	0.6252	0.3659	0.3424	0.3909	0.2141	0.2287	0.	

Continuação S3

Amostra	UTM			PCA		Polinômio de ordem 3 completo								
	Norte(m)	Leste(m)	Alt(m)	PC1 (X)	PC2 (Y)	X	Y	XY	X ²	Y ²	X ² Y	XY ²	X ³	Y ³
sc12	8161464.40	705377.29	840.0	-1.2134	0.5328	-1.2134	0.5328	-0.6465	1.4724	0.2838	0.7844	-0.3444	-1.7867	0.1512
sc13	8161458.40	705365.29	840.0	-1.2135	0.5327	-1.2135	0.5327	-0.6465	1.4726	0.2838	0.7845	-0.3444	-1.7870	0.1512
sc14	8161465.40	705363.29	840.0	-1.2136	0.5327	-1.2136	0.5327	-0.6465	1.4727	0.2838	0.7846	-0.3444	-1.7873	0.1512
sc15	8161454.40	705360.29	840.0	-1.2136	0.5327	-1.2136	0.5327	-0.6465	1.4729	0.2838	0.7846	-0.3444	-1.7875	0.1512
sc16	8161466.40	705380.29	840.0	-1.2137	0.5327	-1.2137	0.5327	-0.6465	1.4731	0.2838	0.7847	-0.3444	-1.7879	0.1512
sc17	8161452.40	705381.29	840.0	-1.2137	0.5327	-1.2137	0.5327	-0.6466	1.4732	0.2838	0.7847	-0.3444	-1.7881	0.1512
sc18	8161469.40	705364.29	840.0	-1.2138	0.5327	-1.2138	0.5327	-0.6466	1.4734	0.2837	0.7848	-0.3444	-1.7884	0.1511
sc19	8161455.40	705363.29	840.0	-1.2139	0.5327	-1.2139	0.5327	-0.6466	1.4736	0.2837	0.7849	-0.3444	-1.7888	0.1511
sc20	8161467.40	705367.29	840.0	-1.2140	0.5326	-1.2140	0.5326	-0.6466	1.4737	0.2837	0.7850	-0.3444	-1.7891	0.1511
sc21	8161457.40	705369.29	840.0	-1.2133	0.5328	-1.2133	0.5328	-0.6464	1.4721	0.2839	0.7843	-0.3444	-1.7861	0.1512
sc22	8161461.40	705368.29	840.0	-1.2135	0.5327	-1.2135	0.5327	-0.6465	1.4725	0.2838	0.7845	-0.3444	-1.7868	0.1512
sc23	8161467.40	705361.29	840.0	-1.2135	0.5327	-1.2135	0.5327	-0.6465	1.4727	0.2838	0.7845	-0.3444	-1.7872	0.1512
sc24	8161462.40	705366.29	840.0	-1.2138	0.5327	-1.2138	0.5327	-0.6466	1.4733	0.2838	0.7848	-0.3444	-1.7882	0.1511
ca1	8045272.27	842011.57	930.0	0.9507	0.4329	0.9507	0.4329	0.4116	0.9038	0.1874	0.3913	0.1782	0.8593	0.0811
ca2	8045271.27	842027.67	930.0	0.9507	0.4328	0.9507	0.4328	0.4114	0.9038	0.1873	0.3911	0.1780	0.8592	0.0810
ca3	8045275.27	842024.57	930.0	0.9507	0.4326	0.9507	0.4326	0.4112	0.9038	0.1871	0.3910	0.1779	0.8592	0.0809
ca4	8045274.27	842029.37	930.0	0.9506	0.4324	0.9506	0.4324	0.4111	0.9037	0.1870	0.3908	0.1778	0.8591	0.0809
ca5	8045273.27	842025.57	930.0	0.9506	0.4323	0.9506	0.4323	0.4109	0.9037	0.1869	0.3906	0.1776	0.8591	0.0808
ca6	8045279.27	842023.07	930.0	0.9506	0.4321	0.9506	0.4321	0.4108	0.9037	0.1867	0.3905	0.1775	0.8590	0.0807
ca7	8045277.27	842028.57	930.0	0.9506	0.4320	0.9506	0.4320	0.4106	0.9036	0.1866	0.3903	0.1774	0.8589	0.0806
ca8	8045278.27	842021.27	930.0	0.9506	0.4318	0.9506	0.4318	0.4104	0.9036	0.1865	0.3902	0.1772	0.8589	0.0805
ca9	8045270.27	842020.57	930.0	0.9505	0.4316	0.9505	0.4316	0.4103	0.9035	0.1863	0.3900	0.1771	0.8588	0.0804
ca10	8045260.27	842009.57	930.0	0.9513	0.4316	0.9513	0.4316	0.4106	0.9049	0.1863	0.3906	0.1772	0.8608	0.0804
ca11	8045269.27	842007.57	930.0	0.9506	0.4329	0.9506	0.4329	0.4115	0.9037	0.1874	0.3912	0.1781	0.8590	0.0811
ca12	8045263.27	842008.57	930.0	0.9506	0.4328	0.9506	0.4328	0.4114	0.9036	0.1873	0.3911	0.1780	0.8590	0.0811
ca13	8045261.27	842006.57	930.0	0.9506	0.4325	0.9506	0.4325	0.4112	0.9037	0.1871	0.3909	0.1779	0.8591	0.0809
ca14	8045264.27	842004.57	930.0	0.9507	0.4325	0.9507	0.4325	0.4112	0.9038	0.1871	0.3909	0.1778	0.8593	0.0809
ca15	8045268.27	842000.57	930.0	0.9507	0.4322	0.9507	0.4322	0.4109	0.9039	0.1868	0.3907	0.1776	0.8594	0.0808
ca16	8045266.27	842008.57	930.0	0.9510	0.4322	0.9510	0.4322	0.4110	0.9045	0.1868	0.3909	0.1777	0.8602	0.0807
ca17	8045262.27	842018.57	930.0	0.9504	0.4319	0.9504	0.4319	0.4105	0.9033	0.1865	0.3901	0.1773	0.8585	0.0806
ca18	8045265.27	842019.57	930.0	0.9510	0.4319	0.9510	0.4319	0.4108	0.9044	0.1866	0.3906	0.1774	0.8601	0.0806
ca19	8045267.27	842012.57	930.0	0.9507	0.4317	0.9507	0.4317	0.4104	0.9039	0.1864	0.3902	0.1772	0.8594	0.0805
ca20	8045280.27	842017.57	930.0	0.9507	0.4316	0.9507	0.4316	0.4104	0.9039	0.1863	0.3901	0.1771	0.8594	0.0804
ca21	8045282.27	842016.57	930.0	0.9511	0.4321	0.9511	0.4321	0.4109	0.9046	0.1867	0.3909	0.1775	0.8604	0.0807
ca22	8045281.27	842015.57	930.0	0.9502	0.4327	0.9502	0.4327	0.4111	0.9028	0.1872	0.3907	0.1779	0.8578	0.0810
ca23	8045283.27	842010.57	930.0	0.9511	0.4319	0.9511	0.4319	0.4108	0.9046	0.1866	0.3907	0.1774	0.8604	0.0806

S4. Matriz dos constituintes químicos dos óleos essenciais (média >1%).

Amostra	2	5	9	11	18	20	24	35	37	43	44	MH	MO	M	SH	SO	S	OU	Total
g01	0.00	7.39	1.03	0.52	0.22	0.00	13.88	0.60	0.00	1.00	0.00	17.31	2.50	19.81	65.90	3.88	69.78	0.00	89.59
g02	7.71	0.00	1.33	0.52	0.00	17.07	13.87	0.00	0.00	0.00	0.00	17.77	1.85	19.62	50.26	2.76	53.02	0.40	73.04
g03	3.21	0.40	0.00	0.00	0.00	15.30	0.79	1.46	3.34	0.00	7.13	0.72	7.85	59.74	10.05	69.79	0.00	77.64	
g04	1.13	0.00	6.94	3.16	7.58	14.23	25.88	7.37	10.77	6.89	2.44	12.10	1.33	13.43	67.35	10.56	77.91	0.00	91.34
g05	0.00	0.00	0.00	0.00	39.03	22.89	2.53	0.44	19.29	0.00	3.85	0.00	0.94	0.94	86.13	8.84	94.97	0.00	95.91
g06	4.82	5.66	0.89	0.00	0.00	0.00	5.29	0.00	0.92	2.49	0.00	14.34	0.61	14.95	41.56	23.03	64.59	0.00	79.54
g07	0.00	0.00	18.93	0.00	1.28	5.94	8.97	0.00	2.60	12.09	0.00	20.56	0.67	21.23	31.36	20.78	52.14	0.00	73.37
g08	0.00	0.65	0.00	0.00	10.58	0.00	10.79	0.00	11.93	5.91	9.70	3.07	2.68	5.75	44.76	33.83	78.59	0.90	85.24
g09	0.00	5.58	2.12	0.00	0.00	10.04	8.84	34.49	3.19	5.16	0.68	18.94	1.62	20.56	64.13	12.26	76.39	0.82	97.77
g010	0.00	8.09	2.33	0.81	0.00	8.44	8.96	24.08	3.93	5.20	0.00	22.47	0.00	22.47	52.27	10.41	62.68	0.00	85.15
g011	23.39	19.67	3.98	0.00	0.00	0.00	9.20	17.73	1.43	2.12	0.00	50.22	1.38	51.60	43.00	2.12	45.12	2.66	99.38
cl1	12.36	2.01	3.50	0.00	14.18	10.87	21.01	0.00	0.00	1.02	2.57	18.92	6.83	25.75	63.26	6.73	69.99	0.00	95.74
cl2	6.99	0.00	2.57	0.00	1.98	19.33	20.65	4.09	6.70	0.00	0.00	11.30	2.71	14.01	64.35	6.27	70.62	2.33	86.96
cl3	11.77	2.61	3.11	0.00	16.77	13.23	4.15	0.00	18.29	0.60	5.99	18.17	6.13	24.30	55.94	12.38	68.32	0.96	93.58
cl4	0.00	0.00	0.00	0.00	10.26	16.08	2.86	0.00	15.94	0.00	7.23	0.00	3.49	3.49	46.11	24.76	70.87	6.01	80.37
cl5	0.00	1.36	2.76	0.00	16.69	19.59	2.44	0.00	18.12	0.00	6.17	12.16	3.81	15.97	58.51	10.61	69.12	0.00	85.09
cl6	0.00	0.00	0.00	2.17	12.04	0.00	2.33	4.54	12.22	1.31	7.17	2.93	0.00	2.93	58.45	26.76	85.21	0.00	88.14
cl7	0.00	1.12	1.78	0.00	13.68	0.00	2.65	0.78	17.85	0.77	8.17	6.92	0.83	7.75	56.79	15.55	72.34	0.00	80.09
cl8	0.00	0.00	0.00	5.89	13.66	36.90	3.09	2.34	13.53	0.00	2.34	8.46	2.27	10.73	74.84	9.16	84.00	0.98	95.71
cl9	0.00	1.32	0.00	7.78	14.67	12.35	13.29	18.17	0.00	5.84	0.00	10.63	0.00	10.63	60.81	5.84	66.65	0.00	77.25
cl10	0.00	2.14	1.36	11.00	12.72	21.13	3.15	2.57	13.00	0.00	2.17	21.35	3.82	25.17	56.90	4.11	61.01	0.00	86.18
cl11	2.00	0.00	1.11	0.00	12.74	11.57	1.65	3.16	18.17	0.00	0.00	3.11	1.16	4.27	57.83	9.12	66.95	2.26	73.48
tr1	0.00	0.00	0.00	2.05	10.31	12.11	23.09	0.48	13.04	11.32	4.43	3.10	0.74	3.84	61.15	27.43	88.58	0.00	92.42
tr2	0.00	0.00	0.00	0.00	23.73	15.50	1.52	0.00	21.85	0.00	6.47	1.45	0.70	2.15	81.17	11.26	92.43	0.51	95.09
tr3	0.00	0.00	0.49	9.35	8.69	8.51	17.81	0.41	0.00	7.14	1.36	12.09	3.22	15.31	65.59	13.47	79.06	0.57	94.94
tr4	0.00	0.00	0.00	8.42	1.13	17.86	17.86	3.11	3.14	10.80	0.00	10.50	1.15	11.65	50.45	15.83	66.28	0.00	77.93
tr5	1.39	0.72	2.08	4.40	10.76	17.58	17.95	11.66	0.00	6.30	3.08	9.69	5.11	14.80	62.35	15.51	77.86	0.00	92.66
tr6	0.00	0.00	0.43	0.00	13.73	35.03	3.02	2.39	10.94	0.00	4.68	0.43	6.56	6.99	68.71	14.72	83.43	0.52	90.94
tr7	0.00	1.17	0.51	5.38	12.64	33.80	2.94	2.38	13.52	0.00	2.57	8.34	1.95	10.29	71.18	12.11	83.29	0.66	94.24
tr8	7.69	2.16	2.54	0.00	9.48	15.35	3.91	0.00	14.88	0.00	2.05	12.69	2.66	15.35	64.82	10.70	75.52	0.00	90.87
tr9	0.63	0.42	0.65	0.00	7.71	12.08	3.57	0.58	10.50	2.02	5.58	1.70	2.27	3.97	49.62	35.45	85.07	0.00	89.04
tr10	10.73	2.81	3.04	0.00	8.26	13.59	2.07	0.58	11.81	0.00	2.97	18.11	4.51	22.62	53.72	15.92	69.64	1.08	93.34
lz1	0.00	0.00	19.81	0.39	0.00	5.48	11.59	0.00	0.56	0.00	0.00	26.26	3.16	29.42	32.35	2.97	35.32	0.83	65.57
lz2	0.00	0.88	1.03	0.00	10.07	8.52	9.95	0.58	10.77	5.56	9.42	4.09	3.02	7.11	42.51	29.08	71.59	0.00	78.70
lz3	7.93	0.00	3.25	0.00	14.79	12.54	14.56	0.00	0.00	4.52	6.14	14.05	3.38	17.43	56.26	18.45	74.71	2.07	94.21
lz4	11.26	4.16	3.95	0.00	17.11	8.72	9.46	0.81	9.88	2.67	5.90	20.54	8.29	28.83	48.47	16.25	64.72	0.81	94.16
lz5	0.00	0.61	1.13	0.00	11.22	9.64	11.79	0.00	0.00	4.62	9.80	3.34	3.25	6.59	47.18	26.88	74.06	0.00	80.65
lz6	0.00	0.00	9.15	0.04	15.25	0.00	8.98	11.32	0.00	4.56	8.08	13.86	0.58	14.44	47.17	22.13	69.30	0.00	83.74
lz7	0.00	0.00	0.00	0.00	19.99	14.87	10.30	1.03	17.07	2.82	8.01	0.00	0.46	0.46	66.92	23.07	89.99	1.16	91.61
lz8	0.00	1.78	1.31	3.77	14.34	0.00	11.73	0.00	14.78	5.91	7.43	12.37	1.59	13.96	55.91	23.68	79.59	0.00	93.55
lz9	0.00	0.83	0.55	2.12	14.68	14.03	14.21	0.00	17.17	5.09	7.51	6.61	0.00	6.61	61.05	19.54	80.59	0.00	87.20
lz10	3.11	0.00	0.88	1.15	6.90	13.99	13.12	0.00	9.33	3.26	3.97	6.29	0.00	6.29	50.47	12.29	62.76	1.09	70.14
lz11	0.00	0.00	0.00	7.05	16.99	0.00	12.20	0.46	13.09	0.77	6.34	9.29	0.58	9.87	60.22	22.66	82.88	1.54	94.29
ct1	0.00	0.00	0.00	0.00	10.41	15.18	16.34	0.00	0.00	0.00	2.44	0.00	0.00	0.00	73.23	2.44	75.67	1.87	77.34
ct2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.35	7.91	0.77	9.98	0.00	4.94	0.00	0.00	0.00	43.04	19.30	62.34	0.00	62.34
ct3	0.00	0.00	0.00	5.56	10.05	19.75	19.71	1.90	11.95	7.06	2.47	7.58	1.29	8.87	66.93	17.54	84.47	0.52	93.86
ct4	16.49	3.25	4.76	0.00	10.49	16.21	16.88	2.14	8.79	0.00	2.06	24.50	10.10	34.60	59.61	3.97	63.58	0.00	98.18
ct5	7.89	0.00	2.28	10.65	6.51	12.65	21.59	1.19	7.51	5.44	1.24	25.87	3.32	29.19	52.95	9.18	62.13	0.51	91.83
ct6	1.82	0.00	0.00	2.39	8.64	17.33	18.67	0.00	12.64	11.34	3.34	4.21	0.59	4.80	57.89	25.34	83.23	1.47	89.50
ct7	9.90	1.37	22.65	0.00	16.17	11.11	10.40	0.00	14.85	0.00	5.16	34.63	2.03	36.66	52.53	7.92	60.45	0.00	97.11
ct8	7.03	1.91	2.64	0.00	2.19	16.66	2.36	3.50	5.20	0.55	0.00	11.58	2.92	14.50	62.31	12.16	74.47	0.98	89.95
ct9	0.54	0.00	4.57	0.00	8.60	11.42	9.76	2.27	12.75	5.35	8.29	5.11	2.38	7.49	49.87	30.91	80.78	0.77	89.04
ct10	0.00	2.59	14.83	0.00	10.44	13.27	12.08	1.97	9.28	0.00	3.93	33.89	5.44	39.33	48.48	6.67	55.15	0.00	94.48
ct11	0.00	1.11	8.62	0.00	8.56	13.34	10.80	2.05	12.87	3.22	6.13	16.34	2.41	18.75	51.89	18.68	70.57	0.00	89.32
ct12	0.00	0.00	2.78	0.00	6.94	8.17	8.75	1.69	10.52	3.41	9.25	4.71	0.94	5.65	38.48	34.17	72.65	1.13	79.43
ct13	0.00	3.60	24.94	0.00	16.30	10.72	0.00	0.00	9.30	0.00	5.94	43.66	6.00	49.66	37.37	5.94	43.31	0.00	92.97
cr1	12.82	6.44	2.90	0.00	15.34	30.22	3.11	0.00	18.99	0.00	2.53	22.50	3.07	25.57	68.43	3.44	71.87	0.00	97.44
cr2	9.71	6.95	2.05	0.00	9.25	44.99	3.30	1.23	12.59	0.00	1.44	19.62	1.12	20.74	75.06	4.20	79.26	0.00	100.00
cr3	3.59	3.12	1.05	15.79	0.65	24.98	23.12	2.50	2.85	0.00	0.00	31.76	1.16	32.92	61.86	1.78	63.64	0.00	96.56
cr4	3.72	2.50	0.76	10.52	14.92	32.60	3.24	0.00	23.13	0.00	0.58	19.95	0.28	20.23	75.63	1.47	77.10	0.00	97.33
cr5	3.37	2.97	0.66	0.00	11.40	49.69	4.28	0.00	18.22	0.00	1.79	8.46	0.57	9.03	84.76	2.51	87.27	3.01	99.31
cr6	0.00	0.00	0.00	11.50	6.31	29.76	25.73	1.36	12.07	1.86	0.68	15.87	0.41	16.28	78.46	2.54	81.00	2.17	99.45
cr7	2.70	2.34	0.60	14.91	8.75	24.19	22.30	0.00	0.00	0.00	0.90	24.67	0.98	25.65	70.50	1.51	72.01	0.00	97.66
cr8	8.31	8.49	1.56	0.00	15.06	31.04	3.21	0.0											

Continuação S4

Amostra	2	5	9	11	18	20	24	35	37	43	44	MH	MO	M	SH	SO	S	OU	Total
ca10	1.26	4.88	1.76	0.00	13.74	2.97	19.03	0.00	18.45	0.00	0.98	17.72	0.50	18.22	55.46	1.81	57.27	1.26	76.75
ca11	16.40	10.22	4.10	0.00	0.98	9.91	0.00	0.00	1.47	0.00	0.00	30.72	4.05	34.77	51.89	1.91	53.60	6.84	95.01
ca12	0.00	0.00	0.00	7.18	12.72	14.46	24.84	0.00	20.12	0.00	2.52	9.74	0.00	9.74	73.59	6.65	80.24	0.00	89.98
ca13	9.14	6.42	2.08	0.00	0.00	18.63	9.66	0.00	0.96	1.65	0.00	20.22	1.01	21.23	68.73	1.65	70.38	3.39	95.00
ca14	0.00	0.00	0.00	6.26	12.47	13.67	24.50	0.00	20.26	8.94	1.81	8.48	0.71	9.19	72.34	12.55	84.89	3.62	97.70
ca15	3.97	0.44	0.91	6.62	11.75	23.34	21.34	0.00	18.19	0.00	1.03	13.98	0.00	13.98	75.99	4.25	80.24	0.00	94.22
ca16	18.03	0.00	5.41	0.00	8.31	20.01	10.44	2.78	0.00	2.42	1.70	28.88	1.54	30.42	47.34	5.95	53.29	0.00	83.71
ca17	12.37	0.00	2.99	0.00	0.00	11.89	8.12	0.00	1.28	0.00	0.00	22.18	0.87	23.05	53.79	9.28	63.07	0.00	86.12
ca18	12.01	0.00	2.46	0.00	9.42	17.65	29.50	0.00	11.85	0.00	1.58	21.61	0.57	22.18	68.42	2.36	70.78	1.53	94.49
ca19	4.57	2.08	1.41	0.00	12.90	18.96	30.35	0.00	11.65	4.58	1.00	8.57	0.69	9.26	75.38	8.70	84.08	1.70	95.04
ca20	4.56	2.92	1.14	7.89	1.42	30.43	1.73	5.84	5.70	0.00	0.00	20.39	1.07	21.46	60.90	1.38	62.28	8.86	92.60
ca21	8.68	7.25	2.03	0.00	8.64	22.35	32.14	0.00	10.34	1.62	0.77	21.23	1.08	22.31	73.47	2.89	76.36	1.06	99.73
ca22	12.63	7.77	2.97	0.00	14.03	32.73	2.87	0.00	13.29	0.00	0.00	25.28	0.98	26.26	64.26	2.10	66.36	4.88	97.50
ca23	3.76	1.42	1.55	0.00	1.13	25.59	15.78	9.05	4.00	1.00	0.00	6.73	1.38	8.11	79.09	5.70	84.79	0.00	92.90

S5. Matriz dos constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos normalizados.

Amostras	Triciclano	Canfano	Mircano	Mentano	Aromadendrano	Copaano	Cariofilano	Guaiano	Humulano	Cadinano	Eudesmano	Out-nucleos
go1	0.00	8.25	3.74	2.57	0.00	0.25	20.14	3.08	16.61	5.34	32.48	7.56
go2	10.56	0.00	12.91	3.18	13.43	0.00	23.37	5.53	18.99	0.00	9.20	2.62
go3	4.13	0.52	1.11	0.93	0.00	0.00	24.55	4.87	24.01	5.96	28.05	5.87
go4	1.24	0.00	5.87	7.60	0.00	8.30	16.93	0.77	35.88	23.43	0.00	0.00
go5	0.00	0.00	0.98	0.00	0.00	40.69	27.14	0.00	2.64	26.62	0.00	1.93
go6	6.06	7.12	4.50	1.12	0.00	0.00	6.85	0.00	9.78	2.78	44.44	17.35
go7	0.00	0.00	0.00	26.71	0.00	1.74	17.55	2.11	28.70	3.54	17.40	2.22
go8	0.00	1.51	1.54	1.78	0.00	12.41	15.34	0.00	19.59	32.25	0.00	15.57
go9	0.00	5.71	5.13	3.83	0.00	0.00	15.21	2.01	14.32	39.98	0.00	13.81
go10	0.00	9.50	0.95	2.74	0.00	0.00	13.94	2.98	16.63	33.65	0.00	19.61
go11	23.54	19.79	2.79	5.81	0.00	0.00	10.87	0.86	11.39	19.28	0.00	5.69
cl1	12.91	3.43	1.31	7.29	0.00	14.81	11.35	0.00	23.01	4.72	15.93	3.28
cl2	8.04	0.00	2.00	6.07	0.00	2.28	22.23	2.98	23.75	21.29	0.00	11.37
cl3	12.58	3.96	0.46	7.23	0.00	17.92	16.26	0.00	5.08	29.69	0.00	5.09
cl4	0.00	0.92	0.00	3.42	0.00	12.77	28.23	0.00	3.56	39.03	0.00	12.07
cl5	0.00	3.20	0.00	6.12	1.96	19.61	24.55	0.00	2.87	30.29	0.00	10.02
cl6	0.00	0.00	3.32	0.00	0.00	13.66	33.05	1.19	4.13	37.86	0.00	6.78
cl7	0.00	1.40	0.00	3.26	0.00	17.08	29.50	0.00	4.27	37.83	0.00	6.66
cl8	0.00	0.00	11.21	0.00	0.00	14.27	42.15	1.30	3.23	25.43	0.00	2.41
cl9	0.00	1.71	12.01	0.00	0.00	18.99	15.99	0.00	24.76	25.98	0.56	0.00
cl10	0.00	2.48	16.95	4.79	0.00	14.76	25.50	1.32	3.66	24.00	0.00	6.53
cl11	2.72	0.00	0.00	3.09	0.00	17.34	20.01	1.46	2.25	42.57	0.00	10.57
tr1	0.00	0.00	4.15	0.00	0.00	11.16	18.98	0.00	37.23	22.98	0.00	5.50
tr2	0.00	0.00	2.26	0.00	0.00	24.96	17.50	0.00	1.60	34.83	0.00	18.86
tr3	0.00	0.00	14.21	1.92	0.00	9.15	11.02	16.01	26.28	3.62	14.38	3.41
tr4	0.00	0.00	14.27	0.68	0.00	1.45	22.92	2.14	36.78	15.04	0.00	6.72
tr5	1.50	0.78	8.76	4.93	0.00	11.61	22.80	0.00	26.17	20.66	0.00	2.78
tr6	0.00	0.00	2.55	5.14	0.00	15.10	42.82	0.00	3.32	26.25	0.00	4.83
tr7	0.00	1.24	9.14	0.54	0.00	13.41	41.37	1.72	3.12	25.67	0.00	3.79
tr8	8.46	3.00	0.00	4.71	0.00	10.43	22.92	14.74	4.30	22.53	6.89	1.30
tr9	0.71	1.00	0.40	2.09	0.00	8.66	32.09	8.28	6.28	26.80	8.02	5.42
tr10	11.50	4.06	0.65	6.29	0.00	8.85	22.40	11.47	2.22	20.62	5.86	4.34
tr11	0.00	0.00	5.41	34.42	14.40	0.00	12.89	3.80	17.68	0.85	4.25	6.30
lz2	0.00	3.20	0.86	1.31	0.00	12.90	11.87	0.00	19.71	33.58	0.00	15.78
lz3	5.42	0.00	4.16	5.32	0.00	15.70	15.74	0.00	20.25	21.77	0.00	8.04
lz4	11.96	6.48	4.12	8.88	0.00	18.17	10.88	0.00	12.88	21.46	0.00	5.99
lz5	0.00	1.79	0.79	3.61	0.00	13.91	12.93	0.00	20.35	33.91	0.00	12.71
lz6	0.00	0.00	4.73	10.93	0.00	18.21	13.29	0.00	16.17	28.61	0.00	8.06
lz7	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	21.82	20.09	0.00	14.32	35.31	0.00	7.96
lz8	0.00	1.90	6.03	2.51	0.00	15.33	17.82	0.00	18.86	26.87	1.45	9.23
lz9	0.00	0.95	3.35	0.63	0.00	16.83	18.78	0.00	22.13	29.40	0.00	7.91
lz10	4.43	0.00	3.28	1.25	8.70	9.84	21.73	1.47	23.35	18.96	0.00	6.99
lz11	0.00	0.00	10.47	0.00	0.00	18.02	36.89	0.00	3.15	26.76	0.00	4.72
ct1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.46	19.63	19.59	21.13	24.04	0.00	2.16
ct2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	21.75	16.78	12.69	32.92	14.00	1.86
ct3	0.00	0.00	9.00	0.45	0.00	10.71	25.13	1.18	28.52	21.11	0.00	3.90
ct4	16.80	5.06	0.00	12.43	0.00	10.68	16.51	0.79	17.19	16.48	0.00	3.10
ct5	8.59	0.00	18.82	4.38	0.00	7.09	13.78	1.46	29.43	13.18	0.00	3.28
ct6	2.03	0.00	2.67	0.66	0.00	9.65	26.63	0.00	33.53	18.54	0.00	6.29
ct7	10.19	1.41	0.00	26.15	0.00	16.65	11.44	0.00	10.71	20.61	0.00	2.84
ct8	7.82	3.59	0.00	3.91	0.00	2.43	23.30	16.91	3.24	17.43	13.80	6.77
ct9	0.61	0.88	0.00	6.93	0.00	9.66	17.37	1.02	16.97	33.28	0.00	13.29
ct10	0.00	4.50	0.00	19.70	0.00	11.05	14.05	0.00	12.79	17.59	0.00	20.33
ct11	0.00	2.12	0.00	11.48	0.00	9.58	14.94	3.13	15.70	27.52	0.00	15.54
ct12	0.00	0.00	0.00	4.68	0.00	8.74	15.13	0.00	15.31	34.79	0.00	21.35
ct13	0.00	5.82	0.00	31.33	0.00	17.53	11.53	0.00	0.00	17.52	0.00	15.74
cr1	13.16	6.61	0.77	5.36	0.00	15.74	31.01	0.00	3.19	22.88	0.00	0.93
cr2	9.71	6.95	0.91	3.17	0.00	9.25	47.75	0.84	3.30	17.21	0.00	0.91
cr3	3.72	3.23	25.38	1.76	0.00	0.67	27.71	2.28	23.94	8.94	0.00	2.36
cr4	3.82	2.57	13.61	0.78	0.00	15.33	33.49	0.00	3.33	26.15	0.00	0.91
cr5	3.39	2.99	2.04	0.66	0.00	11.48	50.04	0.00	4.31	21.33	0.00	3.76
cr6	0.00	0.00	16.37	0.00	0.00	6.34	29.92	0.98	27.74	15.47	0.00	3.18
cr7	2.76	2.40	20.11	0.99	0.00	8.96	24.77	0.00	22.83	16.55	0.00	0.62
cr8	8.32	8.50	2.99	2.80	0.00	15.07	33.07	0.00	3.21	25.12	0.00	0.91
cr9	2.96	2.45	30.84	0.90	0.00	8.18	17.72	0.00	19.12	14.31	0.00	3.53
cr10	4.73	4.09	2.23	2.01	0.00	0.31	78.37	0.00	4.68	1.50	0.00	2.07
cr11	4.04	3.94	26.18	1.14	0.00	9.83	34.34	0.00	3.02	14.42	0.00	3.09
cr12	5.66	7.02	19.32	1.46	0.00	0.56	28.37	2.20	0.40	29.62	0.00	5.38
cr13	0.00	0.00	51.67	0.00	0.00	0.50	33.30	2.18	1.77	6.24	0.00	4.34
cr14	1.27	0.00	6.18	22.01	0.00	12.84	15.69	0.00	18.69	21.43	0.00	1.87
cr15	5.03	3.94	0.50	0.91	0.00	8.36	31.72	19.39	3.91	16.51	7.89	1.83
cr16	0.00	0.00	3.20	0.00	0.00	1.08	16.17	0.00	0.00	2.67	67.14	9.75
cr17	2.10	0.00	1.46	44.59	0.00	0.00	10.78	15.13	1.19	16.66	3.09	5.01
cr18	0.00	0.00	1.77	0.54	0.00	1.14	59.95	1.61	4.77	26.24	0.00	3.98
sc1	12.03</											

Continuação S5

Amostras	Triciclano	Canfano	Mircano	Mentano	Aromadendrano	Copano	Caridifilano	Guaiano	Humulano	Cadinano	Eudesmano	Out-nucleos
sc14	13.21	10.45	1.95	5.42	0.00	6.33	26.78	15.65	3.04	10.21	3.80	3.16
sc15	6.41	3.53	0.57	2.64	0.00	11.34	51.68	0.00	3.44	19.69	0.00	0.71
sc16	12.12	12.30	10.22	24.70	0.00	0.00	0.00	0.00	5.43	4.50	29.69	1.05
sc17	12.42	11.90	1.50	22.46	0.00	0.00	25.24	0.00	0.00	4.48	20.94	1.05
sc18	11.15	8.46	0.00	3.54	0.00	6.79	9.26	0.98	8.71	43.48	0.00	7.62
sc19	9.83	11.25	12.24	13.17	10.99	0.00	0.00	4.12	20.65	11.38	4.26	2.10
sc20	20.17	19.99	0.00	4.86	12.27	0.00	32.98	4.14	1.68	0.00	3.90	0.00
sc21	3.65	2.01	6.68	0.74	0.00	0.40	50.22	1.68	2.59	24.76	0.00	7.27
sc22	4.35	3.61	35.16	0.75	0.00	6.03	19.39	0.85	16.49	12.45	0.00	0.92
sc23	10.01	7.90	1.01	5.83	0.00	7.62	33.86	14.95	3.77	13.70	1.35	0.00
sc24	4.15	4.75	25.98	0.81	0.00	5.80	19.54	1.27	1.52	32.57	0.00	3.62
ca1	5.78	4.18	10.18	1.33	0.00	14.32	15.79	0.00	13.69	26.47	0.00	8.26
ca2	0.00	2.86	1.78	1.27	0.00	17.75	35.91	0.00	4.61	30.35	0.00	5.46
ca3	10.57	4.51	1.65	4.30	0.00	54.34	2.14	1.47	3.66	15.72	0.00	1.62
ca4	10.87	7.19	0.58	3.72	0.00	8.40	46.12	1.17	2.84	17.76	0.00	1.35
ca5	4.85	3.40	12.57	1.61	0.00	7.04	21.29	13.73	12.83	12.60	3.19	6.90
ca6	3.80	2.06	0.00	3.33	0.00	7.15	30.08	11.22	4.92	17.96	6.89	12.59
ca7	4.63	2.86	5.22	2.21	0.00	5.47	32.35	12.02	3.22	12.41	5.88	13.72
ca8	12.09	5.88	0.90	2.89	0.00	13.71	43.42	0.00	3.51	16.16	0.00	1.45
ca9	5.21	2.21	0.00	1.57	0.00	15.21	25.33	0.00	20.82	27.37	0.00	2.27
ca10	1.64	6.36	4.07	2.94	0.00	17.90	3.87	0.00	24.79	26.97	0.00	11.45
ca11	17.26	10.76	0.00	8.58	0.00	1.03	10.43	0.00	0.00	1.55	41.40	9.00
ca12	0.00	0.00	10.82	0.00	0.00	14.14	16.07	0.00	27.61	26.77	0.00	4.59
ca13	9.62	6.76	2.72	3.25	0.00	0.00	19.61	0.00	11.91	1.01	39.74	5.39
ca14	0.00	0.00	9.41	0.00	0.00	12.76	13.99	0.00	34.23	24.06	0.00	5.55
ca15	4.21	0.47	9.19	0.97	0.00	12.47	27.43	0.00	22.65	21.85	0.00	0.76
ca16	21.54	0.00	6.50	8.30	0.00	9.93	23.90	2.22	15.36	7.76	0.00	4.48
ca17	14.36	0.00	7.92	4.48	0.00	0.00	23.71	0.00	9.43	1.49	35.53	3.08
ca18	12.71	0.60	7.56	2.60	0.00	9.97	18.68	0.00	31.22	14.21	0.00	2.44
ca19	4.81	2.19	0.54	2.21	0.00	13.57	19.95	0.00	36.75	15.58	0.00	4.40
ca20	4.92	3.15	13.87	1.23	0.00	1.53	32.86	4.49	1.87	21.72	0.00	14.35
ca21	8.70	7.27	3.82	2.58	0.00	8.66	22.41	0.00	33.85	11.14	0.00	1.56
ca22	12.95	7.97	1.66	4.05	0.00	14.39	33.57	0.00	2.94	16.32	0.00	5.85
ca23	4.05	1.53	0.00	3.15	0.00	1.22	27.55	13.93	18.06	16.44	7.70	6.38

S6. Matriz dos nutrientes foliares, composição e textura dos solos (matriz ambiental)

Amostra	Foliar											Solo																	
	N	P	K	Ca	Mg	S	Na	Cuf	Fef	Mn	Zn	O	K	Ca	Mg	Al	H+Al	MO	pH	CTC	SaIBa	SaAl	Zn	Cu	Fe	Mn	Argila	Areia	Silte
go1	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go2	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go3	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go4	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go5	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go6	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go7	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go8	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go9	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go10	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
go11	20.4	1.1	5.7	14.3	2.9	1.2	222.0	7.0	181.2	296.0	16.0	1.3	78.3	0.7	0.4	0.3	4.4	28.9	5.0	5.7	22.5	20.2	5.2	3.8	49.8	15.1	355.0	538.5	106.5
cl1	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl2	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl3	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl4	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl5	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl6	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl7	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl8	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl9	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl10	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
cl11	18.0	0.9	6.0	6.4	2.3	1.0	180.0	8.0	95.0	453.0	19.0	0.7	97.5	0.6	0.4	0.2	2.6	18.3	5.3	3.8	27.3	19.7	1.5	1.5	42.0	7.1	245.0	682.5	72.5
tr1	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.9	29.5	11.7	445.0	435.0	120.0
tr2	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.9	29.5	11.7	445.0	435.0	120.0
tr3	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.9	29.5	11.7	445.0	435.0	120.0
tr4	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.9	29.5	11.7	445.0	435.0	120.0
tr5	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.9	29.5	11.7	445.0	435.0	120.0
tr6	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.9	29.5	11.7	445.0	435.0	120.0
tr7	17.0	0.9	4.6	8.7	2.7	1.2	200.0	6.0	75.0	334.0	16.0	1.4	98.0	0.5	0.3	0.3	3.9	21.0	5.1	4.9	21.3	22.5	1.0	2.					

entre as variáveis e os eixos da RDA

NAME	Correlação com eixos			Biplot pesos		
	AX1	AX2	AX3	AX1	AX2	AX3
Nf	0.4148	0.3568	-0.0869	0.5063	0.5449	-0.1417
Pf	-0.2757	0.3956	0.1611	-0.3365	0.6041	0.2629
Kf	-0.2045	0.2503	0.0903	-0.2496	0.3823	0.1474
Caf	-0.3901	0.4323	0.2262	-0.4762	0.6602	0.3691
Mgf	-0.2514	0.4550	0.2842	-0.3069	0.6948	0.4638
Sf	0.1746	0.2095	-0.1017	0.2131	0.3199	-0.1659
Naf	0.2128	0.1400	-0.1741	0.2597	0.2138	-0.2842
Cuf	0.3310	0.0305	-0.2828	0.4040	0.0465	-0.4614
Fef	0.0272	0.5897	-0.2040	0.0332	0.9005	-0.3330
Mnf	0.5727	-0.0414	-0.1610	0.6991	-0.0632	-0.2628
Znf	0.6457	-0.0644	-0.2708	0.7881	-0.0983	-0.4420
Ps	-0.1029	0.1565	0.2913	-0.1256	0.2390	0.4753
Ks	-0.0222	0.0970	0.3063	-0.0271	0.1481	0.4999
Cas	-0.4439	0.1248	0.1893	-0.5418	0.1906	0.3090
Mgs	-0.5286	0.1861	0.1206	-0.6453	0.2841	0.1968
Als	0.1962	-0.0704	-0.1413	0.2394	-0.1075	-0.2306
H+Als	-0.0839	0.0294	-0.1513	-0.1024	0.0450	-0.2468
MOs	-0.3371	-0.0725	-0.2064	-0.4115	-0.1107	-0.3368
pHs	0.1578	-0.0777	0.3102	0.1926	-0.1186	0.5063
CTCs	-0.1744	0.0744	-0.1080	-0.2129	0.1136	-0.1762
Satba	-0.2551	0.0841	0.2318	-0.3114	0.1284	0.3783
SatAls	0.2812	-0.1606	-0.1608	0.3432	-0.2452	-0.2624
Zns	-0.5739	0.3396	0.0981	-0.7005	0.5185	0.1601

Cus	-0.2824	0.4418	0.2508	-0.3448	0.6747	0.4092
Fes	-0.5289	0.1913	0.0790	-0.6456	0.2921	0.1290
Mns	-0.2979	0.4218	0.2603	-0.3636	0.6441	0.4247
Argila	-0.1356	-0.0665	-0.0728	-0.1656	-0.1016	-0.1188
Areia	0.1250	0.1019	0.1026	0.1526	0.1557	0.1674
Silte	-0.3056	-0.1142	-0.1100	-0.3731	-0.1744	-0.1795

S8. Análise de Discriminante Canônico

121 Observations 120 DF Total
 5 Variables 118 DF Within Classes
 3 Classes 2 DF Between Classes

	Adjusted Canonical Correlation	Approx Canonical Correlation	Squared Standard Error	Canonical Correlation
1	0.969632	0.968529	0.005460	0.940186
2	0.787213	0.782888	0.034716	0.619705

Eigenvalues of $INV(E)*H = CanRsq/(1-CanRsq)$

	Eigenvalue	Difference	Proportion	Cumulative
1	15.7185	14.0890	0.9061	0.9061
2	1.6295	.	0.0939	1.0000

Likelihood

	Ratio	Approx F	Num DF	Den DF	Pr > F
1	0.02274695	128.3726	10	228	0.0001
2	0.38029530	46.8491	4	115	0.0001

Classification matrix (cases in row categories classified into columns)

	1.0000	2.0000	3.0000	%correct
1.0000	35	0	0	100
2.0000	0	41	0	100
3.0000	0	0	45	100
Total	35	41	45	100

Jackknifed classification matrix

	1.0000	2.0000	3.0000	%correct
1.0000	35	0	0	100
2.0000	0	41	0	100
3.0000	0	3	42	93
Total	35	44	42	98

Canonical discriminant functions -- standardized by within variances

	1	2
VAR00035	0.0599	-0.0071
VAR00053	1.2691	-0.0918
VAR00059	0.6540	-0.9364
VAR00020	-0.2817	0.1806
VAR00046	0.1097	-0.4551

Canonical scores of group means

	1	2
1.0000	5.8717	0.5750
2.0000	-3.8053	-1.2648
3.0000	-1.0998	-1.5995

S9. Particionamento da Variância

S9.1. [A+B+C]:

**** Summary (999 permutations under reduced model)****

Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.083	0.033	0.017	0.013	1.000
Species-environment correlations:	0.778	0.653	0.600	0.465	
Cumulative percentage variance					
of species data:	8.3	11.6	13.3	14.6	
of species-environment relation:	51.8	72.1	82.4	90.6	
Sum of all eigenvalues			1.000		
Sum of all canonical eigenvalues			0.161		

Test of significance of first canonical axis: eigenvalue = 0.083

F-ratio = 10.376

P-value = 0.0010

Test of significance of all canonical axes: Trace = 0.161

F-ratio = 3.651

P-value = 0.0010

S9.2. [A]:

**** Summary (999 permutations under reduced model)****

Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.044	0.018	0.012	0.007	1.000
Species-environment correlations:	0.652	0.570	0.474	0.419	
Cumulative percentage variance of species data:	4.7	6.7	8.0	8.8	
of species-environment relation:	53.9	76.1	91.4	100.0	
Sum of all eigenvalues					0.920
Sum of all canonical eigenvalues					0.081

The sum of all eigenvalues is after fitting covariables. Percentages are taken with respect to residual variances

i.e. variances after fitting covariables

Test of significance of first canonical axis: eigenvalue = 0.044

F-ratio = 5.666

P-value = 0.0010

Test of significance of all canonical axes: Trace = 0.081

F-ratio = 2.742

P-value = 0.0010

S9.3. [A+B]:

**** Summary (999 permutations under reduced model)****

Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.038	0.025	0.011	0.009	1.000
Species-environment correlations:	0.561	0.582	0.429	0.457	
Cumulative percentage variance of species data:	3.8	6.3	7.4	8.3	
of species-environment relation:	45.9	75.8	88.9	100.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.083

Test of significance of first canonical axis: eigenvalue = 0.038

F-ratio = 4.588

P-value = 0.0010

Test of significance of all canonical axes: Trace = 0.083

F-ratio = 2.621

P-value = 0.0010

S9.4. [C]:

**** Summary (999 permutations under reduced model)****

Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.065	0.014	0.117	0.080	1.000
Species-environment correlations:	0.765	0.494	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance					
of species data:	7.0	8.5	21.3	30.1	
of species-environment relation:	82.4	100.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues				0.917	
Sum of all canonical eigenvalues				0.078	

The sum of all eigenvalues is after fitting covariables. Percentages are taken with respect to residual variances
i.e. variances after fitting covariables

Test of significance of first canonical axis: eigenvalue = 0.065

F-ratio = 8.626

P-value = 0.0010

Test of significance of all canonical axes: Trace= 0.078

F-ratio = 5.321

P-value = 0.0010

S9.5. [B+C]:

**** Summary (999 permutations under reduced model)****

Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues:	0.060	0.021	0.129	0.099	1.000
Species-environment correlations:	0.705	0.511	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance					
of species data :	6.0	8.0	21.0	30.8	
of species-environment relation:	74.3	100.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues				1.000	
Sum of all canonical eigenvalues				0.080	

Test of significance of first canonical axis: eigenvalue = 0.060

F-ratio = 7.510

P-value = 0.0010

Test of significance of all canonical axes: Trace = 0.080

F-ratio = 5.165

P-value = 0.0010

S10. Autocorrelograma multivariado de Mantel

S10.1. Autocorrelograma com os constituintes químicos dos óleos essenciais.

Data distance matrix: Distance Matrix óleo x Distance Matrix geo

Excluding largest class

Permutation tests based on 999 permutations

Class	Min	Probability		Pairs	Mantel r	Asymp	Perm*
		Max					
1	0,00000	13,03840		518	0,09773	0,00000	0,00100
2	13,03840	17746,74644		518	0,07924	0,00000	0,00100
3	17746,74644	37268,36242		519	0,06733	0,00176	0,00600
4	37268,36242	54192,32076		518	0,14706	0,00000	0,00100
5	54192,32076	70374,55076		519	0,07032	0,00121	0,00800
6	70374,55076	109702,39438		518	0,07295	0,00002	0,00100
7	109702,39438	129990,73001		519	0,02635	0,12051	0,33700
8	129990,73001	154596,80236		519	0,03244	0,02002	0,08700
9	154596,80236	177095,51106		518	0,01699	0,08786	0,28600
10	177095,51106	179367,81991		519	-0,00758	0,84563	0,62300
11	179367,81991	190132,02481		518	0,03231	0,00985	0,00700
12	190132,02481	192330,71034		519	-0,04320	0,00639	0,00100
13	192330,71034	208016,48826		517	0,00314	0,76262	0,59800

*Correção de Bonferroni para: $p = 0.05/14$ classes = $p < 0.0036$

S10.2. Teste generalizado de Mantel

Matrix 1: Distance Matrix oleo

Matrix 2: Distance Matrix geo

Matrices are 121 x 121

Observed Z = 61152343775,64014

Correlation = 0,13233

t = 5,27970

Right-tailed p = 0,00000

Permutation Results (9999 permutations)

of Permutations < Observed = 9999

of Permutations > Observed = 0

of Permutations = Observed = 1

Right-tailed p = 0,00010

S10.3. Autocorrelograma com os constituintes químicos rearranjados de acordo com os esqueletos carbônicos.

Data distance matrix: Distance Matrix esquel

Distance matrix: Distance Matrix geo x DistClass geo

Permutation tests based on 999 permutations

Class	Min	Max	Probability			
			Pairs	Mantel r	Asymp	Perm
1	0,00000	13,03840	518	0,06447	0,00125	0,00100
2	13,03840	17746,74644	518	0,02365	0,13391	0,17400
3	17746,74644	37268,36242	519	0,02091	0,32481	0,38600
4	37268,36242	54192,32076	518	0,08413	0,00398	0,00200
5	54192,32076	70374,55076	519	0,01580	0,37277	0,55300
6	70374,55076	109702,39438	518	0,03550	0,05187	0,07300
7	109702,39438	129990,73001	519	-0,00345	0,87449	0,89600
8	129990,73001	154596,80236	519	0,03032	0,09226	0,10200
9	154596,80236	177095,51106	518	0,00921	0,37973	0,59600
10	177095,51106	179367,81991	519	-0,01059	0,79224	0,51500
11	179367,81991	190132,02481	518	0,02452	0,08003	0,05100
12	190132,02481	192330,71034	519	-0,02404	0,14251	0,04000
13	192330,71034	208016,48826	517	0,00371	0,63611	0,56000

S10.4. Teste generalizado de Mantel

Matrix 1: Distance Matrix esquel

Matrix 2: Distance Matrix geo

Matrices are 121 x 121

Observed Z = 64184795985,29298,

Correlation = 0,06015,

t = 2,35080,

Right-tailed p = 0,00937

Permutation Results (9999 permutations)

of Permutations < Observed = 993,

of Permutations > Observed = 6,

of Permutations = Observed = 1,

Right-tailed p = 0,00700.

S11. Esquema para utilização do programa GS+

1º passo: Abrir o programa GS+ e importar os dados das coordenadas geográficas. Na coluna 1 os valores de East (m) e na coluna 2 os valores North (m), e na coluna z os dados do 1º eixo da RDA.

2º passo: No menu principal, abrir o resumo estatístico (Data Summary), observar a distribuição de frequência, a média, o desvio padrão, variância, min., max. das amostras. Em caso de valores extremos (devido à populações diferentes ou erros amostrais) selecionar os outliers e marcá-los (marke missing) e depois retirá-los (Rebuld) do modelo. Esta análise preliminar é de suma importância para verificar a distribuição dos dados na área e é um indicativo da presença ou ausência de tendências nos dados.

3º passo: Proceder à modelagem do semivariograma, ícone no menu principal, e escolher o modelo que melhor ajusta aos dados, o patamar do modelo deve estar próximo a variância amostral dos dados.

4º passo: Estimar e mapear a estrutura espacial (interpolação por krigagem). O mapa deve fornecer a melhor estimativa não viciada para propriedades que variam no espaço

6º passo: Para visualizar a validação cruzada, clique no Cross-Variate Regression, no menu principal, observar o coeficiente de regressão (próximo de 1) e o intercepto do eixo y (próximo de 0).