



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DO TEOR DE
FENÓIS EM FOLHAS E FRUTOS DA JABUTICABEIRA (*Myrciaria cauliflora*)**

ALESSANDRA RODRIGUES DUARTE

**Goiânia
2012**

VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DO TEOR DE FENÓIS EM
FOLHAS E FRUTOS DA JABUTICABEIRA (*Myrciaria cauliflora*)

ALESSANDRA RODRIGUES DUARTE

Tese apresentada no Programa de Doutorado em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Química.

Área de concentração: Química de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri.

Goiânia

2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tornar possível a realização e concretização de todo trabalho. Ao meu esposo Hugo Meira Boaretti por todo amor, apoio e compreensão. Aos meus pais Marilda Helena Duarte da Silveira e Sidinei Rodrigues da Silveira e aos meus irmãos por todo amor e apoio;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri, por todos os ensinamentos, paciência, confiança e dedicação;

À Prof. Dr^a. Suzana da Costa Santos, por todos os ensinamentos e apoio durante o doutorado;

A todos os colegas do Instituto de Química, especialmente a Gilmara A. C. Fortes, Deomar Plácido, Julierme Gonçalves por toda ajuda técnica e por toda contribuição nas discussões sobre o trabalho;

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da UFG, por todo apoio e conhecimento transferido. A Prof. Dr^a. Lucília Kato pela orientação no Estágio à docência;

Aos proprietários da Fazenda Jabuticabal pela gentileza e concessão das amostras que possibilitaram a realização deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa de estudos concedida e a Universidade Federal de Goiás;

À Banca Examinadora, pela revisão e sugestões que aprimoraram o trabalho;

Aos gerentes da Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos de Goiás, Joseirton Nogueira Lima e Wendel José, pela compreensão e apoio;

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
INTRODUÇÃO	1
1. <i>Myrciaria cauliflora</i> (Mart.) O. Berg	1
2. Compostos fenólicos	3
3. Óleos essenciais	7
4. Óleos essenciais e fragrâncias	10
5. Relação solo-planta	11
CAPÍTULO 1 Variabilidade dos constituintes químicos dos óleos essenciais e do teor de fenóis das folhas da Jabuticabeira (<i>M. cauliflora</i>)	15
1. OBJETIVO	16
2. MATERIAIS E MÉTODOS	16
2.1. Material botânico	16
2.2. Extratos	16
2.2.1. Extração dos fenóis das folhas de Jabuticabeira	16
2.2.2. Extração dos óleos essenciais das folhas de Jabuticabeira	16
2.3. Quantificação de fenóis das folhas de Jabuticabeira	17
2.3.1. Quantificação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu	17
2.3.2. Quantificação de taninos pelo método de Hagerman-Butler	17
2.4. Análise química dos óleos essenciais das folhas de Jabuticabeira	17
2.5. Análise química do solo e análise química foliar	18
2.6. Análise estatística	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4. CONCLUSÕES	27
CAPÍTULO 2 Influência de fatores espaciais, edáficos e genético no teor de fenóis e nos óleos essenciais dos frutos da Jabuticabeira (<i>M. cauliflora</i>).	29
1. OBJETIVO	30
2. MATERIAIS E MÉTODOS	30

2.1. Material botânico	30
2.2. Extratos	30
2.2.1. Extração dos fenóis dos frutos de Jabuticabeira	30
2.2.2. Extração dos óleos essenciais dos frutos de Jabuticabeira	30
2.3. Quantificação dos compostos fenólicos dos frutos de Jabuticabeira	30
2.3.1. Quantificação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu	30
2.3.2. Quantificação de taninos pelo método de Hagerman-Butler	31
2.3.3. Quantificação de antocianinas totais monoméricas pelo método do pH diferencial	31
2.4. Análise química dos óleos essenciais dos frutos de Jabuticabeira	32
2.5. Determinação do teor de açúcares redutores do fruto da Jabuticabeira	32
2.6. Determinação da acidez (titulável) do fruto da Jabuticabeira	33
2.7. Análise estatística	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4. CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICES	56
Apêndice 1 – Características químicas dos solos nos sítios de amostragem da <i>M. cauliflora</i> .	57
Apêndice 2 – Características químicas das folhas de <i>M. cauliflora</i> nos sítios de amostragem.	57
Apêndice 3 – Matriz espécie. Constituintes dos óleos essenciais e teores de fenóis totais e taninos das folhas de <i>M. cauliflora</i> coletadas em seis sítios de amostragem.	58
Apêndice 4 – Matriz ambiente. Propriedades físico-químicas dos solos dos sítios de amostragem e da análise química das folhas (f) de <i>M. cauliflora</i>	60
Apêndice 5 – Estrutura dos 28 constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de <i>Myrciaria cauliflora</i> .	62
Apêndice 6 – Sumário da Análise de discriminante Canônico de amostras de folhas de <i>M. cauliflora</i> dos seis sítios de amostragens.	62
Apêndice 7 – Matriz espécie. Constituintes dos óleos essenciais, teores de fenólicos, açúcares redutores e acidez dos frutos de <i>M. cauliflora</i>	63

nos sítios de amostragem.	
Apêndice 8 – Matriz ambiente. Propriedades físico-químicas dos solos dos sítios de amostragem dos frutos de <i>M. cauliflora</i> .	65
Apêndice 9 – Estrutura dos 27 constituintes químicos identificados nos óleos essenciais dos frutos de <i>Myrciaria cauliflora</i> .	67
Apêndice 10 – Sumário da Análise de discriminante canônico de amostras dos frutos de <i>M. cauliflora</i> dos seis sítios de amostragem.	67
Apêndice 11 – Porcentagem dos constituintes do óleo essencial dos frutos de <i>M. cauliflora</i> de acordo com os esqueletos carbônicos.	68
Apêndice 12 – Análise de ordenação via RDA utilizando os constituintes do óleo essencial dos frutos agrupados por esqueletos carbônicos.	68
Apêndice 13 – Porcentagens dos constituintes do óleo essencial, teor de fenóis, açúcares redutores e acidez do fruto de <i>M. cauliflora</i> de acordo com os grupamentos dos sítios de amostragem.	69
Apêndice 14 – Porcentagens dos constituintes do óleo essencial dos frutos de <i>M. cauliflora</i> , agrupados por esqueletos carbônicos, nos grupamentos dos sítios de amostragem.	70
Apêndice 15 - Cromatogramas Total de Íons (TIC) de amostras dos óleos essenciais de folhas de <i>M. cauliflora</i> e espectros de massas dos constituintes majoritários do óleo.	70
Apêndice 16 - Cromatogramas Total de Íons (TIC) de amostras dos óleos essenciais dos frutos de <i>M. cauliflora</i> .	72

RESUMO

O conteúdo foliar de fenóis totais e de taninos, bem como a composição química dos óleos essenciais em populações de *Myrciaria cauliflora* cultivadas em seis sítios de amostragem indicou a presença de quatro grupos de amostras de acordo com as características químicas da folha e do solo de cultivo. O grupo I incluiu as amostras oriundas do solo arenoso (S1), caracterizado pela maior e menor percentagem de γ -eudesmol (11,55%) e germacreno D (20,48%), respectivamente, e pelo alto conteúdo de fenóis totais (136,68 mg/g) e taninos (60,72 mg/g). O grupo II, rico em elemol (4,61%), incluiu as amostras cultivadas nos solos franco-arenoso-argilosos (S2, S3 e S6), enquanto que as amostras dos solos argilosos S4 (grupo III) e S5 (grupo IV) apresentaram as mais elevadas percentagens de germacreno D (III: 27,20%; IV: 26,83%) e os mais baixos teores de elemol (2,12%; 2,55%), fenóis totais (79,69 e 111,77 mg/g) e taninos (34,04 e 44,51 mg/g). A análise de redundância canônica (RDA) revelou como o balanço de nutrientes do solo e das folhas influenciou a distribuição dos constituintes dos óleos essenciais nos diferentes agrupamentos. A variação química nos óleos essenciais parece ser determinada por fatores ambientais. Adicionalmente, a composição química dos óleos essenciais e o conteúdo em fenóis (fenóis totais, taninos e antocianinas), bem como os teores de açúcares redutores e da acidez dos frutos de *M. cauliflora* também foram obtidos das plantas cultivadas sob o mesmo regime de solo. A RDA e a análise de discriminante indicaram a presença de quatro grupos de amostras, tendo o α -copaeno e os teores de taninos, açúcares redutores e da acidez do fruto como variáveis preditoras. O particionamento da variância, conduzida por meio de RDAs parciais, revelou uma forte influência de fatores edáficos sobre o conteúdo dos fenólicos, açúcares redutores e da acidez dos frutos, enquanto que o polimorfismo nos óleos essenciais foi atribuído majoritariamente a fatores genéticos. Para todos os constituintes a influência espacial na variabilidade química foi significativa, embora menos pronunciada para os óleos essenciais.

ABSTRACT

Foliar contents of total phenols and tannins and the essential oil composition of *Myrciaria cauliflora* populations cultivated in six sampling sites have shown the presence of four clusters related to soil types and foliar nutrients. Cluster I included samples which originated from sandy soil (S1) with the highest and lowest percentages of γ -eudesmol (11.55%) and germacrene D (20.48%), respectively, as well as high total phenol (136.68 mg/g) and tannin (60.72 mg/g) contents. Cluster II, rich in elemol (4.61%), included all the samples cultivated from clay sand loam soils (S2, S3, and S6), whereas clay soils S4 (cluster III) and S5 (cluster IV) had the highest amounts of germacrene D (III: 27.20%; IV: 26.83%) and the lowest levels of elemol (2.12%; 2.55%), total phenols (79.69 and 111.77 mg/g), and tannins (34.04 and 44.51 mg/g). Canonical redundancy analysis (RDA) revealed the relationship between chemical balances in the soil and leaf nutrients in different clusters. Chemovariations may be environmentally determined. Additionally, essential oil chemical composition and phenolics (total phenols, tannins, anthocyanins), reducing sugar and fruit acidity contents of *Myrciaria cauliflora* were obtained from same cultivated populations. RDA and discriminant analyses revealed four clusters of samples based on contents of α -copaene, tannins, reducing sugar and fruit acidity as predictor variables. The total variation partition performed by partial RDAs showed a strong influence of edaphic factors on phenolics, reducing sugar and fruit acidity data set. However, the polymorphism of essential oils may be genetically determined. Spatial influence on chemovariations was significant for all constituents, but less pronounced for essential oil data.

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Jaboticabeira com frutos. Fazenda Jabuticabal, Hidrolândia, GO.	1
Figura 2	Vista do pomar. Fazenda Jabuticabal, Hidrolândia, GO.	2
Figura 3	Rotas metabólicas envolvidas na síntese dos compostos fenólicos.	3
Figura 4	Atuação da enzima PAL na via do ácido chiquímico.	4
Figura 5	Núcleo fundamental dos flavonóides.	5
Figura 6	Esquema dos grupos de compostos fenólicos.	5
Figura 7	Núcleo básico das antocianinas e antocianidinas.	6
Figura 8	Exemplos de estruturas de taninos.	7
Figura 9	Jaboticabin (1), ácido 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético (2), cianidina 3-glucosídeo (3) e delphinidina 3-glucosídeo (4).	7
Figura 10	Esquema simplificado da biossíntese de terpenos nas plantas.	8
Figura 11	Rota do ácido chiquímico na síntese de compostos orgânicos relacionados com a defesa vegetal.	12
Figura 12	Esquema representando a influência da disponibilidade de recursos sobre a produção de CSBC segundo a hipótese do balanço entre carbono/nitrogênio.	14
Figura 13	Ordenação pela RDA dos dois primeiros eixos mostrando a distribuição dos sítios de amostragem das folhas de <i>M. cauliflora</i> .	23
Figura 14	Ciclização de sesquiterpenos com a intervenção de um grupo Y de origem enzimática.	25
Figura 15	Análise discriminante canônico das folhas de <i>M. cauliflora</i> coletadas em seis sítios de amostragem e os agrupamentos aos quais pertencem.	26
Figura 16	Ordenação pela RDA dos dois primeiros eixos mostrando a distribuição dos sítios de amostragem dos frutos de <i>M. cauliflora</i> .	38
Figura 17	Análise discriminante canônico dos frutos de <i>M. cauliflora</i> coletadas em seis sítios de amostragem e os agrupamentos aos quais pertencem.	40
Figura 18	Diagrama de Venn representando a partição da variância dos teores fenólicos e constituintes dos óleos essenciais.	43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	Sítios de amostragem de <i>M. cauliflora</i> , Hidrolândia, GO. 16
Tabela 2	Características do solo dos sítios de amostragem de <i>M. cauliflora</i> 18
Tabela 3	Porcentagens dos constituintes dos óleos essenciais, rendimentos e teor (mg/g) de fenóis totais e taninos das folhas de <i>M. cauliflora</i> nos sítios de amostragem. 21
Tabela 4	Porcentagens e rendimentos dos constituintes dos óleos essenciais, teor de fenóis, açúcares redutores e acidez do fruto de <i>M. cauliflora</i> dos sítios de amostragem. 37
Tabela 5	Resumo da partição da variância obtida por RDA parcial dos constituintes dos frutos de <i>M. cauliflora</i> , com os dados de solo e espaciais como preditores. 42
Tabela 6	Correlações entre os fatores edáficos e os eixos da RDA parcial. 43

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIFRA – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Essenciais, Produtos Químicos Aromáticos, Fragrâncias, Aromas e Afins.

Acetil-CoA – Acetil coenzima A.

ANOVA – Análise de Variância.

CBP – Calmodulin Binding Peptide.

CSBC – Compostos Secundários Baseados em Carbono.

CTC- Capacidade de Troca Catiônica.

DCA – Análise de Correspondência Destendenciada.

LDA – Análise de Discriminante Canônico Linear.

PAL – Fenilalanina Amônio Liase.

PCA – Análise de Componentes Principais.

pH – Potencial Hidrogeniônico.

p/p – Peso/Peso.

p/v – Peso/Volume.

RDA – Análise de Redundância Canônica.

SD – Desvio Padrão.

SDS – Sodium Dodecyl Sulfate.

v/v – Volume/Volume.

INTRODUÇÃO

1. *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg

A jabuticabeira (*M. cauliflora*), pertencente à família Myrtaceae, é uma planta nativa brasileira originária da região centro-sul (Figura 1). A planta vegeta em solos diversos, embora se adaptando melhor em solos sílico-argilosos e os argilo-silicosos profundos, férteis e bem drenados (ANDERSEN & ANDERSEN, 1989). É uma árvore de tamanho médio, ornamental, cujas flores são brancas e possui frutos globosos e comestíveis. A casca do caule adstringente é usada contra diarreia e a madeira é usada para obras internas, lenha e carvão (CORREIA, 1984). A planta floresce geralmente duas vezes ao ano, em julho-agosto e novembro-dezembro, e os frutos maduros ocorrem em agosto-setembro e janeiro (LORENZI, 2002).



Figura 1 - Jabuticabeira com frutos. Fazenda Jabuticabal, Hidrolândia, GO. *Fonte:* Fazenda Jabuticabal.

A importância econômica da jabuticabeira está na utilização de seus frutos que podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, geléias, compotas, doces, licor, vinho e outros (ANDERSEN & ANDERSEN, 1989). Nos últimos anos, estudos revelaram que a jabuticaba possui grande quantidade de substâncias antioxidantes benéficas à saúde. Nas cascas dos frutos estão presentes as antocianinas, com cerca de 310 mg/100 g de fruto, e, na polpa, encontram-se ferro, fósforo, vitamina C e niacina (TERCI, 2004). Produtos derivados de alimentos com características nutricionais que ajudam na manutenção da saúde são cada vez mais procurados pelos consumidores, são os chamados alimentos funcionais (PEREIRA, 2005).

Atualmente a Vinícola Jabuticabal, localizada em Hidrolândia, GO (Figura 2) produz 60 mil litros/ano de vinhos (tinto, branco e rosado) e 5 mil litros de suco, aguardente e

licor derivados da jabuticaba. Todos os frutos utilizados na indústria são colhidos na própria fazenda, que possui 11 mil pés em produção (Vinícola Jabuticabal, 2008). No entanto, até o momento, as folhas não participam da cadeia produtiva da jabuticabeira. Similar a outras espécies, como as do gênero *Eucalyptus*, as folhas podem ser utilizadas para obtenção de óleos essenciais, os quais possuem potencial para aplicação em indústrias de aromas, fragrâncias e em manipulações farmacêuticas (SILVESTRE *et al.*, 1997).



Figura 2 – Vista do pomar. Fazenda Jabuticabal, Hidrolândia, GO.

Os produtos da Vinícola Jabuticabal, derivados do fruto, possuem as características físico-químicas dentro dos parâmetros exigidos pela legislação brasileira (acidez total e volátil, pH, açúcares residuais, níveis de SO₂, graduação alcoólica, cinzas) (ASQUIERI *et al.*, 2004). Além de cumprir os requisitos mínimos de qualidade, os produtos como o vinho, licor entre outros, precisam cativar o consumidor através da sua aparência, sabor e aroma, fatores estes que dependem de um equilíbrio delicado entre os seus constituintes químicos.

O sabor e o aroma de bebidas como os licores e os vinhos é resultado de uma mistura complexa de constituintes orgânicos voláteis. Dentre estes os mais importantes são os alcoóis, ésteres e ácidos superiores, além dos terpenos.

As jabuticabas possuem três tipos de polifenóis: taninos, flavonóides e antocianinas. Os dois primeiros estão presentes em maior quantidade nas cascas e sementes dos frutos, e o último se encontra apenas nas cascas. Estes três tipos de fenóis interagem entre si e são responsáveis pelo sabor e coloração de bebidas como o vinho e os licores. O conhecimento da dinâmica de produção destes compostos pela Jabuticabeira é fundamental para realização de um manejo adequado da cultura, com fins na

obtenção de frutos com boas características nutricionais, e, que levem a produtos que atendam aos padrões de aceitabilidade.

As variações sofridas pelos componentes químicos e parâmetros físico-químicos durante a fermentação e maturação de vinhos de jabuticaba foi avaliada em FORTES, 2012.

2. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila. Estes compostos são biossintetizados por meio de diferentes rotas, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico. Duas rotas metabólicas estão envolvidas em sua síntese: a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico (Figura 3). A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais, enquanto que a rota do ácido malônico — uma fonte importante de produtos especiais (secundários) fenólicos em fungos e bactérias — é menos significativa nas plantas superiores (TAIZ & ZEIGER, 2004).

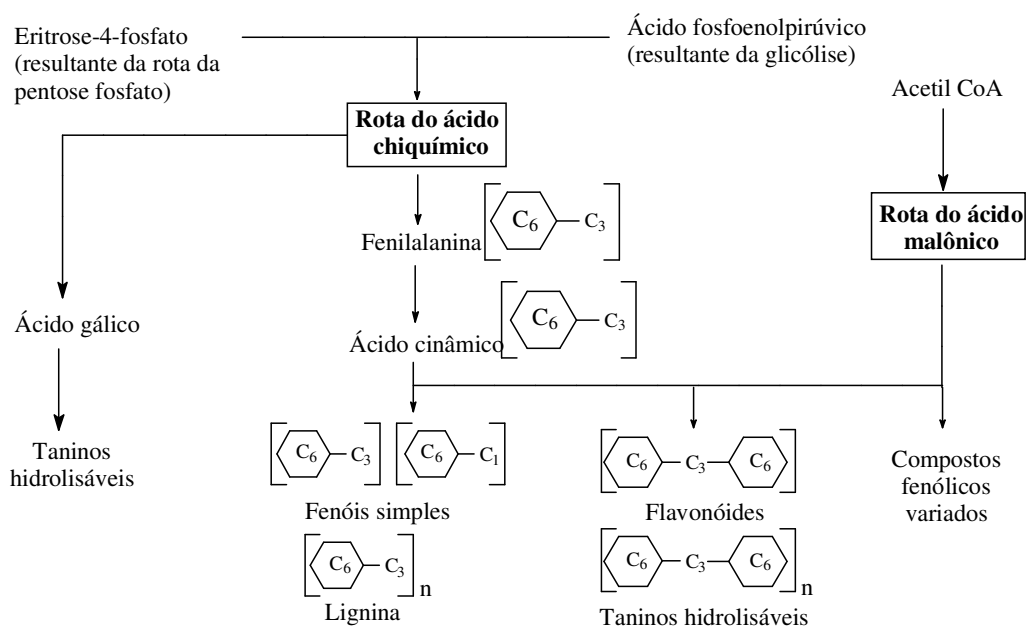


Figura 3 - Rotas metabólicas envolvidas na síntese de compostos fenólicos.
Fonte: TAIZ & ZEIGER, 2004.

A principal enzima da via do ácido chiquímico é a fenilalanina amônio liase (PAL). Essa enzima retira uma amônia da fenilalanina formando o ácido cinâmico (Figura 4). A PAL é regulada por fatores ambientais como o nível nutricional, a luz (pelo efeito do

fitocromo) e infecção por fungos e outros patógenos. Entre as substâncias formadas após a ação da PAL estão os flavonóides.

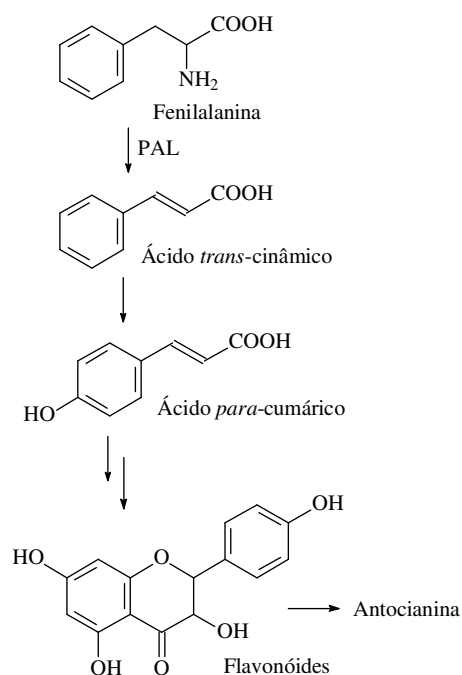


Figura 4 - Atuação da enzima PAL na via do ácido chiquímico.

Fonte: TAIZ & ZEIGER, 2004.

Propriedades como a cor, sabor e odor de diversos vegetais são geradas por compostos fenólicos. Os pigmentos azuis de *Commelina communis* L. (Commelinaceae) consistem de um grande complexo de seis moléculas de antocianinas, seis flavonas e dois Mg^{2+} associados (TAIZ & ZEIGER, 2004). Outros compostos fenólicos, como o aldeído cinâmico da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume; Lauraceae) e a vanilina da baunilha (*Vanilla planiflora* Jacks ex Andrews; Orchidaceae) são inclusive empregados na indústria de alimentos como aromatizantes.

As gimnospermas bem como as angiospermas possuem em seus tecidos compostos fenólicos que atuam na defesa contra predadores. Os isoflavonóides, encontrados principalmente em leguminosas, apresentam várias atividades biológicas. Outros, como os rotenóides, apresentam potente ação inseticida, com alguns representantes dessa classe apresentando ação como fitoalexinas — compostos antimicrobianos sintetizados em resposta à infecção por fungos ou bactérias.

A classe dos flavonóides é amplamente distribuída no reino vegetal, com maior diversidade estrutural nas angiospermas. A maioria dos representantes dessa classe

possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de dois grupos fenílicos ligados por uma cadeia de três carbonos (Figura 5), cujo grau de oxidação define o subgrupo do flavonóide.

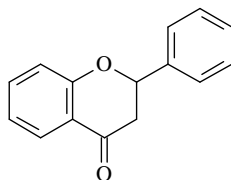


Figura 5 - Núcleo fundamental dos flavonóides.

Os flavonóides de origem natural apresentam-se frequentemente oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares (Figura 6). Estes compostos atuam na proteção das plantas contra danos produzidos por agentes oxidantes como os raios ultravioletas, poluição ambiental, estresses ambientais, dentre outros fatores. Esta proteção está associada à ação antioxidante destes compostos, que por sua vez depende da estrutura química do flavonóide, podendo ser determinada pela ação da molécula como agente redutor como, por exemplo, na velocidade de inativação de radical livre, reatividade com outros antioxidantes e potenciais de quelação de metais (MAMEDE & PASTORE, 2004).

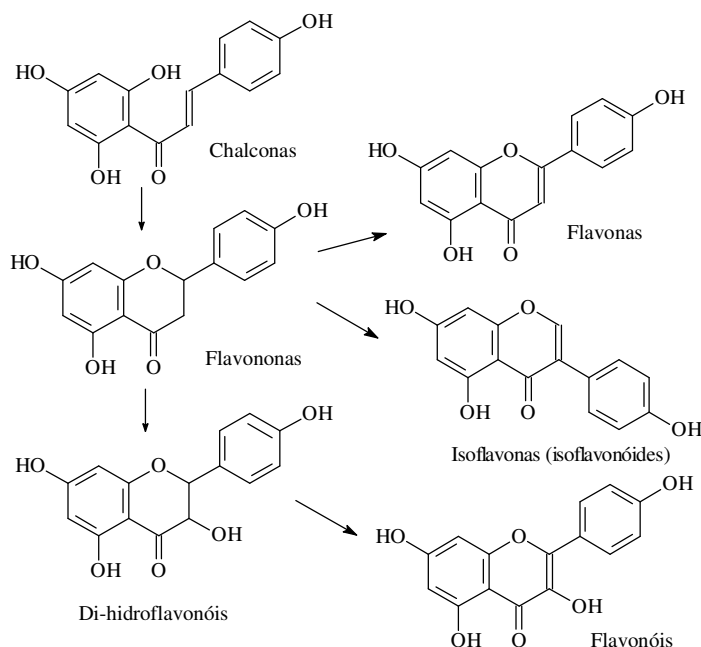


Figura 6 - Esquema dos grupos de compostos fenólicos flavonoídicos.
Fonte: TAIZ & ZEIGER, 2004.

As antocianinas são flavonóides pigmentados glicosilados que atraem animais com finalidade de polinização. As antocianidinas têm como estrutura básica o cátion 2-

fenilbenzopirilium, também denominado flavilium (Figura 7). Esses metabólitos estão envolvidos na atração por produzir, nas flores e frutos, sinais visuais e olfativos. As abelhas são atraídas pelas diferentes tonalidades de amarelo da margarida *Rudbeckia* sp., os quais são produzidos por uma distribuição de flavonóides ao longo das flores (ZUANAZZI, 2002).

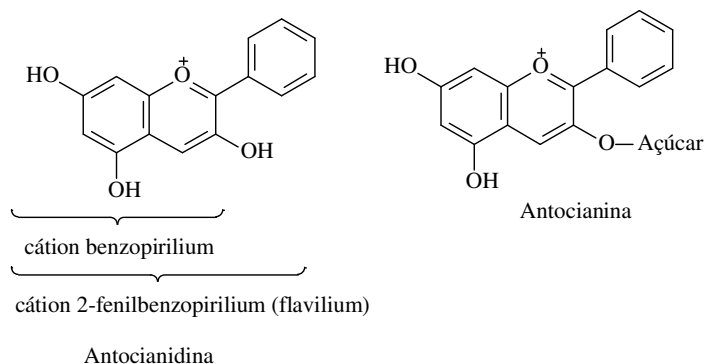


Figura 7 – Núcleo básico das antocianinas e antocianidinas.

A propriedade mais descrita das antocianinas é sua ação antioxidante (WANG *et al.*, 1999; NIJVELDT *et al.*, 2001; MARTÍNEZ-FLÓREZ *et al.*, 2002). A deficiência natural de elétrons das antocianinas faz esses compostos serem particularmente reativos, apresentando também uma grande sensibilidade a mudanças de pH e temperatura (VOLP *et al.*, 2008).

Outra classe de compostos fenólicos que atuam na defesa dos vegetais são os taninos, os quais se dividem em duas categorias: os taninos condensados, formados pela polimerização de unidades de flavonóides; e os taninos hidrolisáveis que são polímeros heterogêneos que contêm ácidos fenólicos, como o ácido gálico e açúcares simples (Figura 8). Estes compostos possuem a propriedade de precipitar proteínas e conferem adstringência aos frutos de determinadas plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Alguns mamíferos, como bovinos, evitam plantas com altos níveis de taninos. Esses compostos diminuem a palatabilidade das folhas, dificultando a digestão e ainda podendo produzir metabólitos tóxicos a partir de sua hidrólise (BENNETT & WALLSGROVE, 1994).

Recentemente, demonstrou-se que os taninos do vinho tinto de uva impedem a formação de endotelina-1, um sinalizador celular com atividade constritora dos vasos sanguíneos (CORDER *et al.*, 2001). Esse efeito dos taninos pode responder pelos benefícios do vinho para a saúde, principalmente a redução do risco de doenças cardíacas associada ao consumo moderado dessa bebida.

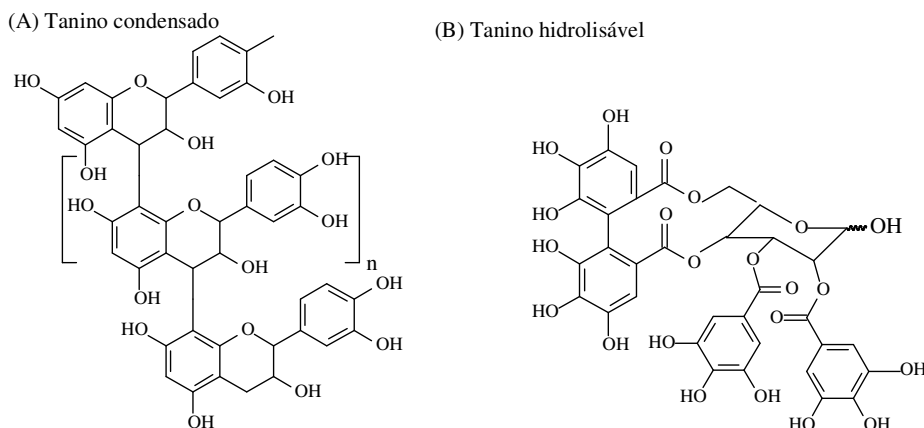


Figura 8 – Exemplos de estruturas de taninos.

Os dois tipos de taninos fazem parte da composição dos frutos de jaboticaba (FORTES, 2012), o que inclusive a diferencia da uva que contém apenas taninos condensados (SINGLETON, 1992), fato que pode influenciar diretamente no sabor e coloração de bebidas como o vinho.

No fruto da jaboticaba foram isolados e identificados vários compostos fenólicos: antocianinas, flavonóides, ácidos fenólicos e depsídeos (Figura 9) (EINBOND *et al.*, 2004; REYNERTSON *et al.*, 2006; 2008) que são responsáveis pela atividade antioxidante observadas em *M. cauliflora* (DE ASSIS *et al.*, 2009; ROMERO *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2010; RUFINO *et al.*, 2010; LEITE *et al.*, 2011; HAMINIUK *et al.*, 2011).

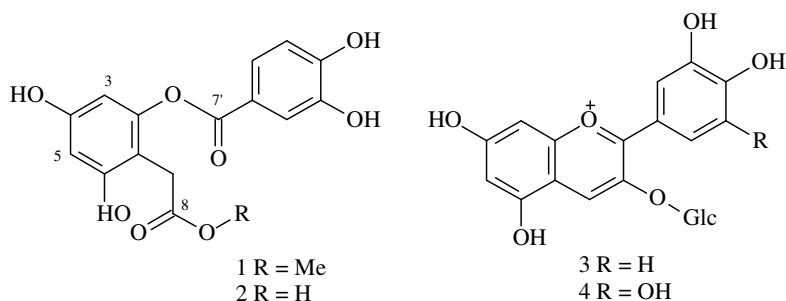


Figura 9 – Jaboticabin (1), ácido 2-O-(3,4-dihidroxibenzoil)-2,4,6-trihidroxifenilacético (2), cianidina 3-glucosídeo (3) e delphinidina 3-glucosídeo (4). Fonte: EINBOND *et al.*, 2004.

O extrato etanólico das folhas de *Myrciaria cauliflora* apresentou atividade antimicrobiana sobre *Streptococcus* da cavidade oral (CARVALHO *et al.*, 2009), já o extrato etanólico dos frutos apresentou atividade inibitória contra *K. pneumoniae* (HAMINIUK *et al.*, 2011).

3. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas e que contribuem para a fragrância ou essência das plantas que os produzem. Eles são pouco solúveis em água, possuem sabor geralmente acre e picante. Em geral, não são muito estáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais (SIMÕES *et al.*, 2005). Também, possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, podendo ser extraídos por arraste por vapor d'água.

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

Os óleos essenciais constituem uma grande variedade de substâncias, como hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre (SIMÕES *et al.*, 2005). Dentre as substâncias presentes nos óleos essenciais destacam-se os terpenóides pela grande variedade estrutural.

Os terpenóides são compostos formados pela fusão de unidades isoprênicas (C₅). Sua biossíntese pelas plantas ocorre por duas vias: a rota do ácido mevalônico derivada do acetil-CoA e a rota do fosfato de metileritritol (Figura 10).

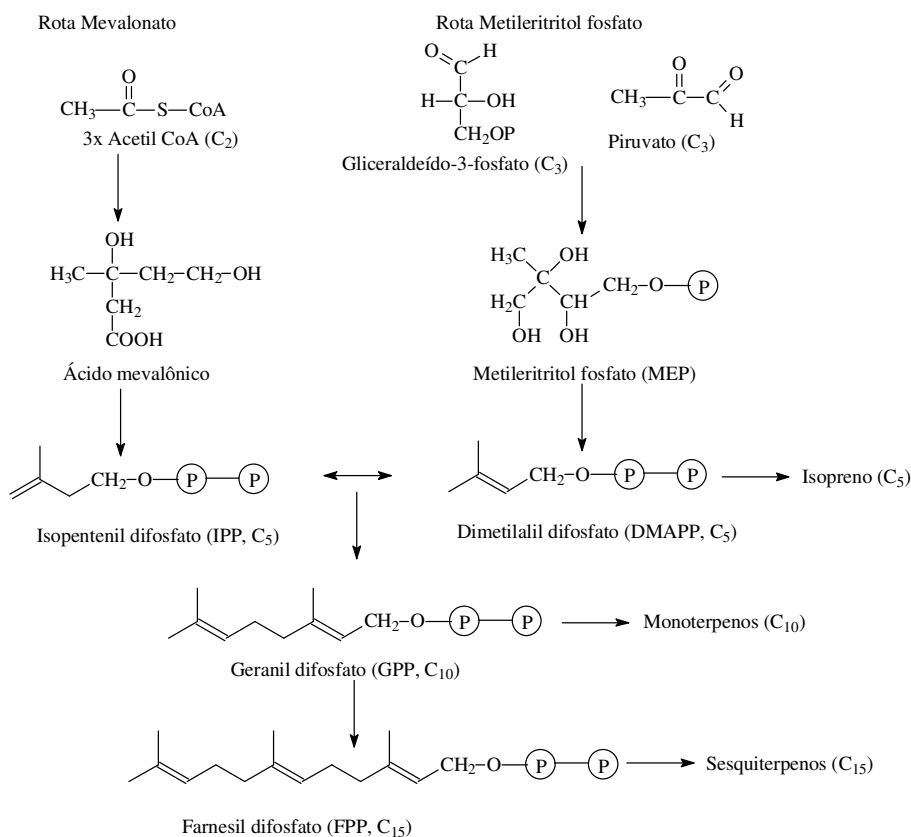


Figura 10 - Esquema simplificado da biossíntese de terpenos nas plantas. Fonte: TAIZ & ZEIGER, 2004.

Os terpenóides que fazem parte da fração volátil dos metabólitos especiais são em geral monoterpenos e sesquiterpenos, terpenos com 10 e 15 carbonos formados pela junção de duas e três unidades isoprênicas, respectivamente.

Assim como os outros metabólitos especiais produzidos pelas plantas, os óleos essenciais são produzidos em vários sítios no interior da célula e são armazenados primariamente dentro de vacúolos ou em estruturas especializadas chamadas de tricomas glandulares (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os óleos essenciais são frequentemente sintetizados em uma parte da planta e armazenados em outra. Além disso, sua concentração na planta varia durante o ciclo circadiano (período das 24 h) e sazonal, entre outros fatores abióticos (RAVEN *et al.*, 2001).

Os terpenóides apresentam papel importante na interação entre plantas e animais, sendo muitas vezes descritos como defesa química constitutiva das plantas. Espécies de besouros evitam alimentar-se de tomates (*Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl.; Solanaceae) em decorrência do alto conteúdo do sesquiterpeno zingibereno em seus tricomas glandulares (HARBORNE, 1993).

Também se observou a participação de terpenóides nas defesas induzidas das plantas. O sesquiterpeno (*E*)- β -farneseno foi encontrado em grande quantidade após a deposição de ovos do herbívoro *Diprion pini* L. (Hymenoptera, Diprionidae) em *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae) (MUMM *et al.*, 2004). Os compostos (*E*)- β -ocimeno e (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno foram detectados em plantas infestadas por aranhas *Tetranychus urticae* Koch (Acari, Tetranychidae). Esses compostos voláteis atraem para a planta, o predador da aranha, o ácaro *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari, Phytoseiidae) (HARBORNE, 1993). Os estudos com a espécie *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae) mostraram a emissão de altas quantidades de (*E*)-cariofileno após o ataque do parasitóide *Anagrus nilaparvatae* Pang & Wang (Hymenoptera: Mymaridae) (CHENG *et al.*, 2007).

Os terpenóides das essências das flores atraem os insetos polinizadores, como a orquídea do gênero *Ophrys* que libera (-)- γ -cadineno, o ferormônio de atração sexual de machos de abelhas do gênero *Andrera* (BORG-KARLSON, 1990).

O uso dos óleos essenciais como agentes medicinais tem sido descrito e, em especial, a sua atividade antimicrobiana. Há também estudos sobre a atividade antiinflamatória desses compostos (SIANI *et al.*, 1999).

Ao óleo essencial das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae), constituído principalmente por (*E*)-cariofileno, α -humuleno, limoneno, α -tujeno, α -terpineol e óxido de cariofileno, tem sido atribuída atividade antifúngica frente à *Cryptococcus*

neoformans var. *neoformans*, um fungo sistêmico humano com alta prevalência em pacientes imunodeprimidos (COSTA *et al.*, 2000). O óleo essencial das folhas de *Myrciaria tenella*, vulgarmente conhecida por Cambuí, constituído principalmente por α -pineno e β -pineno, apresentou atividade antimicrobiana frente à *Enterobacter sp.* e *Shigella flexnerii* (SCHNEIDER *et al.*, 2008).

O extrato de folha de *E. uniflora* ainda é recomendado popularmente contra a gota (SCHMEDA-HIRCHMANN *et al.*, 1987) e possui efeito antioxidante (THEODOLUZ *et al.*, 1988). As folhas de *E. brasiliensis* (grumixama) são descritas como antireumáticas (CORREIA, 1984).

4. Óleos essenciais e fragrâncias

As plantas da família Myrtaceae são reconhecidas pela produção de óleos essenciais (SIMÕES *et al.*, 2005). Esses óleos têm despertado interesse econômico da indústria de cosméticos, justamente por serem aromas ainda desconhecidos, e pela indústria farmacêutica, visto que muitos óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana (ESTANISLAU *et al.*, 2001).

Os óleos essenciais compõem o universo das fragrâncias, cujo segmento no ano 2000 alcançou um faturamento líquido de US\$ 160 milhões no Brasil, segundo estatística realizada pela associação brasileira das indústrias de óleos essenciais, produtos químicos aromáticos, fragrâncias, aromas e afins (ABIFRA). A indústria extratora dos óleos essenciais é responsável pelo fornecimento de produtos purificados, concentrados, beneficiados ou substâncias isoladas dos mesmos. Os óleos de *Aniba rosaedora* Ducke (pau-rosa; Lauraceae) e *Cinammomum camphora* Nees (cânfora; Lauraceae), por exemplo, são empregados como fragrâncias, enquanto *Thymus vulgaris* L. (tomilho; Lamiaceae) é empregado em composições farmacêuticas. Além disso, substâncias como limoneno (laranja, limão), eugenol (cravo), eucaliptol (eucalipto) e citrionelol (capim-limão) são isolados dos óleos essenciais e utilizados como fragrâncias, aromas e composições farmacêuticas (SILVA-SANTOS *et al.*, 2006).

A produção de fragrâncias, em geral, envolve a química de materiais de pequenas massas moleculares, como terpenos. Estes compostos ocorrem naturalmente como misturas altamente complexa em várias plantas odoríferas. A qualidade e as quantidades relativas dos constituintes químicos do óleo essencial não são uniformes e dependem das variedades de uma mesma planta (quimiotipos), dificultando o trabalho de perfumistas. Com o advento da análise química por cromatografia gasosa, juntamente com técnicas de extração, foi possível a separação e identificação dos

constituintes químicos dos óleos essenciais. Os perfumes fabricados atualmente podem ter seus componentes ajustados em porções exatas, se necessário. E ainda, a aplicação de técnicas hífenadas como a cromatografia gasosa acoplada a olfatometria e a espectrometria de massas permitiram investigar a contribuição de terpenos no aroma dos óleos essenciais (LOPES *et al.*, 1999).

A demanda por produtos químicos para a perfumaria é alta, pois a maioria dos produtos domésticos – sabões, detergentes, polidores, desinfetantes, plásticos, borrachas – têm odor artificial, seja para mascarar o cheiro dos ingredientes, seja para torná-los mais atrativos ao consumidor. As desvantagens de usar óleos essenciais incluem um custo relativamente alto – por exemplo, uma tonelada de pétalas de jasmim, que correspondem a 6-8 milhões de flores colhidas manualmente, fornece apenas 1,4 kg de óleo essencial de jasmim absoluto – além da variabilidade de suprimento e de qualidade, que dependem das condições climáticas. Em vista disso, a síntese e a modificação de terpenos são de grande importância para a indústria de perfumaria, pois terpenos sintéticos apresentam baixo custo, uma maior disponibilidade e odor uniforme.

5. Relação solo-planta

Em ambientes naturais as plantas retiram do solo a maior parte dos íons necessários para o seu crescimento. Classicamente, os nutrientes têm sido classificados de acordo com a quantidade exigida pelas plantas: os macronutrientes, os exigidos em grandes quantidades (N, P, K, Ca, Mg e S) e os micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo e Ni), requeridos em quantidades diminutas. Tais nutrientes são ditos essenciais e são aqueles cuja deficiência impede o desenvolvimento completo da planta, não podendo ser substituídos por outros com características químicas similares, além de participarem diretamente no metabolismo da planta (KERBAUY, 2008).

Mengel & Kirkby fizeram a proposta de outra classificação para os nutrientes das plantas, agrupando-os em quatro grupos. O primeiro formado por C, O, H, N, e S, os maiores constituintes dos compostos orgânicos. O segundo grupo formado por P e B, que podem esterificar grupamentos OH e participar no metabolismo energético da planta. O terceiro grupo, formado pelos íons K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} e Mn^{2+} e Cl^- , os quais exercem papel importante na regulação osmótica, sinalização celular e balanceamento de cargas e o quarto grupo, constituído pelos metais Fe, Cu, Zn, Mo e Ni, os quais são absorvidos, principalmente, na forma de quelatos e incorporados a enzimas, onde participam do transporte de elétrons pela troca de valência (KERBAUY, 2008).

A biossíntese de metabólitos especiais por uma planta é determinada geneticamente, mas pode ser influenciada por fatores abióticos, como a luz, sazonalidade, temperatura, níveis de nutrição e água, solo entre outros (SIMÕES *et al.*, 2005). Os nutrientes minerais, em particular, atuam no crescimento, na morfologia, na anatomia, e particularmente na composição química da planta sendo então fatores importantes na resistência das plantas às pragas e às doenças. A resistência pode ser maximizada pelo aumento da formação de barreiras mecânicas (lignificação) e da síntese de toxinas (fitoalexinas). Alguns destes compostos são sintetizados na rota do ácido chiquímico em reações bioquímicas catalisadas pelos micronutrientes. A Figura 11 ilustra a participação de alguns micronutrientes na rota do ácido chiquímico, a qual é responsável pela produção de metabólitos especiais como os compostos fenólicos.

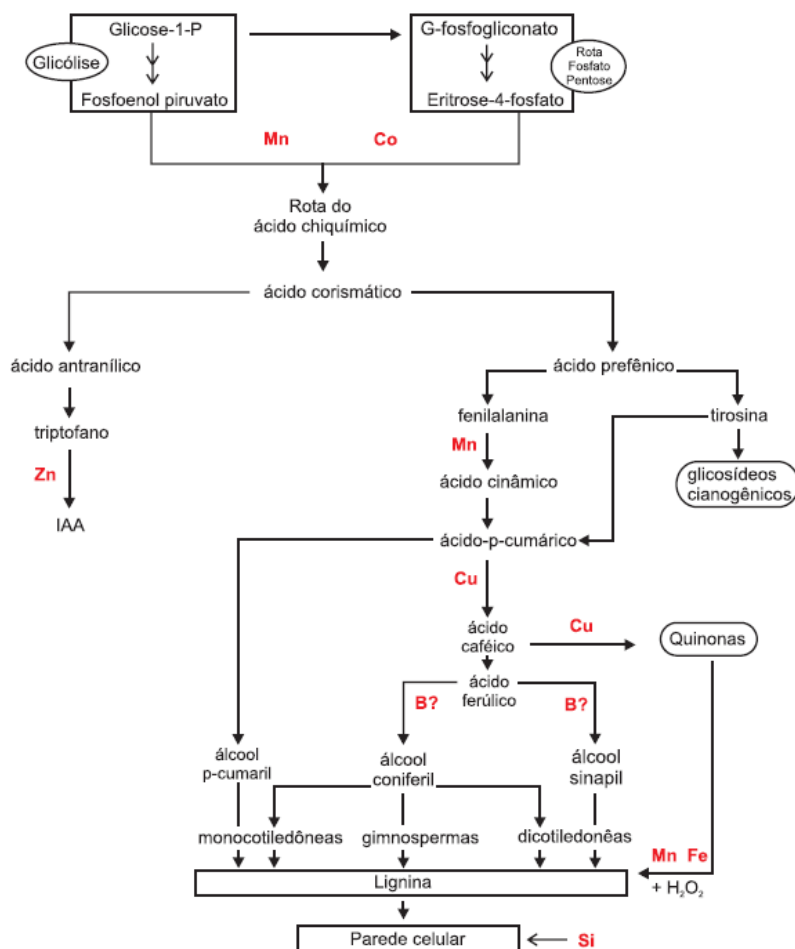


Figura 11 – Rota do ácido chiquímico na síntese de compostos orgânicos relacionados com a defesa vegetal. *Fonte:* Modificada de YAMADA, 2004.

O exame da rota do ácido chiquímico indica que metais como o Mn, Co, Cu, B, Fe e o Si influenciam na síntese de ligninas e demais compostos fenólicos. Estudos com silício

revelaram a sua participação na resistência ao pulgão de batata (*Myzus persicae* Sulzer), estimulando um aumento na produção de fenilalanina amônia liase (PAL), que por sua vez acarreta um acúmulo de lignina e taninos nas folhas da planta (GOMES *et al.*, 2008). Ruiz *et al.* (1997) dosando os teores de fenóis totais em folhas de tabaco, cultivado na presença de diferentes concentrações de boro em solução nutritiva, observaram que houve um incremento na concentração de fenóis totais e na atividade da PAL.

A produção de óleos essenciais também tem sido afetada pela disponibilidade dos nutrientes do solo. Os níveis de fósforo no solo, por exemplo, mostraram grande correlação com a biossíntese de terpenos nas espécies de *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) (DAVID *et al.*, 2006) e *E. dysenterica* (DUARTE, 2008).

Embora os nutrientes minerais sejam essenciais às plantas, dependendo da quantidade podem ser tóxicos e ocasionar prejuízos ao desenvolvimento da planta como, por exemplo, metais como Cu, Zn e Sn. No entanto, algumas plantas têm a capacidade de crescer em solos que contêm teores altos dos metais Zn, Pb, Cu, Sn, Ag, Ni e Au. O mecanismo de desativação ou de desintoxicação, ainda não foi esclarecido, embora envolva vários componentes, como a complexação com peptídeos ricos em cisteína (fitoquelatinas); a absorção na parede celular, compartimentação e de exclusão (TORSSELL, 1997).

Existem algumas hipóteses sobre a utilização de nutrientes pela planta. A hipótese de disponibilidade de recursos proposta por Coley, Bryant & Chapin (1985) define que o tipo e a quantidade de defesas das plantas são determinados pela disponibilidade de recursos no habitat da planta.

A hipótese do balanço entre carbono/nitrogênio proposta por Bryant, Chapin & Klein (1983) sugere que a biossíntese de metabólitos especiais baseados em carbono (CSBC: taninos, flavonóides, ligninas e terpenos) é determinada por um balanço entre a taxa de fotossíntese e taxa de crescimento da planta. Segundo os autores, a deficiência de nutrientes no solo provoca uma diminuição na fotossíntese e no crescimento da planta, devido à ausência de metais necessários na atividade enzimática, resultando em um acúmulo de carboidratos, e, conseqüentemente, haveria um aumento na produção de CSBC. Um efeito contrário seria produzido em solos fertilizados, resultando em uma queda na produção de CSBC. Neste caso, os carboidratos produzidos em grande quantidade são utilizados para o crescimento levando a deficiência de carboidratos para a biossíntese de CSBC. Esta hipótese descreve, ainda, que os CSBC são dependentes da disponibilidade de luz. Um habitat com muita luz impulsionará uma alta taxa de

fotossíntese e crescimento da planta, com o excesso de carboidratos sendo utilizado na biossíntese de CSBC. Por outro lado, habitat com baixa incidência de luz acarretaria em uma diminuição na taxa de fotossíntese e crescimento, levando a uma deficiência de carboidratos, e, como consequência, haveria uma queda na produção de CSBC (Figura 12).

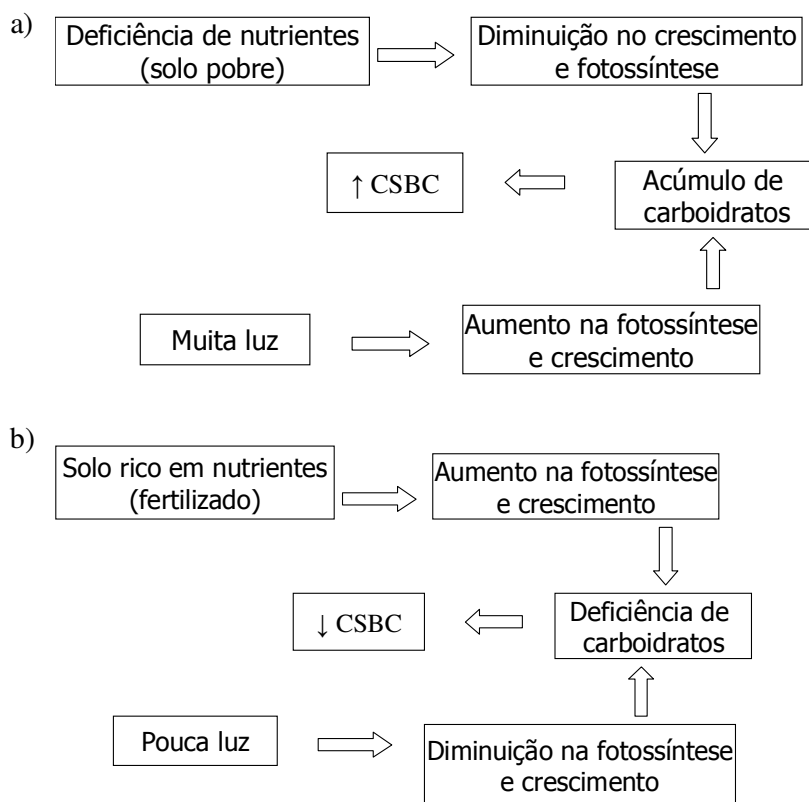


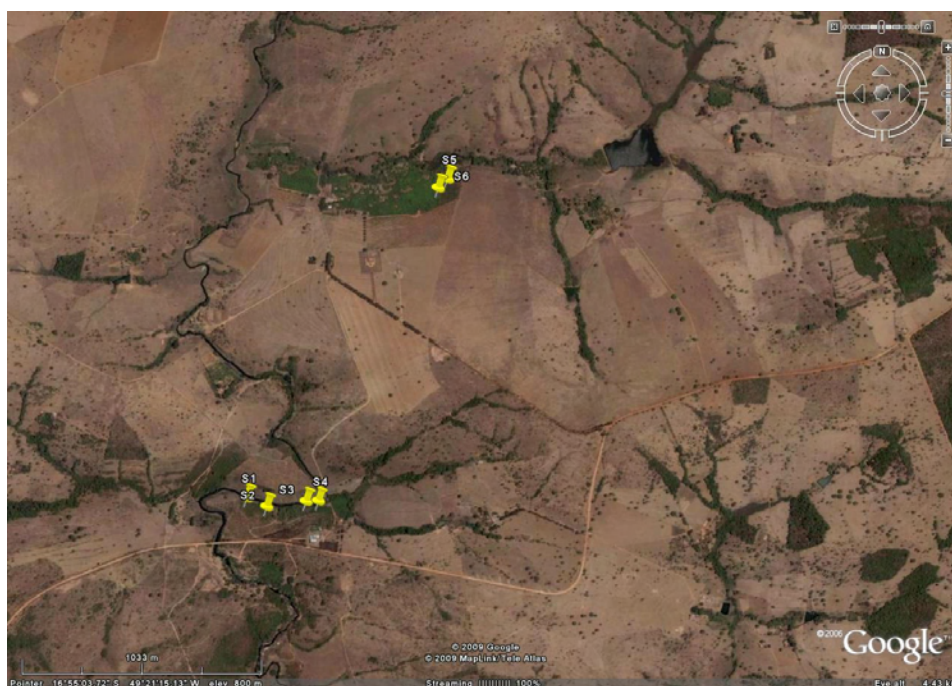
Figura 12 – Esquema representando a influência da disponibilidade de recursos (luz e nutrientes do solo) sobre a produção de CSBC segundo a hipótese do balanço entre carbono/nitrogênio, em duas condições de cultivo a) e b).

Há ainda a hipótese do balanço entre o crescimento e diferenciação, proposta por Herms & Mattson (1992), no qual uma maior fonte de recursos (nutrientes, luz e água) para a planta resultaria na alocação destes recursos para o crescimento e poucos metabólitos especiais seriam produzidos. Por outro lado, sob condições de baixa disponibilidade de recursos, a taxa de biossíntese destes metabólitos é aumentada em resposta ao estresse abiótico.

Visando contribuir para o conhecimento da dinâmica de produção dos compostos fenólicos e terpenos na Jabuticabeira, em diferentes condições de habitat (com foco na disponibilidade de nutrientes pelo solo), bem como o de fornecer subsídios para o manejo desta planta, efetuou-se a análise química de frutos e folhas de amostras coletadas sob seis tipos de solo da Fazenda Jabuticabal, em Hidrolândia/GO. Todas as amostras de *M. cauliflora* foram gentilmente cedidas pelos proprietários da Fazenda.

Capítulo 1 –

Variabilidade dos constituintes químicos dos óleos essenciais e do teor de fenóis das folhas de Jabuticabeira (*M. cauliflora*)



Publicado como: Duarte, Alessandra R.; Santos, Suzana C.; Seraphin, José C.; Ferri, Pedro H.. Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 21, p. 1672-1680, 2010.

1. OBJETIVO

O presente estudo avaliou as alterações qualitativas e quantitativas nos constituintes químicos dos óleos essenciais e dos teores de fenóis totais e taninos das folhas de *M. cauliflora* cultivadas em seis tipos de solo na Fazenda Jabuticabal, Hidrolândia/GO.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material botânico

As folhas de Jabuticabeiras cultivadas sob seis tipos de solo foram coletadas na Fazenda Jabuticabal, localizada no município de Hidrolândia, GO, em março de 2009. No total foram coletadas amostras de folhas de 39 plantas de seis tipos de solo, com idades variando de 10 a 40 anos (Tabela 1). As folhas foram dessecadas à temperatura ambiente (30°C), durante sete dias, e submetidas à extração dos óleos essenciais e quantificação dos fenóis totais e taninos.

Tabela 1. Sítios de amostragem das plantas de *M. cauliflora* (Hidrolândia, GO)

Solo	Número de amostras	Latitude (S)	Longitude (W)	Idade das plantas (anos)
S1	7	16° 55' 22,9"	49° 21' 49,9"	20
S2	7	16° 55' 24,5"	49° 21' 53,5"	10
S3	5	16° 55' 25,9"	49° 21' 41,0"	15
S4	7	16° 55' 24,3"	49° 21' 36,0"	35
S5	7	16° 54' 40,6"	49° 21' 26,4"	40
S6	6	16° 54' 43,9"	49° 21' 25,4"	10

2.2 Extratos

2.2.1 Extração dos fenóis das folhas de Jabuticabeira

As folhas foram dessecadas à temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas com granulação definida (10 mesh). Em seguida, o material vegetal (200 mg) foi homogeneizado com 10 mL de água-etanol 50% (v/v) e mantido em banho de ultrassom por 30 min. Após centrifugação e filtragem, o precipitado (torta) foi submetido a duas novas extrações sucessivas. Os filtrados (extratos) foram reunidos e o volume ajustado para 25 mL com solução água-etanol 50%.

2.2.2 Extração dos óleos essenciais das folhas de Jabuticabeira

As folhas foram dessecadas à temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas com granulação definida (10 mesh). Em seguida, o material vegetal (30 g) foi submetido à extração por hidrodestilação em um aparelho do tipo Clevenger modificado, por 4 h. O óleo essencial foi coletado, seco em Na₂SO₄ anidro, acondicionado em frascos de vidro âmbar e armazenado em freezer (-18°C) até serem analisados.

2.3 Quantificação dos fenóis das folhas de Jabuticabeira

2.3.1 Quantificação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu

O extrato das folhas (0,5 mL) foi diluído em água (5,0 mL) e, em seguida, foi adicionado 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu em um balão volumétrico de 25 mL. Após 5 min foram adicionados 10,0 mL de Na₂CO₃ (20%). O volume foi completado para 25 mL com água destilada, efetuando-se, após 1 hora, a leitura da absorção em 750 nm (DI MAJO *et al.*, 2008).

Para a quantificação dos fenóis totais foi obtida uma curva padrão de ácido tânico, nas concentrações de 0,02; 0,06; 0,10; 0,30; 0,50; 0,60 mg/mL, nas condições descritas acima. A equação da reta da curva de calibração ($y = 1,49180x + 0,06394$) apresentou um coeficiente de correlação linear, $r^2 = 0,999$. Todas as medidas foram feitas em duplicata.

2.3.2 Quantificação de taninos pelo método de Hagerman-Butler

Amostras de extrato das folhas (1,0 mL) foram misturadas a 2,0 ml de solução de albumina bovina sérica (1,0 mg/mL). Após centrifugação por 15 min (4000 rpm), o precipitado foi coletado e dissolvido com solução de SDS/Trietanolamina/isopropanol. Em seguida, adicionou-se 1,0mL de FeCl₃ (20%), efetuando-se as leituras de absorção em 510 nm, contra um branco, previamente preparado com solução de SDS/Trietanolamina/isopropanol e FeCl₃ (20%) (WATERMAN & MOLE, 1994).

Para a quantificação foi obtida uma curva padrão de ácido tânico, em concentrações de 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1,0 mg/mL, nas condições descritas acima. A equação da curva de calibração ($y = 1,47174x - 0,13603$) apresentou um coeficiente de correlação linear, $r^2 = 0,996$. Todas as medidas foram feitas em duplicata.

2.4 Análise química dos óleos essenciais das folhas de Jabuticabeira

As amostras dos óleos essenciais foram submetidas à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria quadrupolar de massas (CG/EM) em um equipamento Shimadzu, modelo QP505A, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano), mantendo-se uma vazão de 1 mL/min de Hélio, como gás de arraste. A temperatura do injetor foi mantida a 220°C e interface a 240°C, com um aquecimento com temperatura programada (60°C a 246°C, com um gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 260°C, mantendo-se uma isoterma de 1,6 min, com um tempo total de 65 min). O volume de injeção das amostras foi de 0,4 µL diluídas

em hexano (~10% p/v), com uma razão de split de 1:20. A análise foi conduzida no modo varredura, com a energia de ionização de 70 eV. O intervalo de massas foi de 40-400 m/z, a uma velocidade de 1,0 scan/s.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada por comparação dos espectros de massas e índices de retenção com os da literatura (ADAMS, 2007), além da busca (automática e manual) dos espectros de massas com àqueles das bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998). Os índices de retenção foram calculados através da co-injeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C₈-C₃₂ (Sigma, USA), e pela aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963). Utilizou, ainda, a co-injeção com padrões comerciais de óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry, Myrtaceae), ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. F. & Thoms., Annonaceae) e salvia clary (*Salvia sclarea* L., Lamiaceae). A análise quantitativa foi efetuada pela integração do Cromatograma Total de Íons (TIC). Os constituintes químicos identificados nos óleos essenciais foram ainda agrupados de acordo com seis classes biossintéticas (monoterpenos, hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterenos oxigenados, sesquiterpenos, hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sesquiterpenos oxigenados).

2.5 Análise química do solo e análise química foliar

As amostras de solo foram coletadas em uma profundidade de 0-20 e 20-40 cm em seis sítios localizados na Fazenda Jabuticabal. Essas amostras foram secas ao ar, misturadas e peneiradas (2 mm). A porção mais fina (< 2 mm) foi mantida para a análise físico-química (SILVA, 1999). O pH foi determinado em um volume de água-solo na razão 1:1. Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1 mol/L, e P, K, Zn, Cu, Fe, Mn, Mo foram extraídos com solução Mehlich. A matéria orgânica, capacidade de troca catiônica (CTC), potencial de acidez (H+Al), saturação por bases, saturação de Al, e textura do solo foram determinadas através da aplicação dos métodos habituais (SILVA, 1999). As características edáficas dos sítios de amostragem se encontram na Tabela 2.

Tabela 2. Resumo das principais características dos solos dos sítios de amostragem de *M. cauliflora*.

Solo	Características predominantes
S1	Arenoso (saibro), baixo equilíbrio de nutrientes.
S2	Arenoso/argiloso (areia branca).
S3	Arenoso/argiloso (cascalho).
S4	Argiloso (com adubação orgânica), maior equilíbrio de nutrientes.
S5	Argiloso ("terra roxa").
S6	Arenoso/argiloso, baixo equilíbrio de nutrientes.

Para análise foliar foram utilizadas amostras compostas de folhas de diferentes plantas coletados no mesmo solo, perfazendo um total de seis amostras, analisadas em duplicata. As análises foram efetuadas no Laboratório de Análise de Solos e Foliar da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (LASF-EAEA/UFG).

Os dados físico-químicos do solo e os dos nutrientes foliares (N, S, P, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, e Fe) (Apêndices 1 e 2) foram organizados em uma matriz contendo 26 variáveis para cada sítio de amostragem (matriz de dados ambientais).

2.6 Análise estatística

A análise estatística multivariada foi conduzida no programa CANOCO (Canonical Community Ordination) versão 4.5, juntamente com a interfase gráfica, CanoDraw versão 4.1. Os constituintes do óleo essencial (28 constituintes químicos distribuídos em seis classes biossintéticas) e o conteúdo de fenóis totais e taninos das folhas (36 variáveis) foram ordenados em uma matriz de dados denominada “espécie” (Apêndice 3), com 39 linhas representando as amostras em suas seis localidades de coleta (Matriz $39 \times 36 = 1404$). Os parâmetros físico-químicos do solo e dos nutrientes foliares (26 variáveis) foram ordenados em outra matriz de dados ambientais (Apêndice 4), com as linhas (39) representando as amostras coletadas nas seis localidades ($39 \times 26 = 1014$).

Para escolha do método de ordenação a ser empregado aos dados foi utilizado o comprimento do gradiente ambiental em unidades de desvio padrão (SD), obtido por meio da Análise de Correspondência “destendenciada” (DCA). Essa análise avalia a magnitude da dispersão na matriz “espécie” em relação à matriz ambiental ao longo do primeiro eixo de ordenação. Neste estudo, obteve-se que o gradiente foi menor do que 0,4 unidades de desvio padrão, sendo considerado uniforme (linear). Dessa forma utilizou-se a Análise de Redundância Canônica (RDA), a qual se assemelha a uma PCA “condicionada”, onde a matriz de dados ambientais condiciona o posicionamento dos pesos das “espécies” ou variáveis (LEPŠ & ŠMILAUER, 2007).

A RDA permite elucidar os padrões de variação explicada pelas relações entre a composição química do óleo essencial e do conteúdo fenólico em função dos parâmetros físico-químicos do solo e dos nutrientes foliares, tratados como variáveis ambientais. O teste de permutação de Monte Carlo irrestrito (999 permutações) foi utilizado para avaliar a significância dos autovalores dos dois primeiros eixos canônicos.

A Análise de Discriminante Linear (LDA) *via* CANOCO foi utilizada a fim de detectar os padrões de distribuição dos indivíduos (amostras) e identificar os constituintes dos

óleos essenciais e teor de fenóis capazes de discriminar os grupos de indivíduos. Nesse estudo, os grupos são codificados como variáveis categóricas com base na análise por RDA. 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 Bonferroni. A validação das funções discriminantes foi efetuada pelo método de validação cruzada. Antes da análise multivariada os dados foram pré-processados (centrados na média e auto-escalonados).

Em todas as tabelas os valores das médias foram comparados utilizando-se a Análise de Variância (ANOVA) pelo procedimento SAS GLM (Statistical Analysis Systems, SAS, San Diego, 1997). A homocedasticidade das variâncias foi verificada com o uso do teste de Hartley. Esse teste revelou desvios significativos da hipótese nula para os constituintes **19** (germacreno A) e **5** (δ -elemeno), **13** (α -humuleno), **14** (*allo*-aromadendreno) (Tabela 3), que foram submetidos à transformação angular e pela ordem dos mesmos (rank), respectivamente. Onde as diferenças entre as médias foram estabelecidas, aplicou-se o teste de Tukey para a comparação das médias. Os resultados são apresentados como valores médios e pelo desvio padrão das medições independentes em alguns casos. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais das folhas de 39 amostras de *M. cauliflora* conduziram a identificação de 28 constituintes químicos (Apêndice 5), representando 97-100% dos constituintes dos óleos essenciais. Os hidrocarbonetos sesquiterpênicos foram os predominantes em todas as amostras (47,50-57,22%), embora que o conteúdo de sesquiterpenos oxigenados tenha sido superior a 49% para algumas das amostras. Além disso, diferenças importantes nas quantidades dos constituintes dos óleos essenciais e nos teores de fenóis totais e taninos foram encontradas de acordo com o sítio de amostragem (Tabela 3).

A Análise de Variância indicou que as amostras do sítio S1 apresentaram os menores percentuais do germacreno D, biciclogermacreno e hidrocarbonetos sesquiterpênicos, embora com os maiores percentuais dos sesquiterpenos oxigenados e de α -, β -, e γ -eudesmol. Por outro lado, as amostras dos solos adubados (S4 e S5) apresentaram o menor teor de elemol, fenóis totais e taninos, embora tenham apresentado os níveis mais elevados de sesquiterpenos. Apesar da alta porcentagem de (*E*)-cariofileno em todas as amostras, este constituinte não revelou diferenças

significativas entre os sítios de amostragem. Os demais constituintes não apresentaram variação significativa entre os diferentes sítios de amostragem.

Tabela 3. Porcentagens^a dos constituintes voláteis e rendimentos dos óleos essenciais, e teor de fenóis totais e taninos (mg/g) das folhas de *M. cauliflora* dos sítios de amostragem S1-S6.

Constituinte	IR ^b	Sítios de amostragem					
		S1	S2	S3	S4	S5	S6
1 α -Pinenol ^c	931	0,24 a	0,47 a	0,40 a	t	t	0,35 a
2 β -Pinenol ^c	975	1,32 a	1,91 a	1,56 a	0,89 a	1,25 a	1,60 a
3 Limoneno ^c	1026	0,53 abc	1,00 a	1,01 ab	0,36 bc	0,22 c	0,90 ab
4 1,8-Cineol ^c	1029	0,48 a	0,81 a	0,78 a	t	0,45 a	0,76 a
5 δ -Elemeno ^g	1337	1,28 b	1,31 b	1,71 a	1,70 a	1,54 ab	1,75 ab
6 α -Copaeno ^c	1376	1,99 b	2,17 ab	2,35 ab	2,70 a	2,32 ab	2,28 ab
7 β -Bourboneno	1385	1,54 a	1,73 a	1,67 a	0,22 c	0,74 bc	1,12 ab
8 Desconhecido (M = 204)	1390	0,37 ab	0,75 ab	1,40 a	0,91 ab	0,80 ab	0,19 b
9 β -Elemeno ^e	1392	0,83 ab	0,67 ab	0,16 b	0,07 b	0,59 ab	1,24 a
10 (E)-Cariofileno ^{d,e}	1421	7,55 a	8,58 a	8,95 a	8,13 a	7,92 a	8,34 a
11 β -Copaeno	1429	0,41 a	0,44 a	0,50 a	0,20 a	0,18 a	0,30 a
12 6,9-Guaiadieno	1443	0,39 a	0,12 a	0,77 a	0,34 a	t	0,61 a
13 α -Humuleno ^{c,g}	1454	1,27 a	1,36 a	1,52 a	1,33 a	1,28 a	1,40 a
14 <i>allo</i> -Aromadendreno ^{c,g}	1461	0,51 a	0,63 a	0,56 a	0,32 a	0,51 a	0,67 a
15 Germacreno D ^e	1484	20,48 c	22,23 bc	23,59 abc	27,20 a	26,83 a	24,24 ab
16 δ -Selineno	1492	0,09 a	0,08 a	0,12 a	0,30 a	t	t
17 Bicyclgermacreno ^e	1498	6,29 c	6,72 bc	7,06 abc	7,82 a	7,33 ab	7,55 ab
18 α -Muuroloeno	1501	0,42 a	0,37 a	0,31 a	0,34 a	0,21 a	0,22 a
19 Germacreno A ^h	1506	0,07 b	0,31 ab	0,86 ab	0,52 aab	t	0,82 a
20 δ -Cadineno ^e	1524	2,69 b	2,75 b	2,81 ab	3,32 a	2,96 ab	2,78 b
21 Elemol	1550	3,69 b	4,39 a	4,77 a	2,12 c	2,55 c	4,73 a
22 Germacreno B	1558	1,34 d	1,42 cd	1,49 bcd	1,79 a	1,59 b	1,58 bc
23 Desconhecido (M = 220)	1578	1,04 b	1,52 a	1,13 ab	0,38 c	0,46 c	1,15 ab
24 Guaiol ^c	1601	0,29 a	0,15 a	0,33 a	0,32 a	t	0,27 a
25 Eremoligenol	1630	0,54 a	1,07 a	0,57 a	0,91 a	0,97 a	0,36 a
26 γ -Eudesmol	1634	11,55 a	9,64 ab	8,12 b	7,81 b	8,75 b	8,81 b
27 β -Eudesmol ^f	1653	19,20 a	15,68 ab	14,91 b	16,91 ab	17,46 ab	14,84 b
28 α -Eudesmol ^f	1656	12,72 a	11,24 ab	10,28 ab	12,41 ab	12,94 a	10,31 b
Monoterpenos		2,57 ab	4,19 a	3,75 ab	1,27 b	1,93 ab	3,61 ab
Hidrocarbonetos monoterpênicos		2,09 ab	3,39 a	2,97 ab	1,26 b	1,48 ab	2,85 ab
Monoterpenos oxigenados		0,48 a	0,81 a	0,78 a	t	0,45 a	0,76 a
Sesquiterpenos		96,54 ab	95,33 b	95,96 ab	98,08 a	97,98 a	95,54 b
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		47,50 b	51,64 ab	55,83 a	57,22 a	54,83 a	55,08 a
Sesquiterpenos oxigenados		49,04 a	43,70 ab	40,13 b	40,86 b	43,15 ab	40,46 b
Rendimento do óleo (%)		0,48 a	0,32 ab	0,35 ab	0,29 ab	0,26 b	0,48 a
Fenóis totais (mg/g)		136,68 b	120,91 c	119,94 c	79,69 e	111,77 d	145,04 a
Taninos (mg/g)		60,72 a	57,60 b	54,53 b	34,04 d	44,51 c	63,08 a

^a Médias baseadas nos dados originais. ^b Índice de Retenção. ^c Co-injeção com padrão. ^d Co-injeção com óleo essencial de cravo. ^e Co-injeção com óleo essencial de ylang-ylang. ^f Co-injeção com óleo essencial de sálvia clary. ^g Transformados pela ordem dos mesmos e ^h arco na ANOVA. t = traço (< 0,05%). Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os óleos essenciais de *M. cauliflora* apresentaram um rendimento médio de 0,37 \pm 0,13% (p/p), o solo com adubação orgânica (S4; rendimento do óleo essencial de

0,29%) e o com boas características de fertilidade (S5; 0,26%) apresentando o menor rendimento (Tabela 3). Os solos arenosos com baixo equilíbrio de nutrientes, S1 e S6, apresentaram os maiores rendimentos (0,48%).

Em relação à adubação, algumas espécies apresentaram maiores teores de óleos essenciais em solos adubados com fertilizantes químicos ou orgânicos, tais como as Lamiaceas, *Hyptis marruboides* Epling (SALES *et al.*, 2009) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.) (ANWAR *et al.*, 2005). Outras espécies são indiferentes à adubação, como *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) (EDRIS *et al.*, 2009). Já a espécie *Mentha arvensis* L. apresentou o rendimento de óleos essenciais progressivamente reduzidos com o aumento da adubação (SAXENA & SINGH, 1998). Esta divergência nas observações reflete a diversidade de fatores que influenciam o metabolismo vegetal, que é resultado da interação de fatores genéticos, bióticos e abióticos, podendo ainda um fator prevalecer sobre o outro.

Os sítios de amostragem nesse estudo diferem consideravelmente em respeito à textura e nutrientes minerais. As texturas dos solos variam de arenosa (S1), arenosa/argilosa (S2, S3 e S6) a argilosa (S4 e S5). Nos dois últimos tipos de solo a adubação ocorre, seja com adubo orgânico (S4) ou por apresentar coloração roxa conhecida como "terra roxa" (S5). Os solos S1 e S6 apresentaram o menor equilíbrio de nutrientes, enquanto o solo S2 mostrou considerável quantidade de ferro (Apêndice 1). A análise dos nutrientes foliares apresentou poucas variações em função do solo, sendo o manganês o responsável pela maior diferença entre os sítios de amostragem. Este mineral apresenta-se em maior quantidade nos solos S1 e S2, ambos predominantemente arenosos (Apêndice 2).

Os constituintes químicos dos óleos essenciais, incluindo as classes biossintéticas e os teores de fenóis totais e taninos (matriz espécie), juntamente com os parâmetros físico-químicos do solo e nutrientes foliares (matriz ambiental) foram analisados pela Análise de Redundância Canônica (RDA) (LEPS & SMILAUER, 2007). A RDA é utilizada para discriminar quais as variáveis que mais contribuem para a variância das espécies, e que percentagem desta variância é explicada por estas variáveis ambientais. No diagrama de ordenação da RDA, o comprimento dos vetores, que representam o conjunto ambiente, é proporcional a sua importância. Em adição, o ângulo entre um determinado vetor e cada eixo de ordenação representa o grau de correlação do vetor com o eixo canônico. As correlações espécie-ambiente são iguais à correlação entre os escores dos sítios de amostragem que são médias ponderadas das

espécies e dos escores dos sítios, que por sua vez, são combinações lineares das variáveis ambientais.

A Figura 13 apresenta os resultados da análise de ordenação por RDA. As correlações entre óleos essenciais/conteúdo de fenóis e variáveis ambientais foram maiores para os dois primeiros eixos canônicos e explicaram 84,7% da variância acumulada da relação óleo essencial/conteúdo de fenóis e variáveis ambientais. Estes resultados sugerem uma forte associação entre a composição química dos óleos essenciais e do conteúdo de fenóis totais e taninos com os parâmetros físico-químicos do solo e dos nutrientes foliares (fatores ambientais).

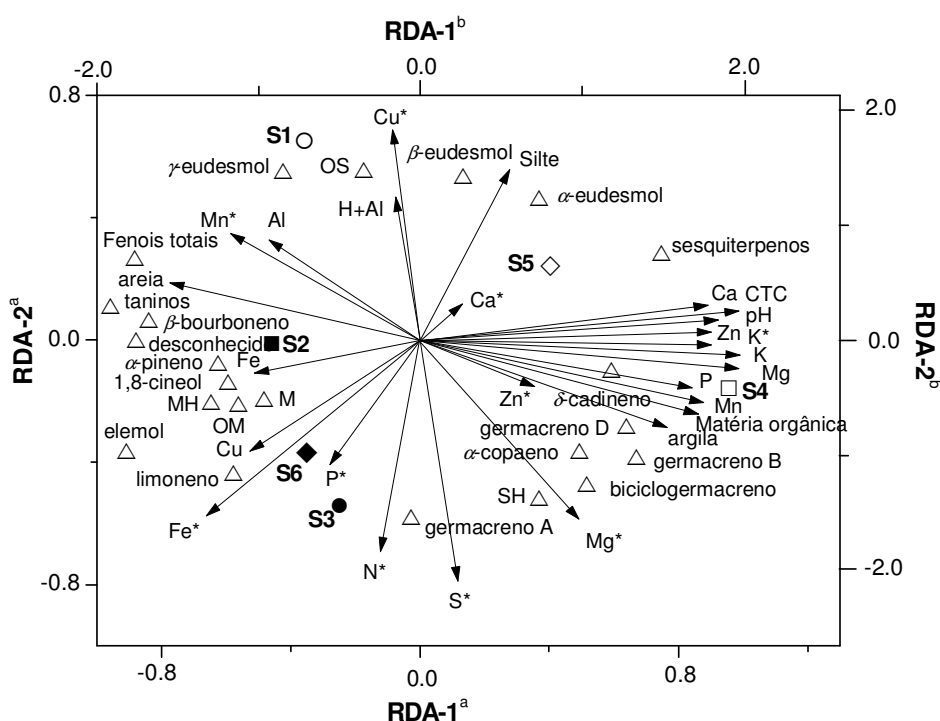


Figura 13. Ordenação dos dois primeiros eixos da RDA mostrando a distribuição dos sítios de amostragem da *M. cauliflora* (S1: ○, S2: ■, S3: ●, S4: □, S5: ◇, S6: ◆). Nutrientes das folhas (*) e parâmetros do solo foram tratados como variáveis ambientais e estão representados por vetores partindo da origem. ^a Eixos referentes aos escores das amostras e variáveis ambientais. ^b Eixos referentes aos loadings das variáveis do óleo e teores de fenóis totais e taninos. Constituintes do óleo essencial e os teores de fenóis totais e taninos estão representados por triângulos, cuja escala foi multiplicada por 10 para melhor visualização do diagrama. Somente as variáveis com contribuição >30% para os eixos encontram-se representadas. O eixo 1 representa 61% da variação da relação óleo essencial/teor de fenólicos-variáveis ambientais. Eixo 2: 23,7%.

De acordo com a Figura 13, o eixo RDA-1 apresenta uma forte correlação dos nutrientes do solo argiloso S4 (Mg, Ca, K, Zn, Mn, P, matéria orgânica e capacidade de troca catiônica) com sesquiterpenos, germacreno B, germacreno D, δ -cadineno e α -copaeno. Por outro lado, os monoterpêneos, β -bourboneno, elemol, fenóis totais e taninos correlacionaram-se com os solos arenosos (S1-S3 e S6), com teor de Fe acima dos valores frequentemente encontrados em solos de Cerrado (RESENDE, 2003). Em

adição, o eixo RDA-2 está associado a um aumento de micronutrientes foliares (Cu, Mn) nas amostras do solo S1, que também mostrou altos teores de sesquiterpenos oxigenados do grupo dos eudesmóis. Assim, enquanto a RDA-1 mostra as alterações na fertilidade do solo, a RDA-2 apresenta um diferencial de acumulação de nutrientes nas folhas amostradas em diferentes locais.

Para avaliar o nível de significância dos eixos de ordenação da RDA se utilizou o teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações), o qual se apresentou altamente significativo para os dois eixos canônicos (RDA-1: F -Fischer = 11,215; $p < 0,0001$; RDA-2: $F = 5,017$; $p < 0,0179$), sinalizando que os padrões de variação nas matrizes originais não surgem por acaso.

Em estudos com *Mentha arvensis*, com aplicações de soluções nutritivas de ferro em casa de vegetação, constatou-se uma forte correlação entre este elemento e a produção de monoterpenos (MISRA & SHARMA, 1991), resultados semelhantes apresentados nesse trabalho, onde o solo S2, rico em ferro, revelou uma forte correlação com os monoterpenos.

Vários estudos têm demonstrado o envolvimento de Cu e Mn na rota do ácido chiquímico, que conduz à síntese de compostos fenólicos, tais como flavonóides, taninos, e lignina (DIAZ *et al.*, 2001; GUANGQIU *et al.*, 2007). Em plantas com deficiência de Mn e Cu, a lignificação é prejudicada e os compostos fenólicos se acumulam nos tecidos das plantas (LIN *et al.*, 2005). Isto se deve em parte à queda na atividade da fenolase e lacase, enzimas que contêm cobre e que são enzimas-chave no processo de lignificação.

O efeito do íon cobre na biossíntese de taninos foliares tem sido descrita em mudas de *Aegiceras corniculatum* (L.) Blanco (Myrsinaceae) (GUANGQIU *et al.*, 2007). Inicialmente, a quantidade de tanino diminuiu com o aumento na oferta de cobre. Porém, quando o cobre atinge níveis tóxicos, a concentração de tanino também aumenta. Esses resultados mostraram que a biossíntese de compostos fenólicos é dependente dos níveis de Cu e Mn: a lignificação é inibida em tecidos deficientes e a produção de outros fenólicos é aumentada, o que provavelmente é o caso das amostras provenientes do solo S1. Quando Cu e Mn atingem níveis suficientes, a biossíntese de lignina é aumentada, provavelmente usando outros derivados fenólicos como intermediários.

A correlação positiva e negativa entre Mg foliar e Mn, respectivamente, e δ -cadineno está de acordo com a exigência de íons metálicos divalentes como cofatores enzimáticos pelas sesquiterpeno sintases (PICAUD *et al.*, 2005). Em pimenta, o único

subproduto (δ -cadineno) produzido por (*E*)- δ -farneseno sintase, na presença de íons Mg^{2+} , foi totalmente ausente na presença de íons Mn^{2+} (CROCK *et al.*, 1997). Além disso, em gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe, Zingiberaceae) a formação de germacrenos D e B, e biciclogermacreno a partir de farnesil difosfato, na presença da enzima germacreno D sintase, é favorecida com íons Mg^{2+} como cofator, embora seja inativada na presença de íons Cu^{2+} (PICAUD *et al.*, 2006). No presente estudo, efeitos semelhantes foram encontrados entre Mn foliar/ δ -cadineno e Cu foliar/germacrenos D e B, além de biciclogermacreno, os quais apresentaram uma correlação negativa entre si. O envolvimento enzimático na etapa de ciclização na biossíntese de sesquiterpenos é ilustrado na Figura 14.

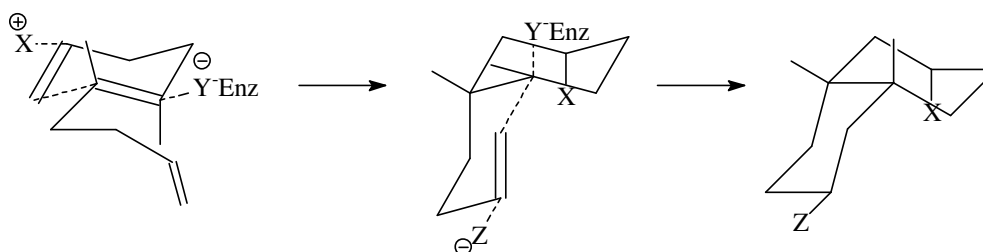


Figura 14- Ciclização de sesquiterpenos com intervenção de um grupo Y de origem enzimática. Onde X e Z representam grupos substituintes quaisquer. *Fonte:* TORSSELL, 1997.

Em relação aos teores dos fenóis totais e taninos nas folhas, verificou-se correlações de conteúdo dessa classe de compostos com amostras de solos arenosos sem adubação. Uma explicação para esta correlação é que os fenólicos, especialmente os flavonóides, estariam protegendo as folhas como agentes antioxidantes frente a condições de estresses abióticos (CLOSE *et al.*, 2005).

O teor de compostos fenólicos em tecidos vegetais tem sido relacionado à disponibilidade de nutrientes (KRAUS *et al.*, 2004). Na maioria dos estudos, a produção de compostos fenólicos diminui com uma alta disponibilidade de nitrogênio e aumenta com a deficiência de nitrogênio (LOPONEN *et al.*, 1998). Esta tendência não foi seguida por *M. cauliflora*, que não mostrou correlação entre o conteúdo de fenóis totais e taninos com os níveis de nitrogênio. Uma resposta semelhante foi descrita para a produção de taninos em *Colophospermum mopane* (J. Kirk ex Benth.) J. Léonard (Fabaceae) (FERWERDA *et al.*, 2005). Nesse trabalho, os fenóis apresentaram correlações significativas com três micronutrientes (Mn, Cu e Zn) e apenas um dos macronutrientes foliares (K).

Diversas hipóteses têm sido sugeridas sobre a relação entre a produção de compostos fenólicos e os fatores abióticos. Segundo Bryant *et al.* (1983), existe um balanço entre a taxa de fotossíntese e a taxa de crescimento vegetativo. Nessa hipótese

de balanço entre carbono e nitrogênio, a deficiência de nutrientes no solo conduz a uma diminuição no crescimento e na fotossíntese em decorrência da falta de metais necessários às atividades enzimáticas. Esse fato leva a um acúmulo de carboidratos, que irão impulsionar a produção de compostos fenólicos. No presente trabalho, os solos S1 e S2, com maiores deficiências nutricionais, apresentaram uma maior quantidade no teor desses compostos, enquanto que o solo com maior equilíbrio nutricional (S4), caracterizou-se por quantidades baixas de compostos fenólicos. Outras hipóteses convergem para as mesmas observações (HERMS & MATTSON, 1992). No entanto, devido à complexidade das relações entre o meio abiótico e biótico com o metabolismo das plantas, têm-se observado uma dificuldade de previsão na produção desses constituintes em níveis individuais (NITAO *et al.*, 2002).

A Análise de Discriminante Linear (LDA) foi realizada no conjunto de dados e as amostras dos seis sítios de amostragem foram agrupadas conforme mostrado na Figura 15. As variáveis preditoras foram o α -eudesmol, β -eudesmol, elemol, fenóis totais e taninos.

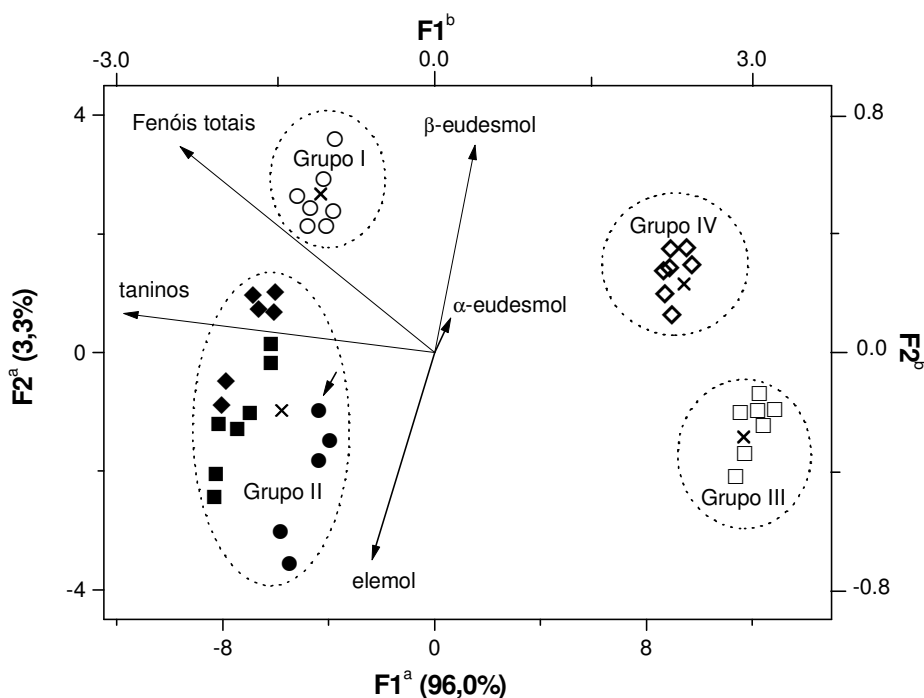


Figura 15. Análise discriminante canônica de amostras de folhas de *M. cauliflora* originárias de seis sítios de amostragem e os agrupamentos aos quais pertencem: I (S1, ○), II (S2, ■; S3, ● e S6, ◆), III (S4, □), e IV (S5, ◇). ^aEixo referente aos escores das amostras. ^bEixo referente aos pesos das variáveis discriminantes representadas por vetores partindo da origem. A seta pequena refere-se a uma amostra mal classificada pelo procedimento de validação cruzada. As cruzes representam os centróides de cada grupo e os valores entre parênteses referem-se à variância explicada em cada eixo discriminante.

A primeira função discriminante (F1) foi responsável por 96% da variabilidade total e distinguiu ($F = 43,944$; graus de liberdade, $GL = 15$ e 85 , $p < 0,0001$) as amostras do grupo I (S1) e II (S2, S3, e S6) das amostras dos grupos III (S4) e IV (S5) devido às diferenças nas quantidades de fenóis totais e taninos entre esses sítios. Por outro lado, a função discriminante F2 distinguiu ($F = 10,564$, $GL = 8$ e 64 , $p < 0,0001$) o grupo III (S2, S3 e S6) como resultado da baixa quantidade de elemol (Sumário – Apêndice 6).

Além disso, as duas funções discriminantes permitem classificar corretamente 98,6% das amostras, nos grupos de origem, por meio do procedimento de validação cruzada. Apenas uma amostra proveniente de um solo S3 (grupo II) foi classificada como pertencente do grupo I (S1). Tal divergência de classificação pode ser atribuída ao fato desta amostra possuir um maior nível de α -eudesmol e β -eudesmol, uma característica do sítio de amostragem S1.

Estudos anteriores também mostraram que o polimorfismo químico dos constituintes dos óleos essenciais de *Hyptis* (AZEVEDO *et al.*, 2002), *Thymus* (LOZIENE & VENSKUTONIS, 2005), *Baccharis* (SILVA *et al.*, 2007), *Lychnophora* (CURADO *et al.*, 2006) e espécies de *Eugenia* (DUARTE *et al.*, 2009) variam significativamente sob diferentes fatores ambientais, como a temperatura, latitude, umidade e composição físico-química do solo. Também foi descrito que as condições abióticas, tais como os nutrientes do solo, estresse hídrico, poluição, luz e altitude podem afetar a produção de fenóis e taninos de plantas (LOPES & GOBBO, 2007; LOPONEN *et al.*, 2001; ZIDORN *et al.*, 2005).

Embora a maior parte da variância total em estudo foi representada pelas relações ambientais entre as populações, uma parte significativa dessa variabilidade pode estar associada com variações genéticas nas populações amostradas.

4. CONCLUSÕES

A variabilidade química de compostos orgânicos presentes nas folhas de *M. cauliflora*, determinada por técnicas quimiométricas multivariadas, reflete a influência do ambiente sobre a composição do óleo essencial e sobre o teor de fenóis totais e taninos, embora possa também ser influenciada, mas com uma menor proporção, por fatores genéticos.

Os resultados encontrados revelaram que solos adubados forneceram menores quantidades de compostos fenólicos nas folhas da jabuticabeira, e, maior teor de sesquiterpenos. Enquanto que, em solos mais ácidos e com menor equilíbrio de

nutrientes as folhas apresentaram maior conteúdo de fenólicos, teor de β -eudesmol, α -eudesmol e γ -eudesmol.

Capítulo 2 –

Influência de fatores espaciais, edáficos e genéticos no teor de fenóis e nos óleos essenciais dos frutos da Jabuticabeira (*M. cauliflora*).

Publicado como: 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, v.23, p.737 - 746, 2012.

1. OBJETIVO

O presente estudo avaliou as alterações qualitativas e quantitativas nos constituintes químicos dos óleos essenciais e dos teores de compostos fenólicos, açúcares redutores e acidez dos frutos de *Myrciaria cauliflora* cultivadas em seis tipos de solo na Fazenda Jabuticabal, bem como o de avaliar a influência edáfica e espacial na produção desses constituintes químicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material botânico

Frutos de *M. cauliflora* cultivados sob diferentes regimes de solo foram coletadas na Fazenda Jabuticabal localizada no município de Hidrolândia/GO em setembro de 2009. No total foram coletadas amostras de frutos de 42 plantas de seis tipos de solo com idades variando de 10 a 40 anos (Tabela 1). Os frutos foram mantidos em freezer (-18°C) até serem analisados.

2.2 Extratos

2.2.1 Extração dos fenóis dos frutos de Jabuticabeira

Os frutos (1,0 g) de *M. cauliflora*, previamente homogeneizados e liofilizados foram misturados a 10 mL da mistura etanol/ácido fórmico (9:1). A mistura foi colocada em banho de ultrassom por 30 min. Em seguida, a mistura foi centrifugada durante 15 min (4000 rpm) e filtrada. A torta foi extraída por mais três vezes e os filtrados, reunidos e evaporados, foram transferidos para balões volumétricos de 10 mL e o volume completado com água deionizada. As 42 amostras foram extraídas e analisadas em duplicatas.

2.2.2 Extração dos óleos essenciais dos frutos de Jabuticabeira

Aproximadamente 900 g de frutos foram esmagados e submetidos à extração por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado por 4 h. O óleo essencial foi coletado, seco em Na₂SO₄ anidro, acondicionado em frascos de vidro âmbar e armazenado em freezer (-18°C) até serem analisados.

2.3 Quantificação dos compostos fenólicos dos frutos de Jabuticabeira

2.3.1 Quantificação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu

Amostras de extrato dos frutos (1,0 mL) foram diluídas em água deionizada (4,0 mL). Em um balão volumétrico de 25 mL, 0,3 mL dessa diluição foi combinada com 0,5 mL do

reagente de Folin-Ciocalteu. Após 1 min foram adicionados 4,0 mL de Na₂CO₃ (20%), o volume foi completado e após 30 min efetuou-se a leitura das absorvâncias a 750 nm (DI MAJO *et al.*, 2008).

Para a quantificação foram feitas curvas padrão de ácido tânico, em concentrações de 0,8; 1,0; 1,4; 1,6; 2,0 mg/mL, nas mesmas condições descritas acima. A equação da reta utilizada foi $y = 0,29229 x - 0,00399$, com um coeficiente de correlação de $r^2 = 0,987$. Todas as medidas foram feitas em duplicata.

2.3.2 Quantificação de taninos pelo método de Hagerman-Butler

Amostras de extrato dos frutos (1,0 mL) foram evaporadas até a metade do volume, diluiu-se o que restou com 0,5 mL de água destilada. Esta solução foi então misturada a 2,0 ml de solução de albumina bovina sérica (1,0 mg/mL). Após a separação do precipitado por centrifugação (4000 rpm, 15 min) este foi dissolvido com solução de SDS/Trietanolamina/isopropanol (4,0 mL) e adicionado 1,0 mL de FeCl₃ (20%). Após 15 a 30 min foram feitas as leituras das absorvâncias a 510 nm. Um branco foi preparado com solução de SDS/Trietanolamina/isopropanol e solução de FeCl₃ (WATERMAN e MOLE, 1994). Para a quantificação foram feitas curvas padrão de ácido tânico, em concentrações de 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1,0 mg/mL, nas mesmas condições descritas acima. A equação da reta utilizada foi $y = 1,94083 x - 0,13786$, com um coeficiente de correlação de $r^2 = 0,993$. Todas as medidas foram feitas em duplicata.

2.3.3 Quantificação de antocianinas totais monoméricas pelo método do pH diferencial.

Transferiu-se 0,5 mL do extrato dos frutos para dois balões volumétricos de 25 mL; completou-se um dos balões com solução tampão, pH 1,0, e outro com solução tampão, pH 4,5. As soluções permaneceram em repouso por 15 min, ao abrigo da luz, realizando-se a leitura das absorvâncias a 520 e 700 nm para cada sub-amostra em espectrômetro Beckman DU-70. Todas as medidas foram feitas em duplicata.

As concentrações de antocianinas foram expressas como cianidina-3-glicose em mg/g, calculadas de acordo com a equação 1 (REYNERTSON *et al.*, 2008):

(1) Concentração de antocianinas (mg/L) = $A \times MM \times FD \times 1000 / \epsilon \times b$ onde:

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm}) \times pH\ 1,0 - (A_{520nm} - A_{700nm}) \times pH\ 4,5$$

MM = 449 g/mol (massa molar da cianidina-3-glicose)

FD = fator de diluição (50)

ϵ = 26.900 l/mol/cm (coeficiente de extinção da cianidina-3-glicose)

b = 1 caminho ótico em cm.

2.4 Análise química dos óleos essenciais dos frutos de Jabuticabeira

As amostras dos óleos essenciais foram submetidas a uma análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria quadrupolar de massas (CG/EM) em um equipamento Shimadzu, modelo QP505A, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30 m de comprimento x 0.25 mm de diâmetro interno x 0.25 µm de espessura do filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano), mantendo-se uma vazão de 1 mL/min de Hélio, como gás de arraste; temperatura do injetor a 220°C e interface a 240°C e aquecimento com temperatura programada (60°C a 246°C, com um gradiente de 3°C/min; em seguida, a 10°C/min até 260°C, mantendo-se uma isoterma de 1,6 min, com um tempo total de 65 min). O volume de injeção das amostras foi de 0,4 µL diluídas em hexano (~20% p/v), com uma razão de split de 1:20. A análise foi conduzida no modo varredura, com a energia de ionização de 70 eV; intervalo de massa de 40-400 m/z e a uma velocidade de 1,0 scan/s.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada por comparação dos espectros de massa e índice de retenção com os da literatura (ADAMS, 2007), além da busca (automática e manual) dos espectros de massas com àqueles das bibliotecas NIST/EPA/NIH (1998). Os índices de retenção foram calculados através da co-injeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C₈-C₃₂ (Sigma, USA), e com a aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963). Utilizou, ainda, a co-injeção com padrões comerciais de óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry, Myrtaceae), ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. F. & Thoms., Annonaceae) e salvia clary (*Salvia sclarea* L., Lamiaceae). A análise quantitativa foi efetuada pela integração do Cromatograma Total de Íons (TIC). Os constituintes químicos identificados nos óleos essenciais foram ainda agrupados de acordo com seis classes biossintéticas (monoterpenos, hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos, hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sesquiterpenos oxigenados), bem como a partir de seus grupos biossintéticos, representados pelos esqueletos carbônicos dos constituintes químicos.

2.5 Determinação do teor de açúcares redutores do fruto da Jabuticabeira

Com os frutos liofilizados (0,2 g) realizou-se a extração a 50°C com 10 mL de água destilada em um banho de ultra-som durante 30 min. O extrato foi separado da porção sólida por centrifugação a 4000 rpm durante 15 min. O mesmo procedimento foi repetido duas vezes com 10 e 5 mL de água durante 15 min cada. Os extratos foram

combinados até um volume final de 25 mL. O teor de açúcares redutores foi determinado pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNSA) (MILLER, 1959). Uma alíquota (3,0 mL) do extrato diluído (5:100) foi misturada com 3,0 mL de DNSA e deixada durante 15 min em aquecimento em banho de água. Após o desenvolvimento de cor, 1,0 mL de solução a 40% tartarato duplo de sódio e potássio (sal de Rochelle) foi adicionado à solução. A absorbância foi medida em 540 nm em um espectrofotômetro (Beckman DU-70). Os resultados foram expressos em g de glicose /100 g de fruto seco. As medições foram realizadas em triplicata.

As análises foram realizadas no Laboratório de Bioatividade Molecular do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás sob a orientação da Prof. Dra. Suzana Costa Santos.

2.6 Determinação da acidez (titulável) do fruto da Jaboticabeira

A acidez total foi obtida por titulação de uma alíquota (5,0 mL) do extrato mencionado anteriormente, com 0,01 mol/L de NaOH até pH 8,2. Os resultados foram expressos como g ácido cítrico/100 g fruto seco. As medições foram realizadas em triplicata.

As análises foram realizadas no Laboratório de Bioatividade Molecular do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás sob a orientação da Prof. Dra. Suzana Costa Santos.

2.7 Análise estatística

A análise estatística multivariada foi conduzida no programa CANOCO (Canonical Community Ordination) versão 4.5, juntamente com a interfase gráfica, CanoDraw versão 4.1 (LEPŠ & ŠMILAUER, 2007). Os constituintes do óleo essencial (27 compostos voláteis, distribuídos em seis classes biossintéticas), fenóis totais, taninos, antocianinas, açúcares redutores e acidez (titulável) dos frutos foram ordenados em uma matriz de dados denominada “espécie” (Apêndice 7), com 42 linhas representando as amostras (sete amostras de cada um dos seis sítios) e 38 colunas representando as variáveis ($42 \times 38 = 1596$). Os parâmetros físico-químicos do solo (obtidos conforme descrito no item 2.5; Materiais e Métodos, Capítulo 1) foram ordenados em uma matriz de dados ambientais com 42 linhas representando as amostras (sete amostras de cada um dos seis sítios) e 18 colunas representando as variáveis de solo ($42 \times 18 = 756$) (Apêndice 8).

Para escolha do método de ordenação a ser empregado aos dados foi utilizado o comprimento do gradiente ambiental em unidades de desvio padrão (SD), obtido por meio da Análise de Correspondência “destendenciada” (DCA). Essa análise avalia a magnitude da dispersão na matriz “espécie” em relação à matriz ambiental ao longo do primeiro eixo de ordenação. Neste estudo, obteve-se que o gradiente foi menor do que 0,8 unidades de desvio padrão, sendo considerado uniforme (linear). Dessa forma utilizou-se a Análise de Redundância Canônica (RDA), a qual se assemelha a uma PCA “condicionada”, onde a matriz de dados ambientais condiciona o posicionamento dos escores das espécies ou variáveis (LEPŠ & ŠMILAUER, 2007). A RDA revelou uma ordenação dos dados da matriz espécie explicada por variáveis edáficas. O teste de permutação de Monte Carlo irrestrito (999 permutações) foi utilizado para testar a significância dos autovalores dos dois primeiros eixos canônicos.

A Análise de Discriminante Linear (LDA) *via* CANOCO foi utilizada a fim de se detectar os padrões de distribuição dos indivíduos (amostras) e identificar as variáveis capazes de discriminar os grupos de indivíduos. Nesse trabalho, os grupos são codificados como variáveis categóricas com base na análise por RDA. 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 Bonferroni. A validação das funções discriminantes foi efetuada pelo método de validação cruzada.

O particionamento da variação total dos dados espécie foi obtida por meio de RDA parciais, utilizando os dados de solo e espaciais dos sítios de amostragem (BORCARD *et al.*, 1992; MÉOT *et al.*, 1998; LEGENDRE & LEGENDRE, 2003; WAGNER & FORTIN, 2005). Os dados espaciais utilizados foram as coordenadas geográficas (UTM; norte, leste, altitude) dos pontos de amostragem (latitude, longitude, e altitude). Para modelar a influência espacial, os dados das coordenadas foram submetidos a uma PCA, e a partir desta análise foram extraídos os dois primeiros eixos fatoriais que representam as novas coordenadas espaciais X e Y. A superfície espacial foi obtida utilizando as novas coordenadas X e Y, com a adição de todos os termos de uma equação polinomial de terceiro grau completa ($X^3 + X^2 + X + Y^3 + Y^2 + Y + X^2Y + XY^2 + XY$). Os termos significativos do polinômio foram selecionados pelo procedimento de seleção progressiva de variáveis disponível no programa CANOCO, com o nível de significância ajustado pelo método de Bonferroni e utilizando o fator de inflação da variável para avaliar a multicolinearidade na regressão e diminuir erro tipo I (JONGMAN

et. al., 2002; TER BRAAK & ŠMILAUER, 2002; ŠMILAUER, 2003; LEPŠ & ŠMILAUER, 2007).

O particionamento da variação total dos dados da matriz espécie (denominada matriz resposta) resultou em quatro frações de variação dos dados: [A] fração da variância explicada por fatores edáficos, sem a influência dos dados espacial; [B] fração da variância explicada pela interação dos dados espaciais e edáficos; [C] fração da variância explicada por fatores espaciais, sem a influência dos fatores edáficos e [D] variação não explicada pelos conjuntos de dados. Além disso, o teste generalizado (linear) de Mantel foi utilizado para testar a importância das relações de similaridade entre a matriz espécie e a matriz de distância geográfica. A distância Euclidiana foi usada para calcular as matrizes de similaridade. Antes da análise multivariada, os dados foram pré-processados (centrados na média e auto-escalados). Todas as variáveis químicas do solo, exceto pH, fenóis, açúcares redutores e acidez dos frutos foram transformados utilizando a expressão $\log(x+0,5)$. Os constituintes dos óleos essenciais, a textura e matéria orgânica do solo foram submetidas à transformação angular.

Em todas as tabelas os valores das médias foram comparados utilizando-se a análise de variância (ANOVA) pelo procedimento SAS GLM (Statistical Analysis Systems, SAS, San Diego, 1997). A homocedasticidade das variâncias foi verificada com o uso do teste de Hartley; quando a heterocedasticidade foi observada, a variável foi submetida à transformação angular e pela ordem dos mesmos (rank). Onde as diferenças entre as médias foram estabelecidas, aplicou-se o teste de Tukey para a comparação das médias. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais de 42 amostras dos frutos de *M. cauliflora* conduziu a identificação de 27 constituintes químicos, representando 97-100% dos constituintes químicos (Apêndice 9). Os sesquiterpenos oxigenados foram os constituintes predominantes em todas as amostras (63,8-66,3%), com quantidades elevadas dos isômeros do tipo eudesmóis (intervalo de 50,8%-71,4%). Nas folhas, os hidrocarbonetos sesquiterpênicos foram os constituintes majoritários (48-58%).

Ao se comparar os constituintes dos óleos essenciais dos frutos com os obtidos das folhas observa-se que o óleo essencial dos frutos apresentou altas quantidades de γ -eudesmol (34,4-39,7%, 8-12% nas folhas), monoterpenos (11,9-16,9%, 2-4% nas folhas) e α -eudesmol (13,5-15,4%; 10-13% nas folhas), mas baixa quantidade de germacreno D (4,0-6,0%; 20-27% nas folhas). Outros constituintes como β -eudesmol

(7,8-10,5%), (*E*)-cariofileno (4,4-6,1%) e biciclogermacreno (3,1-5,6%) apresentaram percentuais que corresponderam aproximadamente à metade do valor encontrado nas folhas. Outros vinte constituintes minoritários (< 5%) só foram identificados ou nos óleos essenciais das frutas ou das folhas.

Esta semelhança entre voláteis de folhas e frutos abre a possibilidade de utilização das folhas para obtenção de um aroma natural de jabuticaba, que poderia ser utilizado em perfumes, cosméticos e alimentos.

Há poucos trabalhos na literatura sobre óleos essenciais de frutas da família Myrtaceae (apenas 12 espécies), os quais se concentram principalmente nos gêneros *Eugenia* (4), *Campomanesia* (2) e *Psidium* (2) (STEFANELLO *et al.*, 2011). Ao contrário do observado neste trabalho, os constituintes do óleo essencial do fruto de *M. dubia* (Kunth) McVaugh (fruto amazônico conhecido como camu-camu) não diferiram significativamente dos obtidos a partir do óleo essencial das folhas (QUIJANO & PINO, 2007; 2008).

Neste trabalho observou-se, ainda, que pelo menos para *M. cauliflora* a idade da planta não influenciou na composição do óleo essencial (FORTES *et al.*, 2011).

Os constituintes químicos do tipo eudesmóis desempenham função de defesa das plantas, incluindo a resistência ao ataque de formigas, insetos e patógenos sazonais, bem como atividade antifúngica (KUSUMA, *et al.*, 2004; MARSARO *et al.*, 2004; ABDULKHADER *et al.*, 2006; MARINHO *et al.*, 2008). Eles também são conhecidos por apresentar vários efeitos benéficos para a saúde humana e são descritos como compostos com potencial para tratamentos de crises epilépticas (CHIOU *et al.*, 1997), doenças angiogênicas (KIMURA, 2005; TSUNEKI *et al.*, 2005), enxaqueca e demência (OBARA, *et al.*, 2006; HORAK *et al.*, 2009). Em função de sua crescente importância, a produção de β -eudesmol, utilizando enzimas modificadas em *Escherichia coli*, tem sido descrita por engenharia genética (YU *et al.*, 2008).

A Análise de Variância indicou que as amostras de frutos do sítio S1, o qual apresenta menor balanço de nutrientes, teve o menor percentual de (*E*)-cariofileno, α -eudesmol e hidrocarbonetos sesquiterpênicos, apresentaram maiores teores de fenóis totais, taninos e antocianinas, mas com um conteúdo de açúcar redutor moderado (Tabela 4). Por outro lado, as amostras dos solos adubados (S4 e S5) apresentaram menor teor de açúcares redutores, limoneno, 1,8-cineol e elemol, mas quantidades maiores de (*E*)-cariofileno e germacreno D. Nos teores de hidrocarbonetos sesquiterpênicos, compostos fenólicos (fenóis totais, taninos e antocianinas), açúcares redutores e acidez dos frutos foram observadas diferenças significativas entre os sítios

de amostragem, ao passo que as outras classes biossintéticas dos terpenos não revelaram diferenças significativas entre as amostras.

Tabela 4. Porcentagens e rendimentos dos constituintes dos óleos essenciais, compostos fenólicos, açúcares redutores e acidez do fruto de *M. cauliflora* dos sítios de amostragem S1-S6.

Constituinte	IR	Sítios de amostragem					
		S1	S2	S3	S4	S5	S6
1 α -Pino	933	0,73 a	0,59 a	0,59 a	0,45 a	0,50 a	0,81 a
2 β -Pino	976	1,04 a	0,95 a	0,99 a	1,04 a	0,85 a	0,94 a
3 β -Mirceno	990	0,50 a	0,42 a	0,28 a	0,14 a	0,29 a	0,32 a
4 α -Felandreno	1005	0,44 a	0,37 a	0,34 a	0,08 a	0,43 a	0,34 a
5 Limoneno	1028	5,37 a	4,65 ab	3,96 ab	2,90 b	3,86 ab	5,00 a
6 1,8-Cineol	1031	0,68 a	0,36 b	0,26 b	0,20 b	0,05 b	0,92 a
7 (Z)- β -Ocimeno	1035	2,26 a	2,18 ab	1,74 ab	1,40 b	1,75 ab	1,54 ab
8 (E)- β -Ocimeno	1046	3,10 a	3,13 a	3,26 a	2,88 a	3,60 a	2,45 a
9 Linalool	1100	1,03 ab	1,45 a	0,80 b	1,10 ab	1,15 ab	1,04 ab
10 α -Terpineol	1191	1,80 a	1,82 a	1,84 a	1,75 a	1,59 a	1,63 a
11 δ -Elemeno	1338	0,39 ab	0,40 b	0,72 ab	0,66 ab	0,81 a	0,45 ab
12 α -Copaeno	1377	0,55 ab	0,10 b	0,83 a	1,01 a	0,74 ab	0,90 a
13 (E)-Cariofileno	1421	4,31 b	4,41 ab	5,53 ab	6,09 a	5,30 ab	5,18 ab
14 α -Humuleno	1455	0,62 a	0,80 a	0,92 a	0,95 a	0,89 a	0,80 a
15 Germacreno D	1483	4,86 bc	4,85 bc	4,89 abc	5,96 a	5,45 ab	3,97 c
16 δ -Selineno	1492	0,56 b	0,69 b	0,76 b	0,89 ab	0,66 b	3,60 a
17 Bicyclgermacreno	1498	3,10 a	3,19 a	3,65 a	3,87 a	3,55 a	3,08 a
18 δ -Cadineno	1525	1,73 a	1,74 a	2,23 a	2,46 a	2,04 a	1,87 a
19 Elemol	1550	1,05 cb	1,09 abc	1,10 ab	0,35 d	0,79 cd	1,34 a
20 Germacreno B	1559	t	0,14 a	0,09 a	0,26 a	0,24 a	t
21 Globulol	1586	0,92 b	1,21 ab	1,52 a	1,59 a	1,46 a	1,40 a
22 Cubeban-11-ol	1596	0,29 a	0,90 a	0,84 a	1,27 a	1,12 a	0,64 a
23 10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	1622	1,53 ab	1,77 a	1,79 a	1,75 a	1,53 ab	0,61 b
24 γ -Eudesmol	1637	39,67 a	39,13 a	36,95 ab	35,90 b	37,04 ab	34,36 b
25 Cubenol	1645	0,06 a	0,36 a	t	0,86 a	0,24 a	0,49 a
26 β -Eudesmol	1654	7,97 b	7,82 b	7,99 b	7,83 b	7,99 b	10,49 a
27 α -Eudesmol	1658	13,53 b	13,97 ab	14,10 ab	14,24 ab	14,41 ab	15,38 a
Monoterpenos		16,94 a	15,90 a	14,06 a	11,94 a	14,06 a	14,98 a
Hidrocarbonetos monoterpênicos		13,43 a	12,28 a	11,16 a	8,88 a	11,28 a	11,40 a
Monoterpenos oxigenados		3,51 a	3,63 a	2,91 a	3,05 a	2,78 a	3,58 a
Sesquiterpenos		81,16 a	82,56 a	83,94 a	85,95 a	84,25 a	84,58 a
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		16,13 b	16,31 b	19,63 ab	22,15 a	19,67 ab	19,86 ab
Sesquiterpenos oxigenados		65,03 a	66,25 a	64,30 a	63,80 a	64,58 a	64,72 a
Rendimento do óleo (% p/p)		0,004 a	0,003 ab	0,003 ab	0,003 b	0,002 b	0,003 ab
Fenóis Totais (mg/mL)		2,17 a	1,28 bc	1,28 bc	1,69 b	1,17 c	1,20 c
Taninos (mg/mL)		0,78 a	0,46 b	0,40 b	0,43 b	0,23 c	0,47 b
Antocianinas (mg/mL)		0,37 a	0,20 bc	0,22 bc	0,28 ab	0,19 c	0,13 c
Açúcares redutores (g/100 g)		50,38 c	58,67 b	58,97 ab	41,07 d	41,61 d	66,81 a
Acidez fruto (g/100 g)		8,79 a	8,62 a	7,67 a	8,16 a	8,51 a	5,79 b

IR = Índice de Retenção t = traço (< 0.05%). Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os constituintes químicos dos óleos essenciais também foram agrupados de acordo com esqueletos de carbonos (grupos biossintéticos) em cada sítio de amostragem. Os dados foram normalizados em conformidade com a porcentagem total identificada em cada local e as médias comparadas por meio de ANOVA (Apêndice 11).

A Figura 16 apresenta os resultados da análise de ordenação via RDA. As correlações entre os conjuntos de dados espécie e ambiente foram maiores nos dois primeiros eixos canônicos (0,774 e 0,911). O teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações) apresentou resultados altamente significativos para os dois primeiros eixos canônicos (RDA-1: F -Fischer = 6,300; $p < 0,0002$; RDA-2: $F = 6,123$; $p < 0,0002$), sinalizando que os padrões de variação nas matrizes originais não surgem ao acaso. A soma dos autovalores canônicos também foi altamente significativa (traços = 0,324 e 0,179; F -valores = 4,434 e 3,257, $p < 0,0001$) (JONGMAN *et. al.*, 2002; TER BRAAK & ŠMILAUER, 2002; ŠMILAUER, 2003; LEGENDRE & LEGENDRE, 2003; LEPŠ & ŠMILAUER, 2007). Estes resultados sugerem uma associação moderada, mas significativa, entre os constituintes do óleo essencial, teores de fenólicos, açúcares redutores e acidez dos frutos com os parâmetros nutricionais e textura do solo (fatores ambientais).

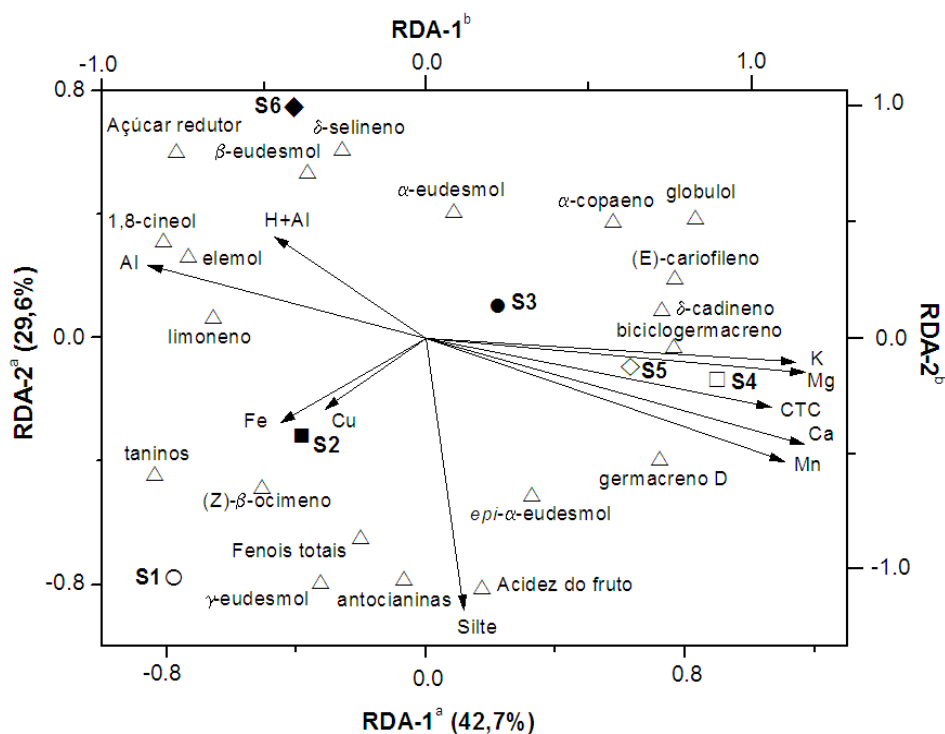


Figura 16. Ordenação dos dois primeiros eixos da RDA mostrando a distribuição dos sítios de amostragem de *M. cauliflora* (S1: ○, S2: ■, S3: ●, S4: □, S5: ◇, S6: ◆). Parâmetros do solo foram tratados como variáveis ambientais e estão representados por setas longas a partir da origem. ^a Eixos referentes as scores das amostras e variáveis ambientais. ^b Eixos referentes aos loadings das variáveis do óleo e teores de fenóis totais e taninos. Constituintes do óleo, fenólicos, açúcares redutores e a acidez do fruto são representados pelos triângulos, cuja escala foi multiplicada por 10 para melhor visualização do diagrama. Somente as variáveis com contribuição >30% para os eixos encontram-se representadas.

De acordo com o apresentado na Figura 16, o eixo RDA-1 apresenta uma correlação entre os nutrientes dos solos argilosos adubados, S4 e S5 (Mg, Ca, K, Mn e capacidade de troca catiônica), com os sesquiterpenos (*E*)-cariofileno, δ -cadineno e o grupo dos germacrenos (germacreno B, germacreno D e biciclogermacreno) de amostras dos frutos. Um aumento no valor do eixo RDA-2, por sua vez, está associado a um aumento da acidez representada pelas variáveis Al e potencial (H+Al) em solos argilo-arenoso, S6, no qual as amostras dos frutos apresentaram teores elevados de açúcares redutores, α - e β -eudesmóis. Além disso, o aumento no eixo RDA-2 está associado a uma redução na textura do solo e teores de Fe e Cu no solo S1, cujas amostras dos frutos apresentam valores elevados de acidez, fenóis totais, taninos e teor de γ -eudesmol. Assim, enquanto o eixo 1 mostra as alterações na fertilidade do solo, o eixo 2 descreve um diferencial na textura do solo em diferentes locais.

Resultados semelhantes foram obtidos a partir dos constituintes químicos dos óleos essenciais agrupados de acordo com o esqueleto de carbono (Apêndice 12).

A correlação positiva entre acidez do solo S6 e o conteúdo de β -eudesmol ($p < 0,05$) é consistente com o descrito para a acumulação de β -eudesmol em raízes de *Atractylodes lancea* Thunb. (Asteraceae) cultivada em solos mais ácidos (YUAN *et al.*, 2009). Semelhante ao descrito para o óleo essencial das folhas de *M. cauliflora*, os hidrocarbonetos sesquiterpênicos apresentaram correlação com íons metálicos divalentes, especialmente Mg^{2+} , os quais atuam como cofatores enzimáticos pelas sesquiterpeno sintases (PICAUD *et al.*, 2005).

A análise revelou que o solo arenoso com baixa disponibilidade de nutrientes (S1) apresenta significativo conteúdo de compostos fenólicos. Este fato pode estar associado ao poder antioxidantes destes compostos, que atuam na proteção dos frutos contra estresses abióticos (CLOSE *et al.*, 2005). O teor de compostos fenólicos em tecidos vegetais tem sido relacionado com as disponibilidades de luz e nutrientes. Na maioria dos estudos, a produção de compostos fenólicos diminui com uma alta disponibilidade de nitrogênio e aumenta com a deficiência de nitrogênio (LOPONEN *et al.*, 1998; HAUKIOJA *et al.*, 1998). Por outro lado, uma correlação positiva entre compostos fenólicos e disponibilidade de luz tem sido observada em alguns trabalhos (INGERSOLL *et al.*, 2010; HAGEN *et al.*, 2007). Esta tendência foi observada nos frutos de *M. cauliflora*, que apresentaram os níveis mais baixos de fenólicos em solos adubados (S4, S5). No entanto, os altos teores de açúcares redutores esperado nos solos férteis S4 e S5 não foram observados. Os sítios de amostragem S4 e S5 recebem uma menor luminosidade solar, devida ao fato das árvores possuírem copas altas e largas que

forma uma espécie de “cobertura”. Esta menor luminosidade pode estar atuando como um fator limitante na biossíntese de ambos os metabólitos, açúcares e compostos fenólicos.

Os resultados estão de acordo com a hipótese do balanço entre carbono/nitrogênio. Segundo os autores, condições de baixa luminosidade, combinado com uma fonte de nutrientes elevada, mesmo quando os nutrientes estão em equilíbrio, podem produzir plantas com baixas concentrações de carboidratos, e, conseqüentemente, concentrações muito baixas de compostos que atuam na defesa da planta. Os poucos carboidratos que são produzidos na fotossíntese são usados para o crescimento da planta, ficando indisponíveis para a biossíntese de metabólitos especiais baseados em carbono (como fenóis e terpenos) (BRYANT *et al.* 1983).

A Análise de Discriminante Linear (LDA) foi realizada no conjunto de dados e as amostras dos seis sítios de amostragem foram agrupadas em quatro classes conforme mostrado na figura 17.

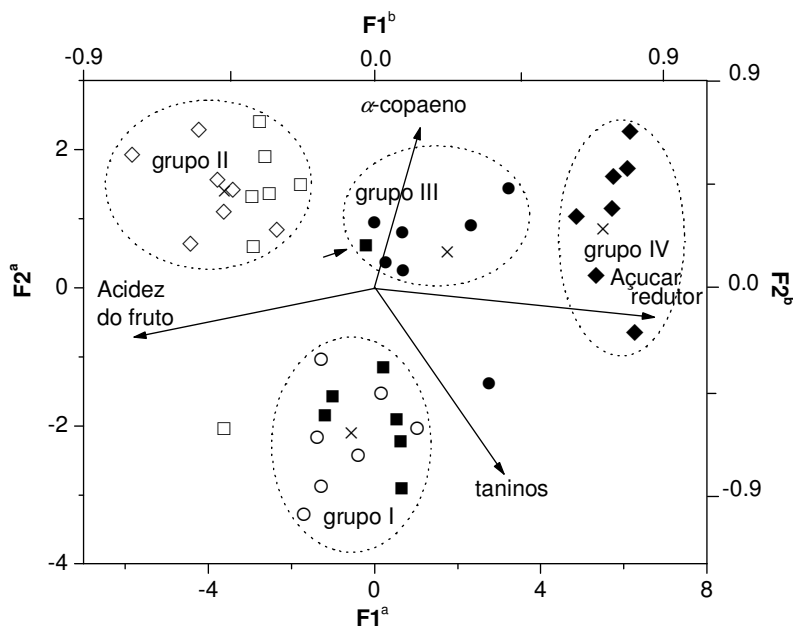


Figura 17. Análise discriminante canônica de amostras dos frutos de *M. cauliflora* originárias de seis sítios de amostragem, de acordo com os agrupamentos aos quais pertencem I (S1, ○; S2, ■), II (S4, □; S5, ◇), III (S3, ●), e IV (S6, ◆). ^aEixo referente aos escores das amostras. ^bEixo referente aos pesos das variáveis discriminantes representadas por vetores partindo da origem. A seta pequena refere-se a uma amostra mal classificada pelo procedimento de validação cruzada. Cruzes representam os centróides de cada grupo e os valores entre parênteses referem-se à variância explicada em cada eixo discriminante.

As variáveis preditoras foram o α -copaeno, acidez do fruto, taninos e açúcares redutores. A primeira função discriminante (F1) foi responsável por 85% da variabilidade total e distinguiu ($F = 23,05$; graus de liberdade, $GL = 12$ e 92 , $p < 0,00001$) as amostras dos grupos II (S4 e S5) de IV (S6) devido a quantidades de acidez dos frutos e açúcares

redutores. A segunda função discriminante (F2) distinguiu ($F = 9,79$; $GL = 6$ e 72 , $p < 0,0001$) as amostras do grupo I (S1 e S2), como resultado da alta quantidade de taninos e baixa quantidade de α -copaeno (Sumário – Apêndice 10).

Além disso, as duas funções discriminantes permitiram classificar corretamente 93% das amostras nos grupos de origem, por meio do procedimento de validação cruzada. Apenas uma amostra proveniente do solo S2 (grupo I) foi classificada como pertencente ao grupo III (S3). Tal divergência de classificação pode ser atribuída ao baixo teor de tanino nesta amostra.

As médias das porcentagens dos constituintes dos óleos essenciais (individuais e agrupados por esqueletos carbônicos), compostos fenólicos, açúcares redutores e acidez titulável nas amostras dos frutos também foram comparadas via ANOVA, de acordo com os grupamentos gerados na Análise discriminante canônico (Apêndices 13 e 14).

A importância dos fatores ambientais na produção de constituintes químicos pelos frutos da Jaboticabeira sugere que os fabricantes de produtos derivados destes frutos devem concentrar seus esforços em condições ambientais locais, as quais são estruturadas espacialmente. A estrutura espacial de um conjunto de dados é geralmente descrita por um variograma empírico, um gráfico da variação entre os pares de observações versus sua distância no espaço geográfico. Alternativamente, este tipo de covariação pode ser abordado por métodos de ordenação condicionados considerando a localização espacial de cada indivíduo como uma variável sobre a qual análises estatísticas multivariadas são executadas. Os procedimentos avaliam a importância relativa dos conjuntos de dados edáficos e espaciais. Neste estudo, o particionamento da variação foi realizada em dois conjuntos de matrizes, um contendo os dados de óleos essenciais dos frutos (set 1) e o outro contendo fenóis totais, taninos, antocianinas, açúcares redutores e acidez dos frutos (chamado fenólicos, set 2) (Tabela 5).

Os resultados do particionamento da variação mostrou que a variação explicada por fatores edáficos ([A] na Tabela 5) é semelhante para ambos os conjuntos de dados (23,6% e 21,4% para os óleos e os dados fenólicos, respectivamente), enquanto que 8,6% e 54,4% da variação nos óleos essenciais e fenólicos, respectivamente, foi explicada pelas variáveis espaciais ([B + C]).

Na análise de relações entre as matrizes resposta e variáveis espaciais, as novas coordenadas X e Y foram geradas por adição de todos os termos de uma equação polinomial de terceiro grau (conforme descrito na seção experimental), o que assegura não só o padrão de gradiente linear em cada conjunto de dados, mas também uma

descrição mais complexa da superfície, considerando a existência de possíveis irregularidades no relevo. Isto se torna possível com utilização de termos quadráticos e cúbicos (bem como suas interações) na equação polinomial utilizada para descrever o espaço geográfico onde foram realizadas as amostragens. A fim de evitar multicolinearidade, os monômios significativos foram selecionados pelo procedimento de seleção progressiva de variáveis, que manteve os seguintes termos: x^2 e y^2 (dados do óleo); x , y , y^2 e y^3 (dados fenólicos). O Teste de permutação de Monte Carlo aplicado ao traço da matriz (soma de todos os autovalores canônicos) confirmou a importância da relação canônica entre cada matriz resposta e as variáveis espaciais ($p < 0,037$).

Tabela 5. Resumo da partição da variância obtida por RDA parcial dos constituintes dos frutos de *M. cauliflora*, com dados de solo e espaciais como preditores.

Variáveis explicativas	Fração da Variância	Variância explicada ^a		P (Soma λ) ^b		λ_1 ^c		P (λ_1)	
		Set 1 ^d	Set 2	Set 1	Set 2	Set 1	Set 2	Set 1	Set 2
Fatores totais									
Edáfico, Espacial	[A+B+C]	32,6	75,9	0,001	0,001	0,152	0,445	0,001	0,001
Fatores parciais									
Edáfico	[A+B]	24,9	68,8	0,001	0,001	0,154	0,432	0,001	0,001
Edáfico (espacial) ^e	[A]	23,6	21,4	0,001	0,001	0,118	0,182	0,002	0,001
Espacial	[B+C]	8,6	54,4	0,037	0,001	0,430	0,430	0,001	0,001
Espacial (edáfico)	[C]	7,5	7,1	0,018	0,005	0,059	0,043	0,076	0,031
Interação (fatores)									
Edáfico, espacial	[B]	1,3	47,4						
Resíduos	[D]	67,4	24,1						

^a Soma dos autovalores canônicos (λ) divididos pela inércia total ($1,0 \times 100$). ^b Probabilidade obtida pelo teste de Monte Carlo (999 permutações). ^c Primeiro autovalor. ^d Set 1: conjunto de dados dos constituintes do óleo essencial; Set 2: conjunto de dados dos compostos fenólicos, açúcares redutores e acidez dos frutos. ^e Conjunto de dados como covariável. Dados espaciais são os termos significativos (set 1: x^2 , y^2 ; set 2: x , y , y^2 , y^3) do polinômio de terceira ordem obtidos a partir dos dois primeiros eixos da PCA feita com as coordenadas geográficas em UTM dos sítios de amostragem. Set = Conjunto.

A fração [C], aproximadamente 7% em cada conjunto de dados, corresponde a uma variação explicada pela matriz espacial independentemente de fatores edáficas. A fração [B], obtida subtraindo-se a fração [A] de [A + B], representa 47,4% das variações dos compostos fenólicos e apenas 1,3% das variações do óleo. Esta fração representa a variação explicada pelo efeito conjunto dos fatores espaciais e edáficos.

Portanto, quase toda a variação explicada no conjunto de dados fenólicos deve ser modelado por variáveis edáficas espacialmente estruturadas, isto é, variações nos fenóis totais, taninos, antocianinas, açúcares redutores e acidez do fruto são ambientalmente determinadas (por fatores espaciais e edáficos), enquanto que a porcentagem elevada de variação não explicada do conjunto de dados dos óleos essenciais (ver resíduos, [D]) sugere que a variabilidade química deve ser principalmente determinada por fatores genéticos.

A visualização do particionamento da variação total dos dois conjuntos de resposta pode ser obtida pela Figura 18, representada pelo diagrama de Venn, o qual sumariza as diversas frações da variabilidade total.



Figura 18 – Diagrama de Venn representando o particionamento da variação total dos dados fenólicos e constituintes dos óleos essenciais utilizando os fatores edáficos e espaciais como conjuntos de variáveis predictoras.

Após a remoção do efeito da estrutura espacial, as correlações do solo argiloso com o primeiro eixo aumentam, enquanto que silte mantém uma forte correlação negativa, mas com o primeiro eixo (Tabela 6). A variância explicada por essas duas variáveis (55,2%) contribui consideravelmente ($p < 0,001$) para determinar a variação local no conjunto de dados fenólicos.

Tabela 6. Correlações entre os fatores edáficos selecionados e os eixos da RDA parcial.

Fator Edáfico	Fração do particionamento da variação			
	[A+B]		[A]	
	RDA1	RDA2	RDA1	RDA2
Argila	-0,0849	0,8372	-0,9218	-0,0169
Silte	0,8136	0,0646	-0,8689	0,0344
Fe	-0,0804	-0,1455	0,2628	0,1802
P	0,2855	0,3678	-0,6019	0,3488

As propriedades físico-químicas dos solos são devidas principalmente à elevada superfície específica e à alta reatividade apresentada pelos componentes da fração argila (minerais secundários, óxidos de ferro e alumínio e matéria orgânica). Do ponto de vista de fertilidade, solos argilosos, em especial com as maiores quantidades de matéria orgânica são desejados, já que esses solos possuem valores de capacidade de troca catiônica elevada e, com isso, maiores quantidades de cátions podem ser armazenadas e posteriormente, cedidas aos vegetais através de reações de troca iônica. No entanto, como observado neste trabalho, a dinâmica de produção de metabólitos especiais pelas plantas é resultado de uma combinação complexa de fatores bióticos e abióticos.

Os resultados encontrados revelaram a existência de uma divergência química elevada entre os locais de amostragem correlacionada com a distância geográfica. As variações químicas ocorreram em uma escala local, sugerindo ecótipos diferentes. No entanto, a diferenciação química entre as amostras não pode ser explicada apenas pela distância geográfica, devido ao baixo nível de fluxo de genes entre as subpopulações.

Os fatores edáficos e as distâncias geográficas foram determinantes para a divergência nos compostos fenólicos dos frutos da Jabuticabeira. Embora menos pronunciada, esses fatores mostraram influência no polimorfismo químico dos óleos essenciais.

Alguns autores têm descrito a influência de fatores ambientais espacialmente distribuídos na composição química das espécies (COLEVO *et al.*, 2004; BRENES-ARGUEDAS & COLEY, 2005; COVELO & GALLARDO, 2009; BROZ *et al.*, 2010; ALI *et al.*, 2010). Por exemplo, a disponibilidade de luz mostrou autocorrelação espacial e pode induzir um padrão espacial no conteúdo dos compostos fenólicos (CORDELL & KENNEDY, 2006; HAGEN *et al.*, 2007; INGERSOLL *et al.*, 2010). Os resultados sugerem que a estrutura química espacial não se origina de um único fator, pelo contrário, diversos fatores bióticos ou abióticos podem operar simultaneamente a favor ou contra a divergência química.

O quadrado das distâncias euclidianas (D_E^2) entre os dados fenólicos nos pares dos sítios de amostragem variou de 4,5 entre S2 e S3 (368 m) a 66,6 entre S1 e S6 (1398,7 m). Globalmente, os mais baixos valores de D_E^2 foram observados entre as amostras com pequenas distâncias geográficas, enquanto as mais elevadas foram observadas entre as amostras geograficamente distantes. O teste de Mantel realizado entre matrizes de distância Euclidiana dos pares de dados geográficos e fenólicos mostraram uma correlação altamente significativa ($r = 0,21$, $p = 0,0001$; 999 permutações, $p = 0,003$) (LEGENDRE & LEGENDRE, 2003). A autocorrelação espacial também foi observada entre os conjuntos de dados dos óleos essenciais e geográficos ($r = 0,12$, $p = 0,006$; 999 permutações, $p = 0,013$), o que confirma que a distribuição espacial tanto do conjunto de dados do óleo essencial quanto do conjunto de dados fenólicos não surgem por acaso.

4. CONCLUSÕES

A análise da variabilidade química nos frutos de *M. cauliflora* obtida por técnicas quimiométricas revelou uma influência ambiental na produção de fenóis totais, taninos, antocianinas, açúcares redutores e acidez do fruto. A distribuição espacial mostrou estar

relacionada a fatores edáficos que atuam sobre o polimorfismo químico, embora também possa ter sido causada por fatores genéticos, especialmente sobre a variabilidade química nos óleos essenciais em amostras cultivadas, sugerindo o uso de matrizes selecionadas. O cultivo de populações sob condições ambientais uniformes podem fornecer uma seleção de ecótipos ou quimiotipos para um uso mais eficaz de subpopulações de *M. cauliflora*.

Os resultados encontrados revelaram que solos adubados forneceram menores quantidades de compostos fenólicos e maior acidez do fruto da jabuticabeira, enquanto que, em solos mais ácidos e com menor equilíbrio de nutrientes, os frutos apresentaram maior conteúdo de fenólicos, teor de γ -eudesmol e açúcares redutores.

Qualidades como acidez e adstringência de bebidas fermentadas, como o vinho, são determinantes para a aceitabilidade destes produtos. Para controlar tais características o produtor deve estar atento principalmente ao conteúdo de compostos fenólicos e à proporção açúcar/acidez do fruto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULKHADER, H.; NIRMAL, P.; SALLIM, A. -S.; AHMED, A. -S. The Composition and Antimicrobial Activity of Leaf Essential Oil of *Teucrium mascatenses* Boiss. from Oman. Journal of Essential Oil Research 18, p. 465-468, 2006.

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4th ed. Carol Stream: Allured, 2007.

ALI, I. B. E.; ZAOUALI, Y.; BEJAOUI, A.; BOUSSAID, M. Variation of the Chemical Composition of Essential Oils in Tunisian Populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and Implication for Conservation. Chemistry & Biodiversity 7, p.1276-1289, 2010.

ANDERSEN, O. & ANDERSEN, V.U. As frutas silvestres brasileiras. Globo, São Paulo, p.130-135, 1989.

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.

ASQUIERI, E.R.; DAMIANI, C.; CANDIDO, M.A.; ASSIS, E.M. Vino de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg): estudio de las características físico químicas y sensoriales de los vinos tintos seco y dulce, fabricados con la fruta integral. Alimentaria 355, p. 111-121, 2004.

AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; REALINO, J. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. Biochemical Systematics and Ecology 30, p. 205-216, 2002.

BENNETT, R. N. & WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New Phytologist 127, p. 617-633, 1994.

BORCARD, D.; LEGENDRE, P.; DRAPEAU, P. Partialling out the Spatial Component of Ecological Variation. Ecology 73, p. 1045-1055, 1992.

BORG-KARLSON, A. K. Chemical and ethological studies of pollination in the genus *Ophrys* (orchidaceae). Phytochemistry 29, p. 1359-1387, 1990.

BRENES-ARGUEDAS, T.; COLEY, P. D. Phenotypic variation and spatial structure of secondary chemistry in a natural population of a tropical tree species. Oikos 108, p. 410-420, 2005.

BROZ, A. K.; BROECKLING, C. D.; DE LA PEÑA, C.; LEWIS, M. R.; GREENE, E.; CALLAWAY, R. M.; SUMNER, L. W.; VIVANCO, J. M. Plant neighbor identity influences plant biochemistry and physiology related to defense. BMC Plant Biology p. 10, 115, 2010.

BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S.; KLEIN, D. R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos* 40, p. 357-368, 1983.

CARVALHO, C.M.; MACEDO-COSTA, M.R., PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S.; CARVALHO, L.F.P.C.; COSTA, L.J. Efeito antimicrobiano in vitro do extrato de jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.)O.Berg.] sobre *Streptococcus* da cavidade oral. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.11, n.1, p.79-83, 2009.

CHENG, AX.; 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 (OsTPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. *Phytochemistry* 68, p. 1632-1641, 2007.

CHIOU, L.C., LING, J.Y. and CHANG, C.C. Chinese herb constituent beta-eudesmol alleviated the electroshock seizures in mice and electrographic seizures in rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters* 15, p. 171–174, 1997.

CLOSE, D. C.; MCARTHUR, C.; HAGERMAN, A. E.; FITZGERALD, H. Differential distribution of leaf chemistry in eucalypt seedlings due to variation in whole-plant nutrient availability. *Phytochemistry* 66, p. 215–221, 2005.

COLEY, P. D.; BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230, p. 895, 1985.

CORDELL, J. M.; KENNEDY, J. A. Effect of Shading on Accumulation of Flavonoid Compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot Noir Fruit and Extraction in a Model System. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 54, p.8510-8520, 2006.

CORDER, R.; DOUTHWAITE, J.A.; LEES, D.M.; KHAN, N.Q., SANTOS, A.C.V.; WOOD, E.G.; CARRIER, M.J. Health: Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature* 414, p. 863-864, 2001.

CORREIA, Manuel Pio, Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. V. 4, Rio de Janeiro, p. 375 e vol. 3, p. 499-501, 1984.

COSTA, T.R.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA, C.M.A.; LIÃO, L.M.; FERNANDES,O.F.L.; PAULA,J.R.; 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, p. 111-117, 2000.

COVELO, F.; GALLARDO, A. Green and senescent leaf phenolics showed spatial autocorrelation in a *Quercus robur* population in northwestern Spain. *Plant Soil* 259, p. 267-276, 2004.

COVELO, F.; GALLARDO, A. Changes in the spatial structure of oak carbon-based secondary compounds after pine harvesting. *Forest Ecology and Management* 258, p. 2511-2518, 2009.

CROCK, J.; WILDUNG, M.; CROTEAU, R. Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase cDNA clone from peppermint (*Mentha x piperita*, L.) that produces the aphid alarm pheromone (E)- β -farnesene. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 94, p. 12833–12838, 1997.

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, p. 2363-2369, 2006.

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. Rev. Bras. Plantas Mediciniais 8, p. 183-188, 2006.

DE ASSIS, S.A.; VELLOSO, J.C.R.; BRUNETTI, I.L.; KHALIL N.M.; LEITE, K.M.D.S.C. *et al.* Antioxidant activity, ascorbic acid and total phenol of exotic fruits occurring in Brazil. Int. J. Food Sci. Nutr., 60, p. 439-448, 2009.

DI MAJO, D.; LA GUARDIA, M.; GIAMMANCO, S.; LA NEVE, L.; GIAMMANCO, M. The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. Food Chemistry 111, p. 45–49, 2008.

DIAZ, J.; BERNAL, A.; POMAR, F.; MERINO, F. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Science 161, p. 179–188, 2001.

DUARTE, A.R. Variabilidade química no conteúdo dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Eugenia dysenterica*, Dissertação de Mestrado: Goiânia/GO, 2008.

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, p. 967-974, 2009.

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. *Thymus vulgaris* L. essential oil. Journal of Essential Oil Bearing Plants 12, p. 319-326, 2009.

EINBOND, L.S.; REYNERTSON, K.A.; LUO, X.-D.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. Food Chemistry 84, p. 23–28, 2004.

ESTANISLAU, A.A.; BARROS, F.A.S.; PEÑA, A.P.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H.; PAULA, J.R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. Revista Brasileira de Farmacognosia 11, p. 95-100, 2001.

FERWERDA, J. G.; WIEREN, S. E. V.; SKIDMORE, A. K.; PRINS, H.H.T. Inducing condensed tannin production in *Colophospermum mopane*: Absence of response to soil N and P fertility and physical damage. *Plant Soil* 273, p. 203–209, 2005.

FORTES, G.A.C. Análise multiparamétrica da qualidade dos frutos, mostos e vinhos de Jabuticaba. Dissertação de mestrado: Goiânia/GO, 2012.

FORTES, G.A.C.; NAVES, S.S.; GODOI, F.F.F.; DUARTE, A.R.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C. Assessment of a Maturity index in Jabuticaba fruit by the evaluations of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. *American Journal of food Technology* 6, p. 974-984, 2011.

GOMES, F.B.; MORAES, J.C.; SANTOS, C.D.; ANTUNES, C.S. Uso de Silício como Indutor de Resistência em Batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* 37, p. 185-190, 2008.

GUANGQIU, Q.; CHONGLING, Y.; HAOLIANG, L. Influence of Heavy Metals on the Carbohydrate and Phenolics in Mangrove, *Aegiceras corniculatum* L., Seedlings. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 78. p. 440–444, 2007.

HAGEN, S. F.; BORGE, G. I. A.; BENGTSSON, G. B.; BILGER, W.; BERGE, A.; HAFFNER, K.; SOLHAUG, K. A.; Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology* 45, p.1–10, 2007.

HAMINIUK, C.W.I.; PLATA-OVIEDO, M.S.V.; GUEDES, A.R.; STAFUSSA, A.P.; BONA, E.; CARPES, S.T. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 46, p. 1529-1537, 2011.

HARBORNE, J. B. *Advances in Chemical Ecology. Natural Product Reports* p. 327-347, 1993.

HAUKIOJA, E.; OSSIPOV, V.; KORICHEVA, J.; HONKANEN, T.; LARSSON, S.; LEMPA, K. Biosynthetic origin of carbon-based secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization? *Chemoecology* 8, p.133-139, 1998.

HERMS, D.A & MATTSON, W.J. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67, p. 283-335, 1992.

HORAK, S.; KOSCHAK, A.; STUPPNER, H.; STRIESSNIG, J.; Use-Dependent Block of Voltage-Gated $Ca_v2.1$ Ca^{2+} Channels by Petasins and Eudesmol Isomers. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 330, p. 220-226, 2009.

INGERSOLL, C. M.; NIESENBAUM, R. A.; WEIGLE, C. E.; LEHMAN, J. H.; Total phenolics and individual phenolic acids vary with light environment in *Lindera benzoin*. *Botany* 88, p.1007-1011, 2010.

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.

KERBAUY, Gilberto Barbante. *Fisiologia Vegetal*. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KIMURA, I. Antiangiogenic activity of beta-eudesmol in vitro and in vivo. *European Journal Pharmacology* 512, p. 105–115, 2005.

KRAUS, T.E.C.; ZASOSKI, R.J.; DAHLGREN, R.A. Fertility and pH effects on polyphenol and condensed tannin concentrations in foliage and roots. *Plant and Soil* 262, p. 95–109, 2004.

KUSUMA, I.W.; OGAWA, T.; ITOH, K. TACHIBANA, S. Isolation and identification of an antifungal sesquiterpene alcohol from Amboyna wood. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7, p.1735-1740, 2004.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L.; *Numerical Ecology*, 2nd ed.; Elsevier Science: Amsterdam, 2003.

LEITE, A.V.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G.M.; MAROSTICA, M.R. JR. Antioxidant potencial of rat plasma by administration of freeze-dried Jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). *J. Agric. Food Chem.*, 59, p. 2277-2283, 2011.

LEPŠ, J. & ŠMILAUER, P.; *Multivariate Analysis of Ecological Data Using CANOCO*, Cambridge University Press: Cambridge, 2007.

LIN, Chin-Cheng; CHEN, Li-Ming; LIU, Zin-Huang. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Science* 168, p. 855–861, 2005.

LOPES, D. C., FRAGA, S. R. & REZENDE, C. M. Principais substâncias responsáveis pelo aroma de mangas comerciais brasileiras identificadas por cromatografia gasosa de alta resolução/olfatometria/espectrometria de massas. *Química Nova* 22, p. 31-36, 1999.

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

LOPONEN, J.; LEMPA, K.; OSSIPOV, V.; KOZLOV, M. V.; GIRS, A.; HANGASMAA, K.; HAUKIOJA, E.; PIHLAJA, K. Patterns in content of phenolic compounds in leaves of mountain birches along a strong pollution gradient. *Chemosphere* 45, p. 291-301, 2001.

LOPONEN, J.; OSSIPOV, V.; LEMPA, K.; HAUKIOJAB, E.; PIHLAJA, K. Concentrations and among-compound correlations of individual phenolics in white birch leaves under air pollution stress. *Chemoecology* 8, 133-139, 1998.

LORENZI, L. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, Vol. 1. Plantarum: Nova Odessa, SP, p. 282, 2002.

LOZIENE, K. & VENSKUTONIS, P.R. Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochemical Systematics and Ecology* 33, p. 517-525, 2005.

MAMEDE, M. E. O. & PASTORE, G. M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. *Boletim CEPPA* 22, p. 233-252, 2004.

MARINHO, C. G. S.; DELLA LUCIA, T. M. C.; RIBEIRO, M. M. R.; MAGALHÃES, S. T. V.; GUEDES, R. N. C.; JHAM, G. N. Interference of b-eudesmol in nestmate recognition in *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Bulletin of Entomological Research* 98, p. 467–473, 2008.

MARSARO, A. L.; SOUZA, R. C.; DELLA LUCIA, T. M. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; Behavioral changes in workers of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* induced by chemical components of *Eucalyptus maculata* leaves *Journal of Chemical Ecology*, 30, p. 1771–1780, 2004.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria* 17, p. 271-278, 2002.

MÉOT, A.; LEGENDRE, P.; BORCARD, D.; Partialling out the spatial component of ecological variation: questions and propositions in the linear modelling framework. *Environmental and Ecological Statistics* 5, p. 1-27, 1998.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31, p. 426-428, 1959.

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.

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.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database, Department of Commerce, Gaithersburg, MD. U. S., 1998.

NIJVELDT, R.J.; VAN NOOD, E.; VAN HOORN, D.E.; BOELEN, P.G.; VAN NORREN, K.; VAN LEEUWEN, P.A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition* 74, p. 418-25, 2001.

NITAO, J. K.; ZANGERL, A. R.; BERENBAUM, M.R. CNB: requiecat in peace? *Oikos* 98, p. 540-546, 2002.

OBARA, Y. Development of antidementia drugs related to neurotrophic factors. *Yakugaku Zasshi* 126, p. 747–755, 2006.

PEREIRA, R. Jaboticaba: nossa pequena é notável. *Revista: Saúde é vital*, edição Abril de 2005, <http://saude.abril.com.br>. Acessado em 12/01/2008.

PICAUD, S.; OLOFSSON, L.; BRODELIUS, M.; BRODELIUS, 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.

PICAUD, S.; OLSSON, M. E.; BRODELIUS, M.; BRODELIUS, P. E. Cloning, expression, purification and characterization of recombinant (+)-germacrene D synthase from *Zingiber officinale*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 452, p. 17–28, 2006.

QUIJANO, C. E. & PINO, J. A.; J. Analysis of Volatile Compounds of camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh) Fruit Isolated by Different Methods. *Journal of Essential Oil Research* 19, 527, 2007.

QUIJANO, C. E. & PINO, J. A.; J. Volatile Constituents of Camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh) Leaves. *Journal of Essential Oil Research* 20, p. 205, 2008.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*, 6ª ed. Rio de Janeiro; Editora Guanabara Koogan, 2001.

RESENDE, A. V. de. Adubação com Micronutrientes no Cerrado. Documentos, Embrapa Cerrado, 80. Planaltina, DF, 2003.

REYNERTSON, K.A.; WALLACE, A.M.; ADACHI, S.; GIL, R.R.; YANG, H.; BASILE, M.J.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, I.B.; KENNELLY, E.J. Bioactive Depsides and Anthocyanins from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *J. Nat. Prod.* 69, p. 1228-1230, 2006.

REYNERTSON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry* 109, p. 883–890, 2008.

ROMERO, M.; ROJANO, B.; MELLA-RAIPAN, J.; PESSOA-MAHANA, C.D.; LISSI, E.; LOPEZ-ALARCON, C. Antioxidant capacity of purê compounds and complex mixtures evaluated by the ORAC-pyrogallol red assay in the presence of triton X-100 micelles. *Molecules*, 15, p. 6152-6167, 2010.

RUFINO, M.D.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem.*, 121, p. 996-1002, 2010.

RUIZ, J.M.; BRETONES, G.; BACHOUR, M.; RAGALA, L.; BELAKBIR, A.; ROMERO, L. Relationship between boron and phenolic metabolism in Tobacco leaves. *Phytochemistry* 48, p.269-272, 1997.

SALES, J.F.; PINTO, J.E.B.P.; BOTREL, P.P.; SILVA, F.G.; CORREA, R.M.; CARVALHO, J.G. Biomass Accumulation, foliar content of nutrients and yield of essential oil of Hortela-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL.) cultivated under organic fertilization. *Bioscience Journal* 25, p. 60-68, 2009.

SANTOS, D.T; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. *J. Food Eng.*, 101, p. 23-31, 2010.

SAXENA, A. & SINGH, J.N. Effect of irrigation, 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.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; THEODULO, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; DE ARIAS, A. R. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology* 21, p. 183-186, 1987.

SCHNEIDER, N. F. Z.; MOURA, N. F.; COLPO, T.; MARINS, K.; MARANGONI, C.; FLACH, A. Estudo dos compostos voláteis e atividade antimicrobiana da *Myrciaria tenella* (cambuí). *Rev. Bras. Farm.*, 89(2), 2008.

SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. S.; MENEZES, L.O.; SANTOS, R.; FERREIRA, F. F. E.; SOARES, R. O. A.; ROSAS, E. C.; SUSUNAGA, G. S.; GUIMARÃES, A. C.; ZOGHBI, M.G.B.; HENRIQUES, M. G. M. O. Evaluation of antiinflammatory related activity of essential oils from the leaves and resin of species of Protium. *Journal of Ethnopharmacology* 66, p. 57-69, 1999.

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, 2007.

SILVA-SANTOS, A.; BIZZO, H.R.; ANTUNES, A.M.S.; D'AVILA, I.A. A proteção patentária na utilização de óleos essenciais e compostos terpênicos para o desenvolvimento tecnológico e industrial. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8, p. 14-22, 2006.

SILVA, S.C.; *Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes*, 1^a ed., Embrapa: Brasília, 1999.

SILVESTRE, A.J.D.; CAVALEIRO, J.A.S.; DELMOND, B.; FILLIATRE, C.; BOURGEOIS, G. Analysis of the variation of the essential oil composition of *Eucalyptus globulus* Labill. from Portugal using multivariate statistical analysis. *Industrial Crops and Products* 6, p. 27-33, 1997.

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^a ed. Porto Alegre: UFRGS/EDUFSC, 2005.

SINGLETON, V.L. Tannins and the qualities of wines. In *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties and Significance*, editors R.W. Hemingway and P.E. Laks, Plenum Press, New York, p. 859-880, 1992.

ŠMILAUER, P.; *CanoDraw for Windows 4.1; Microcomputer Power: New York*, 2003.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. REVIEW: Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. *Chemistry & Biodiversity* 8, p. 73-94, 2011.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*, 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

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.

TERCI, D.B.L. *Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas. Tese de Doutorado: Campinas/SP*, 2004.

THEODULOZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Xanthine oxidase inhibitory activity of Paraguayan Myrtaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 24, p. 179-183, 1988.

TORSSELL, K.B.G. *Natural product chemistry. A mechanistic, biosynthetic and ecological approach*. 2^a ed. Apotekarsocieteten-Swedish Pharmaceutical Society, Sweden. p. 46-47, 1997.

TSUNEKI, H.; MA, E. -L.; KOBAYASHI, S.; SEKIZAKI, N.; MAEKAWA, K.; SASAOKA, T.; WANG, M. -W.; KIMURA, I.; Antiangiogenic activity of β -eudesmol in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology* 512, p. 105–115, 2005.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the Retention Index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography* 11, p. 463-471, 1963.

Vinícola Jaboticabal. <http://www.vinicolajaboticabal.com.br/> acessado em 30/09/2010.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P.C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 23, p. 141-149, 2008.

WAGNER, H.; FORTIN, M.-J. Spatial analysis of landscapes: concepts and statistics. *Ecology*, 86, p. 1975–1987, 2005.

WANG, H.; NAIR, M.G.; STRASBURG, G.M.; CHANG, Y.C.; BOOREN, A.M.; GRAY, J.I. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal Natural Products* 62, p. 294-296, 1999.

WATERMAN, P.G. & MOLE, S. Analysis of phenolic plant metabolites. Ed. Blackwell Scientific Publications. p. 66-103, 1994.

YAMADA, T. Resistência de plantas às pragas e doenças: pode ser afetada pelo manejo da cultura? *Informações Agronômicas*, 108, p. 1-7, 2004.

YU, F.; HARADA, H.; YAMASAKI, K.; OKAMOTO, S.; HIRASE, S.; TANAKA, Y.; MISAWA, N.; UTSUMI, R. Isolation and functional characterization of a β -eudesmol synthase, a new sesquiterpene synthase from *Zingiber zerumbet* Smith. *FEBS Letters* 582, p. 565–572, 2008.

YUAN, Y.; LIU, Y. J.; HUANG, L. Q.; CUI, G. H.; FU, G. F. Soil Acidity Elevates Some Phytohormone and β -Eudesmol Contents in Roots of *Atractylodes lancea*. *Russian Journal of Plant Physiology* 56, p. 133–137, 2009.

ZIDORN, C.; SCHUBERT, B.; STUPPNER, H. Altitudinal differences in the contents of phenolics in flowering heads of three members of the tribe Lactuceae (Asteraceae) occurring as introduced species in New Zealand. *Biochemical Systematics and Ecology* 33, p. 855-872, 2005.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: Simões, C.M.O., Schenzel, E.P., Gosmann, G., Melo, J.C.P de, Mentz, L.A., Petrovick, P.R. coord. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS, p.499-525. 2002.

APÊNDICES

Apêndice 1. Características químicas^a dos solos nos sítios de amostragem de *M. cauliflora*.

Constituinte	Sítios de amostragem					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Argila (%)	16,0 b	30,0 ab	35,5 ab	41,5 a	42,0 a	19,0 b
Silte (%)	16,5 a	15,5 a	13,0 a	16,5 a	13,5 a	11,5 a
Areia (%)	67,5 a	54,5 a	51,5 a	42,0 a	44,5 a	69,5 a
Cu (mg dcm ⁻³)	0,9 abc	1,4 a	1,3 ab	0,9 abc	0,5 bc	0,8 bc
Fe ^b (mg dcm ⁻³)	44,3 bc	221,5 a	60,8 ab	33,4 de	24,1 e	37,1 cd
Mn ^b (mg dcm ⁻³)	17,4 bc	21,3 bc	37,7 ab	65,1 a	34,1 ab	9,4 c
Zn (mg dcm ⁻³)	0,6 b	1,5 ab	0,9 ab	3,0 a	2,6 ab	0,7 ab
Mat. Orgânica (%)	1,1 a	1,0 a	2,0 a	2,7 a	2,9 a	1,8 a
pH	5,0 a	4,8 a	5,0 a	5,2 a	5,2 a	5,0 a
P ^b (mg dcm ⁻³)	0,3 b	0,7 ab	0,3 b	11,8 a	1,2 ab	0,3 b
K ^b (mg dcm ⁻³)	35,0 bc	33,5 c	41,5 ab	77,5 a	64,0 a	36,0 bc
Ca ^b (mg dcm ⁻³)	1,2 c	1,3 bc	1,8 abc	4,2 ab	4,5 a	0,8 c
Mg (mg dcm ⁻³)	0,3 b	0,4 b	0,5 b	1,4 a	1,0 ab	0,3 b
H+Al (mg dcm ⁻³)	2,6 a	2,1 a	2,1 a	2,2 a	2,6 a	2,7 a
Al (mg dcm ⁻³)	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
CTC ^b (mg dcm ⁻³)	4,1 ab	3,9 b	4,5 ab	8,0 a	8,2 a	3,8 b

^a Médias com base nos dados originais. ^b Transformados pela ordem dos mesmos na análise de variância. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Apêndice 2. Características químicas das folhas de *M. cauliflora* nos diferentes sítios de amostragem.

Nutriente foliar	Sítios de Amostragem					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
N (dag kg ⁻¹)	1,54	2,32	2,04	2,07	1,62	1,96
P (dag kg ⁻¹)	0,08	0,07	0,09	0,13	0,06	3,10
K (dag kg ⁻¹)	0,80	0,88	0,76	1,06	1,00	0,86
Ca (dag kg ⁻¹)	1,30	1,50	1,70	1,30	1,60	0,80
Mg (dag kg ⁻¹)	0,20	0,40	0,60	0,50	0,50	0,30
S (dag kg ⁻¹)	0,04	0,14	0,14	0,12	0,14	0,15
Cu (mg kg ⁻¹)	8,00	5,00	5,00	5,00	8,00	7,00
Fe (mg kg ⁻¹)	275,0	315,0	347,0	262,0	249,0	299,0
Mn (mg kg ⁻¹)	710,0	760,0	501,0	302,0	152,0	243,0
Zn (mg kg ⁻¹)	16,20	20,60	16,20	20,00	18,20	17,20

Apêndice 3. Matriz espécie. Constituintes voláteis e teores de fenóis totais e taninos das folhas de *M. cauliflora* coletadas em seis sítios de amostragem na Fazenda Jabuticabal – Hidrolândia/GO.

		a-pine	b-pine	limo	18-cine	d-elem	a-copa	b-bour	M-204	b-elem	E-car	b-copa	69-gua	a-humu	alo-ar	gem-D	d-seli	bicicl	a-muu	gem-A	d-cad	elemol	germ-B	SO-220	guaiol	eremol	g-eud	b-eud	a-eud	MH	MO	M	SH	SO	S	FT	TAN
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
1	S1A	0,63	2,43	0,95	1,00	1,16	2,01	1,78	0,01	1,11	8,13	0,59	0,89	1,34	0,51	18,92	0,54	5,79	0,61	0,01	2,72	3,64	1,33	1,28	0,01	0,01	12,47	16,97	13,16	4,01	1,00	5,01	47,45	47,54	94,99	136,68	60,72
2	S1B	0,01	0,01	0,01	0,01	1,25	1,15	0,97	0,01	0,86	5,87	0,01	0,01	0,99	0,01	20,43	0,01	5,61	0,01	0,01	2,52	4,03	1,29	0,93	0,01	2,11	13,10	20,16	16,79	0,03	0,01	0,04	41,01	57,13	98,14	136,68	60,72
3	S1C	0,51	2,05	0,99	1,00	1,33	2,50	1,60	1,27	0,01	8,51	0,54	0,86	1,36	0,51	23,31	0,01	6,67	0,49	0,01	2,82	3,19	1,29	0,86	0,44	1,63	9,66	14,87	11,67	3,55	1,00	4,55	53,09	42,32	95,41	136,68	60,72
4	S1D	0,01	0,98	0,41	0,01	1,51	1,97	1,46	0,01	1,27	7,68	0,01	0,01	1,31	0,65	21,15	0,01	6,07	0,01	0,01	2,69	3,96	1,36	1,04	0,01	0,01	12,28	22,17	11,94	1,40	0,01	1,41	47,18	51,41	98,59	136,68	60,72
5	S1E	0,50	2,04	0,74	0,71	1,13	2,39	2,25	1,26	0,01	7,89	0,64	0,91	1,37	0,57	21,33	0,01	6,44	0,47	0,45	2,56	3,39	1,31	1,10	0,49	0,01	11,04	16,85	12,14	3,28	0,71	3,99	50,99	45,02	96,01	136,68	60,72
6	S1F	0,01	1,30	0,58	0,64	1,55	2,20	1,46	0,01	1,42	7,98	0,56	0,01	1,35	0,75	20,06	0,01	7,32	0,85	0,01	3,04	3,97	1,40	0,98	0,57	0,01	10,03	21,00	9,20	1,89	0,64	2,53	49,98	45,76	95,74	136,68	60,72
7	S1G	0,01	0,44	0,01	0,01	1,00	1,72	1,23	0,01	1,12	6,82	0,51	0,01	1,17	0,57	18,16	0,01	6,12	0,48	0,01	2,50	3,62	1,37	1,11	0,52	0,01	12,30	22,39	14,14	0,46	0,01	0,47	42,81	54,09	96,90	136,68	60,72
8	S2A	0,40	1,67	1,06	0,66	1,39	2,11	1,85	1,07	0,55	8,20	0,63	0,01	1,39	0,61	23,55	0,01	7,66	0,01	1,32	2,43	4,85	1,51	1,80	0,01	0,01	9,25	15,30	10,69	3,13	0,66	3,79	54,30	41,91	96,21	120,91	57,6
9	S2B	0,43	1,62	0,84	0,70	1,33	2,13	1,85	0,01	1,47	8,18	0,61	0,01	1,41	0,68	20,18	0,01	7,16	1,00	0,01	2,67	4,94	1,49	1,39	0,55	0,01	9,90	19,14	8,77	2,89	0,70	3,59	50,20	44,70	94,90	120,91	57,6
10	S2C	0,01	0,89	0,59	0,53	1,29	2,44	1,72	0,01	1,35	8,85	0,75	0,01	1,38	0,73	18,18	0,50	6,20	0,71	0,80	3,22	3,75	1,38	1,96	0,01	0,01	12,26	16,52	12,68	1,49	0,53	2,02	49,52	47,19	96,71	120,91	57,6
11	S2D	0,54	2,17	1,01	0,86	1,23	2,28	1,63	1,33	0,01	8,59	0,59	0,01	1,31	0,61	23,26	0,01	6,47	0,46	0,01	2,78	3,64	1,33	1,38	0,01	1,86	9,29	14,75	12,03	3,72	0,86	4,58	51,91	42,96	94,87	120,91	57,6
12	S2E	0,73	2,52	1,08	1,04	1,07	1,95	1,98	0,01	1,27	8,48	0,01	0,01	1,30	0,60	20,78	0,01	5,86	0,01	0,01	2,68	4,56	1,31	1,85	0,01	2,13	9,79	16,21	12,74	4,33	1,04	5,37	47,34	47,29	94,63	120,91	57,6
13	S2F	0,73	2,56	1,27	1,27	1,46	2,24	1,71	1,46	0,01	9,33	0,01	0,01	1,40	0,63	25,12	0,01	6,79	0,01	0,01	2,87	4,76	1,43	1,15	0,01	1,73	8,34	13,15	10,53	4,56	1,27	5,83	54,50	39,67	94,17	120,91	57,6
14	S2G	0,48	1,94	1,16	0,59	1,43	2,05	1,38	1,34	0,01	8,40	0,49	0,75	1,35	0,57	24,51	0,01	6,89	0,42	0,01	2,59	4,22	1,48	1,13	0,45	1,73	8,65	14,71	11,26	3,58	0,59	4,17	53,68	42,15	95,83	120,91	57,6
15	S3A	0,49	1,83	1,48	1,16	1,92	2,90	2,47	1,05	0,77	11,23	0,83	1,24	1,85	0,63	24,77	0,57	7,60	0,64	1,18	3,34	4,70	1,55	1,06	0,01	1,30	5,93	9,80	7,70	3,80	1,16	4,96	64,54	30,50	95,04	119,94	54,53
16	S3B	0,01	0,42	0,01	0,01	1,69	1,79	1,36	1,33	0,01	7,34	0,01	0,01	1,30	0,57	21,98	0,01	6,14	0,01	0,01	2,47	5,22	1,48	1,15	0,62	0,01	9,78	21,66	12,13	0,44	0,01	0,45	47,51	50,57	98,08	119,94	54,53
17	S3C	0,53	1,97	1,22	0,98	1,60	2,34	1,48	1,49	0,01	8,80	0,56	0,85	1,43	0,50	22,85	0,01	6,87	0,48	1,01	2,73	4,40	1,37	0,93	0,44	0,01	9,97	13,90	11,27	3,72	0,98	4,70	54,38	40,92	95,30	119,94	54,53
18	S3D	0,41	1,61	1,11	1,01	1,69	2,40	2,00	1,70	0,01	9,11	0,64	0,97	1,63	0,70	23,06	0,01	7,70	0,01	1,10	2,76	5,29	1,57	1,37	0,59	0,01	7,22	14,91	9,41	3,13	1,01	4,14	57,06	38,80	95,86	119,94	54,53
19	S3E	0,55	1,98	1,22	0,74	1,63	2,32	1,03	1,43	0,01	8,26	0,47	0,79	1,38	0,42	25,27	0,01	7,01	0,40	1,00	2,74	4,25	1,50	1,16	0,01	1,54	7,70	14,28	10,90	3,75	0,74	4,49	55,67	39,84	95,51	119,94	54,53
20	S4A	0,01	1,39	0,51	0,01	1,91	3,11	0,49	1,55	0,01	9,31	0,79	0,59	1,50	0,76	23,98	0,81	8,13	0,70	1,34	4,09	2,26	1,97	0,58	0,51	0,01	6,36	15,12	10,96	1,91	0,01	1,92	61,04	35,80	96,84	79,69	34,04
21	S4B	0,01	1,74	0,81	0,01	1,92	3,07	0,01	0,01	0,01	9,57	0,01	0,01	1,59	0,01	31,20	0,01	8,53	0,01	0,01	3,41	2,14	2,00	0,01	0,01	0,01	6,20	16,29	11,39	2,56	0,01	2,57	61,38	36,05	97,43	79,69	34,04
22	S4C	0,01	0,01	0,01	0,01	2,11	2,43	0,59	1,54	0,01	7,25	0,58	0,81	1,33	0,46	26,32	0,57	8,03	0,44	1,13	3,01	2,00	1,84	0,54	0,61	0,01	8,75	18,00	11,60	0,03	0,01	0,04	58,45	41,51	99,96	79,69	34,04
23	S4D	0,01	0,40	0,01	0,01	1,49	2,58	0,40	0,01	0,01	7,54	0,01	0,95	1,27	0,40	23,24	0,71	7,14	0,64	1,11	3,62	2,23	1,77	0,78	0,57	1,40	8,81	17,96	12,97	0,42	0,01	0,43	52,89	44,72	97,61	79,69	34,04
24	S4E	0,01	1,50	0,64	0,01	1,60	2,70	0,01	1,31	0,01	8,09	0,01	0,01	1,28	0,01	29,71	0,01	7,94	0,01	0,01	3,02	2,00	1,61	0,01	0,01	1,49	7,77	16,38	12,84	2,15	0,01	2,16	57,34	40,50	97,84	79,69	34,04
25	S4F	0,01	0,01	0,01	0,01	1,17	2,27	0,01	0,77	0,46	7,10	0,01	0,01	1,15	0,60	26,06	0,01	7,01	0,01	0,01	2,63	2,51	1,60	0,70	0,55	2,13	9,35	19,19	14,65	0,03	0,01	0,04	50,88	49,08	99,96	79,69	34,04
26	S4G	0,01	1,16	0,56	0,01	1,68	2,74	0,01	1,19	0,01	8,05	0,01	0,01	1,21	0,01	29,91	0,01	7,93	0,55	0,01	3,49	1,67	1,71	0,01	0,01	1,35	7,43	15,40	12,49	1,73	0,01	1,74	58,53	38,36	96,89	79,69	34,04
27	S5A	0,01	0,85	0,01	0,57	1,64	2,22	0,48	0,01	1,36	7,73	0,01	0,01	1,27	0,57	28,48	0,01	7,60	0,01	0,01	2,82	2,68	1,66	0,01	0,01	1,71	7,93	17,33	13,00	0,87	0,57	1,44	55,89	42,67	98,56	111,77	44,51
28	S5B	0,01	1,69	0,01	1,17	1,36	2,48	1,68	1,54	0,01	8,43	0,52	0,01	1,30	0,63	25,69	0,01	6,17	0,01	0,01	2,61	2,75	1,39	0,73	0,01	1,84	8,86	15,98	12,42	1,71	1,17	2,88	53,85	42,59	96,44	111,77	44,51
29	S5C	0,01	1,46	0,57	0,01	1,41	2,30	0,91	0,01	1,25	7,41	0,01	0,01	1,22	0,59	23,61	0,01	6,87	0,50	0,01	3,07	2,71	1,57	0,88	0,01	0,01	10,33	19,63	13,62	2,04	0,01	2,05	50,76	47,19	97,95	111,77	44,51
30	S5D	0,01	1,36	0,01	0,68	1,73	2,20	0,98	0,01	1,47	8,28	0,01	0,01	1,40	0,59	25,04	0,01	7,66	0,46	0,01	3,09	2,74	1,56	0,80	0,01	0,01	8,72	19,04	12,11	1,38	0,68	2,06	54,51	43,43	97,94	111,77	44,51
31	S5E	0,01	1,23	0,56	0,01	1,63	2,55	0,01	1,22	0,01	8,00	0,01	0,01	1,29	0,63	28,51	0,01	7,52	0,01	0,01	3,24	2,22	1,71	0,01	0,01	1,39	8,14	16,79	13,26	1,80	0,01	1,81	56,37	41,82	98,19	111,77	44,51

	a-pine	b-pine	limo	18-cine	d-elem	a-copa	b-bour	M-204	b-elem	E-car	b-copa	69-gua	a-humu	alo-ar	germ-D	d-seli	bicicl	a-muu	germ-A	d-cad	elemol	germ-B	SO-220	guaiol	eremol	g-eud	b-eud	a-eud	MH	MO	M	SH	SO	S	FT	TAN	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
32	S5F	0,01	1,44	0,01	0,68	1,65	2,41	1,11	1,55	0,01	8,39	0,68	0,01	1,30	0,56	27,79	0,01	8,21	0,49	0,01	3,21	2,07	1,70	0,78	0,01	0,01	8,64	15,46	11,80	1,46	0,68	2,14	59,09	38,77	97,86	111,77	44,51
33	S5G	0,01	0,69	0,39	0,01	1,38	2,08	0,01	1,25	0,01	7,17	0,01	0,01	1,15	0,01	28,71	0,01	7,29	0,01	0,01	2,66	2,70	1,54	0,01	0,01	1,83	8,63	18,02	14,39	1,09	0,01	1,10	53,31	45,59	98,90	111,77	44,51
34	S6A	0,50	1,91	1,14	1,01	1,24	2,16	1,23	0,01	0,01	8,76	0,01	0,01	1,32	0,01	25,88	0,01	6,88	0,01	0,01	2,51	5,26	1,47	1,13	0,01	2,13	8,57	14,73	12,08	3,55	1,01	4,56	51,53	43,91	95,44	145,04	63,08
35	S6B	0,01	0,01	0,01	0,01	1,48	1,56	0,81	0,01	1,21	6,56	0,01	0,66	1,20	0,43	22,80	0,01	6,93	0,46	0,89	2,69	4,90	1,68	1,10	0,54	0,01	11,42	17,65	12,89	0,03	0,01	0,04	49,39	48,51	97,90	145,04	63,08
36	S6C	0,64	2,39	1,30	0,85	1,46	2,35	0,94	0,01	1,50	8,42	0,01	0,50	1,33	0,68	25,84	0,01	7,72	0,42	1,09	2,73	4,04	1,54	0,97	0,47	0,01	9,01	13,28	10,49	4,33	0,85	5,18	56,55	38,27	94,82	145,04	63,08
37	S6D	0,46	1,70	0,89	0,53	1,35	2,21	1,16	0,01	1,45	7,81	0,49	0,51	1,31	0,87	22,84	0,01	7,64	0,01	0,95	2,61	4,63	1,55	1,06	0,55	0,01	9,31	15,78	9,25	3,05	0,53	3,58	52,78	40,59	93,37	145,04	63,08
38	S6E	0,01	1,75	1,06	1,15	3,26	2,77	1,34	1,07	1,57	9,55	0,68	0,89	1,67	0,99	23,93	0,01	8,29	0,01	0,81	2,78	5,18	1,50	1,27	0,01	0,01	7,12	13,35	7,97	2,82	1,15	3,97	61,12	34,91	96,03	145,04	63,08
39	S6F	0,49	1,81	1,01	1,02	1,69	2,62	1,23	0,01	1,68	8,94	0,62	1,08	1,54	1,04	24,14	0,01	7,85	0,42	1,17	3,34	4,36	1,71	1,35	0,01	0,01	7,45	14,23	9,17	3,31	1,02	4,33	59,09	36,58	95,67	145,04	63,08

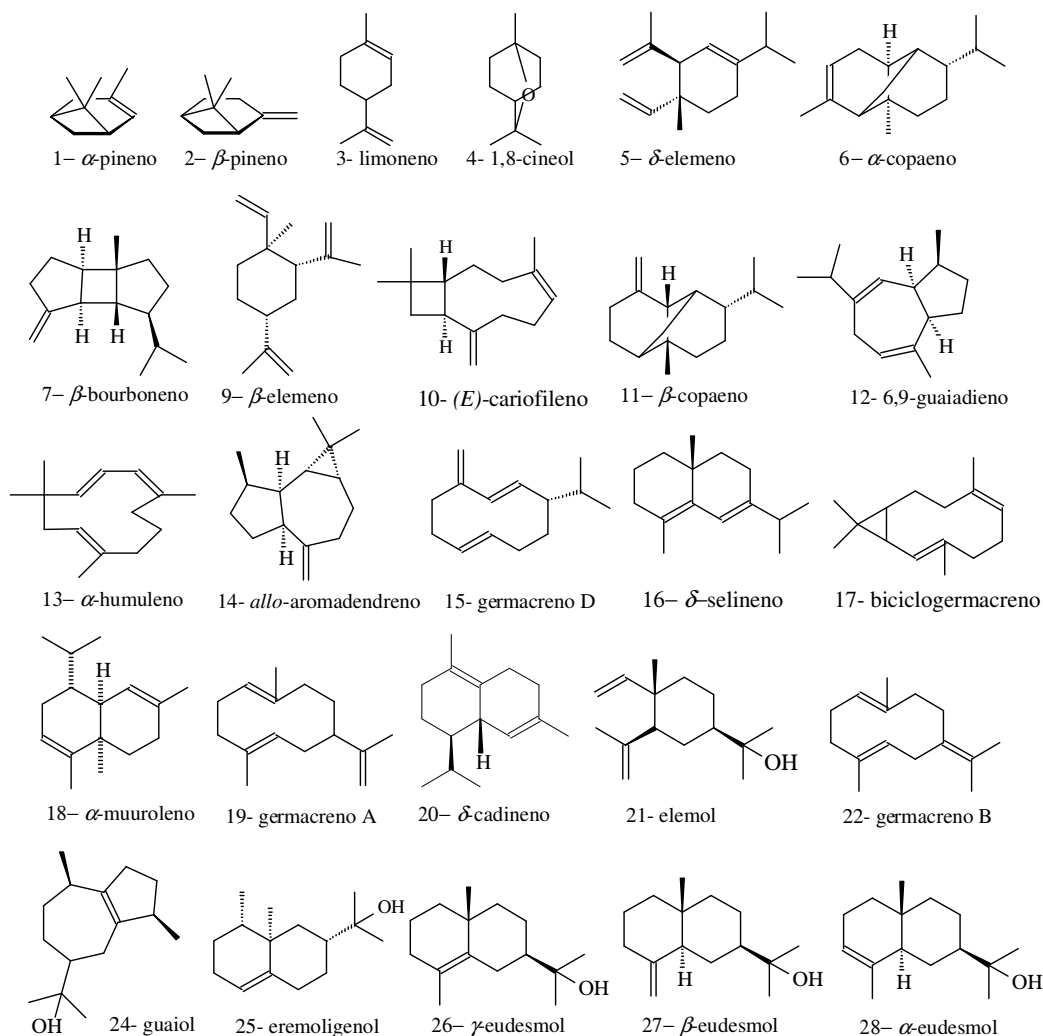
*As linhas representam as amostras e as colunas representam os constituintes dos óleos essenciais, fenóis totais e taninos.

a-pine = α -Pino; b-pine = β -Pino; limo = limoneno; 18-cine = 1,8-Cineol; d-elem = δ -Elemeno; a-copa = α -Copaeno; b-bour = β -Bourboneno; M-204 = Desconhecido; b-elem = β -Elemeno; E-car = (*E*)-Cariofileno; b-copa = α -Copaeno; 69-gua = 6,9-Guaiadieno; a-humu = α -Humuleno; alo-ar = *allo*-Aromadendreno; germ-D = Germacreno D; d-seli = δ -Selineno; bicicl = Bicyclgermacreno; a-muu = α -Muuroloeno; germ-A = Germacreno A; d-cad = δ -Cadineno; elemol; germ-B = Germacreno B; SO-220 = Desconhecido; Guaiol; Eremol; g-eud = γ -Eudesmol; b-eud = β -Eudesmol; a-eud = α -Eudesmol; MH = Hidrocarbonetos monoterpênicos; MO = Monoterpenos oxigenados; M = Monoterpenos; SH = Hidrocarbonetos sesquiterpênicos; SO = Sesquiterpenos oxigenados; S = Sesquiterpenos; FT = Fenóis totais; TAN = Taninos.

Apêndice 4. Matriz ambiente. Propriedades físico-químicas dos solos dos sítios de amostragem e da análise química de folhas (f) de *M. cauliflora*.

	argila	silte	areia	Cu	Fe	Mn	Zn	MO	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	Nf	Pf	Kf	Caf	Mgf	Sf	Cuf	Fef	Mnf	Znf
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
S1A	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S1B	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S1C	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S1D	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S1E	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S1F	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S1G	16,0	16,5	67,5	0,9	44,3	17,4	0,6	1,1	5,0	0,3	35,0	1,2	0,3	2,6	0,1	4,1	1,540	0,083	0,800	1,300	0,200	0,040	8,000	275,000	710,000	16,200
S2A	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S2B	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S2C	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S2D	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S2E	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S2F	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S2G	30,0	15,5	54,5	1,4	221,5	21,3	1,5	1,0	4,8	0,7	33,5	1,3	0,4	2,1	0,0	3,9	2,320	0,074	0,880	1,500	0,400	0,140	5,000	315,000	760,000	20,600
S3A	35,5	13,0	51,5	1,3	60,8	37,7	0,9	2,0	5,0	0,3	41,5	1,8	0,5	2,1	0,0	4,5	2,040	0,093	0,760	1,700	0,600	0,140	5,000	347,000	501,000	16,200
S3B	35,5	13,0	51,5	1,3	60,8	37,7	0,9	2,0	5,0	0,3	41,5	1,8	0,5	2,1	0,0	4,5	2,040	0,093	0,760	1,700	0,600	0,140	5,000	347,000	501,000	16,200
S3C	35,5	13,0	51,5	1,3	60,8	37,7	0,9	2,0	5,0	0,3	41,5	1,8	0,5	2,1	0,0	4,5	2,040	0,093	0,760	1,700	0,600	0,140	5,000	347,000	501,000	16,200
S3D	35,5	13,0	51,5	1,3	60,8	37,7	0,9	2,0	5,0	0,3	41,5	1,8	0,5	2,1	0,0	4,5	2,040	0,093	0,760	1,700	0,600	0,140	5,000	347,000	501,000	16,200
S3E	35,5	13,0	51,5	1,3	60,8	37,7	0,9	2,0	5,0	0,3	41,5	1,8	0,5	2,1	0,0	4,5	2,040	0,093	0,760	1,700	0,600	0,140	5,000	347,000	501,000	16,200
S4A	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S4B	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S4C	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S4D	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S4E	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S4F	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S4G	41,5	16,5	42,0	0,9	33,4	65,1	3,0	2,7	5,2	11,8	77,5	4,2	1,4	2,2	0,0	8,0	2,070	0,133	1,060	1,300	0,500	0,120	5,000	262,000	302,000	20,000
S5A	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200
S5B	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200
S5C	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200
S5D	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200
S5E	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200

	argila	silte	areia	Cu	Fe	Mn	Zn	MO	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	Nf	Pf	Kf	Caf	Mgf	Sf	Cuf	Fef	Mnf	Znf
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
S5F	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200
S5G	42,0	13,5	44,5	0,5	24,1	34,1	2,6	2,9	5,2	1,2	64,0	4,5	1,0	2,6	0,0	8,2	1,620	0,064	1,000	1,600	0,500	0,140	8,000	249,000	152,000	18,200
S6A	19,0	11,5	69,5	0,8	37,1	9,4	0,7	1,8	5,0	0,3	36,0	0,8	0,3	2,7	0,1	3,8	1,960	3,104	0,860	0,800	0,300	0,150	7,000	299,000	243,000	17,200
S6B	19,0	11,5	69,5	0,8	37,1	9,4	0,7	1,8	5,0	0,3	36,0	0,8	0,3	2,7	0,1	3,8	1,960	3,104	0,860	0,800	0,300	0,150	7,000	299,000	243,000	17,200
S6C	19,0	11,5	69,5	0,8	37,1	9,4	0,7	1,8	5,0	0,3	36,0	0,8	0,3	2,7	0,1	3,8	1,960	3,104	0,860	0,800	0,300	0,150	7,000	299,000	243,000	17,200
S6D	19,0	11,5	69,5	0,8	37,1	9,4	0,7	1,8	5,0	0,3	36,0	0,8	0,3	2,7	0,1	3,8	1,960	3,104	0,860	0,800	0,300	0,150	7,000	299,000	243,000	17,200
S6E	19,0	11,5	69,5	0,8	37,1	9,4	0,7	1,8	5,0	0,3	36,0	0,8	0,3	2,7	0,1	3,8	1,960	3,104	0,860	0,800	0,300	0,150	7,000	299,000	243,000	17,200
S6F	19,0	11,5	69,5	0,8	37,1	9,4	0,7	1,8	5,0	0,3	36,0	0,8	0,3	2,7	0,1	3,8	1,960	3,104	0,860	0,800	0,300	0,150	7,000	299,000	243,000	17,200

Apêndice 5. Estrutura química dos 28 constituintes identificados nos óleos essenciais das folhas de *Myrciaria cauliflora*.

- Os constituintes 8 e 23 são desconhecidos.

Apêndice 6. Sumário da Análise de discriminante Canônico de amostras de folhas de *M. cauliflora* dos seis sítios de amostragem.

A. Funções Canônicas	Autovalores	Porcentagem relativa	Correlação canônica	Lâmbda de Wilks	F	GL	P	
F1	71.0822	96.0	0.9931	0.0026	43.9435	15; 85	0.0001	
F2	2.4134	3.3	0.8409	0.1857	10.5635	8; 64	0.0001	
B. Coeficientes padronizados		Elemol	β -Eudesmol	α -Eudesmol	Fenóis totais	Taninos		
F1		-0.70	0.36	0.02	2.64	-2.98		
F2		-0.66	0.65	0.08	0.73	0.07		
C. Baricentros dos grupos			I	II	III	IV		
F1			-4.32	-6.53	12.07	9.03		
F2			2.53	-0.95	-1.35	1.25		
D. Validação cruzada		Porcentagem de classificação correta						
		Total	I	II ^a	III	IV		
		98.6	100	94.4	100	100		

Número de amostras = 39; Variáveis discriminantes: elemol, α - and β -eudesmol, fenóis totais, taninos. Grupo I (sítio 1, $n = 7$); II (sítios 2, 3 e 6, $n = 18$); III (sítio 4, $n = 7$); IV (sítio 5, $n = 7$). ^a Amostra mal classificada (S3b) dentro do grupo I por causa do alto teor de α - e β -eudesmol na amostra.

Apêndice 7. Matriz espécie. Constituintes dos óleos essenciais e teores de fenólicos, açúcares redutores e acidez dos frutos de *M. cauliflora* nos sítios de amostragem.

	a-pin	b-pin	b-myr	a-phe	lim	18-cin	Z-oci	E-oci	linal	a-ter	d-ele	a-cop	E-car	a-hum	ger-D	d-sel	bicic	d-cad	elemol	ger-B	glob	cubebol	epi-eud	g-eud	cubenol	b-eud	a-eud	MH	OM	SH	OS	M	S	FT	TAN	ANTO	ACUCAR	ACIDEZ	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	
1	S1A	0,60	0,99	0,52	0,51	4,33	0,72	1,86	2,55	1,41	1,77	0,01	0,01	2,07	0,01	3,30	0,01	1,75	0,90	1,33	0,01	0,62	1,15	2,12	42,65	0,37	10,74	15,93	11,36	3,90	8,07	74,91	15,26	82,98	2,10	0,79	326,28	48,63	9,12
2	S1B	0,76	0,95	0,54	0,58	4,98	0,70	2,10	3,17	0,80	1,77	0,68	0,70	4,66	0,76	5,37	0,85	3,40	1,85	0,92	0,01	1,11	0,01	1,89	39,93	0,01	7,11	13,50	13,08	3,27	18,28	64,48	16,35	82,76	1,81	0,56	522,48	52,39	9,08
3	S1C	0,94	1,21	0,58	0,01	5,43	0,78	2,19	2,93	0,80	2,06	1,02	0,83	5,52	0,88	5,69	1,05	3,83	2,24	0,96	0,01	1,22	0,01	1,59	37,49	0,01	6,43	12,43	13,29	3,64	21,07	60,14	16,93	81,21	2,10	0,79	300,78	59,06	8,97
4	S1D	0,75	0,67	0,01	0,01	6,05	0,75	2,50	3,44	0,84	2,50	0,98	1,02	6,19	0,94	4,26	1,12	3,61	2,40	0,90	0,01	1,12	0,01	0,01	38,19	0,01	5,91	11,90	13,43	4,09	20,53	58,05	17,52	78,58	2,13	0,79	310,63	53,78	8,82
5	S1E	0,71	1,41	0,70	0,79	6,27	0,53	2,74	3,79	1,11	0,97	0,01	0,01	2,00	0,01	3,87	0,01	2,04	0,94	1,50	0,01	0,41	0,86	2,27	40,85	0,01	10,32	13,78	16,41	2,61	8,90	70,00	19,02	78,90	2,40	0,80	317,81	46,05	8,44
6	S1F	0,46	0,88	0,48	0,51	4,80	0,64	2,12	2,79	1,34	1,81	0,01	0,50	4,05	0,87	5,94	0,01	3,41	1,61	0,91	0,01	0,83	0,01	1,40	40,83	0,01	8,13	14,15	12,04	3,79	16,41	66,27	15,83	82,68	2,29	0,91	396,30	45,85	8,15
7	S1G	0,87	1,15	0,65	0,64	5,72	0,64	2,28	3,06	0,92	1,74	0,01	0,75	5,67	0,90	5,58	0,90	3,67	2,15	0,85	0,01	1,15	0,01	1,41	37,73	0,01	7,16	13,03	14,37	3,30	19,64	61,35	17,67	80,99	2,35	0,83	393,54	46,88	8,94
8	S2A	0,78	1,40	0,55	0,55	5,01	0,42	2,49	3,72	1,41	1,30	0,48	0,01	3,78	0,71	4,70	0,54	2,85	1,47	1,14	0,01	1,11	1,45	1,91	38,62	0,01	8,50	14,62	14,50	3,13	14,55	67,36	17,63	81,91	1,30	0,35	180,35	61,74	8,44
9	S2B	0,57	0,84	0,48	0,52	4,42	0,01	2,56	3,83	1,81	2,12	0,01	0,01	5,30	0,96	5,46	0,84	3,66	2,06	1,02	0,01	1,22	1,57	1,59	38,06	0,01	6,72	12,95	13,22	3,94	18,31	63,14	17,16	81,45	1,56	0,58	212,44	63,75	9,17
10	S2C	0,67	1,15	0,58	0,01	5,62	0,49	2,65	4,11	1,51	2,03	0,01	0,01	5,52	0,94	5,36	0,91	3,91	2,07	1,03	0,01	1,14	0,01	1,15	38,36	0,01	6,35	11,95	14,79	4,03	18,74	60,00	18,82	78,74	1,49	0,56	207,27	56,97	8,12
11	S2D	1,49	2,15	0,82	0,98	7,71	0,73	2,74	3,41	1,61	1,67	0,50	0,01	3,67	0,67	5,05	0,55	2,93	1,36	1,16	0,01	0,89	0,01	1,81	36,25	0,01	7,78	12,93	19,30	4,01	14,75	60,84	23,31	75,59	1,37	0,46	215,11	56,36	9,14
12	S2E	0,01	0,01	0,01	0,01	2,27	0,43	1,05	1,72	1,25	2,34	0,70	0,64	4,69	0,80	4,86	0,72	3,28	2,01	1,01	0,48	1,53	1,68	1,94	39,96	0,70	8,29	15,34	5,08	4,02	18,18	70,45	9,10	88,63	0,81	0,27	139,08	57,52	8,24
13	S2F	0,60	1,06	0,50	0,52	4,89	0,44	2,08	2,89	1,15	1,57	0,56	0,01	4,22	0,80	4,49	0,67	2,98	1,71	1,13	0,01	1,16	0,01	1,90	41,40	0,01	7,79	14,25	12,54	3,16	15,45	67,65	15,70	83,10	1,02	0,42	181,35	56,57	8,90
14	S2G	0,01	0,01	0,01	0,01	2,61	0,01	1,66	2,20	1,40	1,69	0,52	0,01	3,71	0,72	4,01	0,60	2,72	1,47	1,17	0,45	1,41	1,59	2,10	41,23	1,76	9,30	15,72	6,51	3,10	14,21	74,28	9,61	88,49	1,43	0,60	234,35	57,81	8,36
15	S3A	0,87	1,36	0,44	0,01	4,10	0,01	1,95	3,65	1,00	1,24	0,97	0,98	5,73	0,96	5,18	0,72	3,55	2,12	1,30	0,01	1,61	1,78	1,95	34,20	0,01	8,54	14,19	12,38	2,25	20,22	63,58	14,63	83,80	1,33	0,41	265,81	59,67	7,22
16	S3B	0,82	1,10	0,01	0,01	3,94	0,60	1,31	3,19	0,84	2,10	1,06	1,07	6,19	0,94	4,62	0,92	3,80	2,30	1,20	0,01	1,77	0,01	1,81	36,90	0,01	7,45	13,85	10,38	3,54	20,91	63,00	13,92	83,91	1,27	0,34	274,66	63,04	6,82
17	S3C	0,75	1,19	0,46	0,47	4,54	0,59	1,98	3,48	1,04	1,89	0,01	0,01	4,23	0,73	5,00	0,63	3,28	1,62	1,46	0,01	0,95	0,01	1,81	40,15	0,01	8,63	13,57	12,87	3,52	15,52	66,59	16,39	82,11	1,42	0,54	206,51	61,32	6,98
18	S3D	0,01	0,74	0,52	0,56	4,94	0,62	2,18	4,84	1,12	2,29	0,75	0,91	5,89	1,08	5,04	0,84	3,83	2,17	1,30	0,01	1,14	0,01	1,70	36,19	0,01	7,03	12,57	13,79	4,03	20,52	59,95	17,82	80,47	1,48	0,47	268,77	47,71	7,22
19	S3E	0,01	0,01	0,01	0,01	1,96	0,01	1,04	2,04	0,01	3,06	0,75	1,42	6,81	1,03	4,18	0,95	4,26	3,68	0,01	0,01	1,77	0,73	1,64	37,93	0,01	6,54	14,10	5,08	3,08	23,09	62,73	8,16	85,82	1,24	0,42	149,72	62,95	9,41
20	S3F	0,75	1,12	0,01	0,83	3,53	0,01	1,78	2,47	0,92	1,17	0,96	0,86	5,32	0,87	5,30	0,70	3,55	2,06	1,24	0,59	1,58	1,62	1,97	36,28	0,01	8,65	15,13	10,49	2,10	20,21	66,48	12,59	86,69	1,22	0,34	197,30	58,33	7,96
21	S3G	0,95	1,38	0,48	0,51	4,70	0,01	1,96	3,12	0,67	1,16	0,55	0,54	4,55	0,84	4,94	0,59	3,31	1,64	1,16	0,01	1,82	1,69	1,66	37,03	0,01	9,12	15,31	13,10	1,84	16,97	67,80	14,94	84,77	0,97	0,29	177,56	59,75	8,05
22	S4A	0,81	1,63	0,01	0,01	2,93	0,42	1,25	3,03	1,52	1,38	0,74	1,15	6,39	0,91	6,22	0,75	3,90	2,54	0,52	0,61	1,62	1,74	1,78	34,26	0,71	7,83	14,60	9,67	3,32	23,21	63,06	12,99	86,27	1,68	0,44	295,56	37,27	8,06
23	S4B	0,01	0,87	0,01	0,01	2,56	0,34	1,08	2,50	1,35	1,65	0,74	0,89	5,56	0,91	6,72	0,70	3,83	2,17	0,71	0,65	1,60	1,74	1,84	36,02	0,82	8,90	15,17	7,04	3,34	22,17	66,80	10,38	88,97	1,45	0,47	262,93	36,71	6,83
24	S4C	0,01	0,01	0,01	0,01	1,22	0,01	0,61	1,12	0,58	2,04	0,72	1,33	6,39	0,99	5,01	0,86	4,18	2,95	0,01	0,01	1,90	2,06	2,29	35,29	2,83	8,11	14,80	2,99	2,63	22,44	67,29	5,62	89,73	1,25	0,37	315,84	41,44	8,08

	a-pin	b-pin	b-myr	a-phe	lim	18-cin	Z-oci	E-oci	linal	a-ter	d-ele	a-cop	E-car	a-hum	ger-D	d-sel	bicic	d-cad	elemol	ger-B	glob	cubebol	epi-eud	g-eud	cubebol	b-eud	a-eud	MH	OM	SH	OS	M	S	FT	TAN	ANTO	ACUCAR	ACIDEZ	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	
25	S4D	0,01	0,74	0,01	0,01	2,00	0,01	1,04	2,11	1,49	2,04	0,77	1,05	6,31	0,99	6,33	0,89	3,91	2,57	0,26	0,01	1,79	1,69	2,28	36,67	0,83	7,44	14,66	5,92	3,54	22,83	65,62	9,46	88,45	2,24	0,32	182,10	35,65	7,05
26	S4E	0,55	1,00	0,01	0,01	2,70	0,01	1,45	2,58	0,76	1,19	0,72	1,06	5,64	0,94	6,42	1,44	3,96	2,40	0,10	0,01	1,64	1,65	1,88	36,92	0,83	8,23	14,55	8,30	1,96	22,59	65,80	10,26	88,39	1,72	0,43	389,70	45,41	8,75
27	S4F	0,76	1,69	0,42	0,47	4,15	0,01	2,04	4,25	1,10	1,16	0,01	0,01	4,22	0,72	6,22	0,48	3,20	1,73	0,87	0,55	1,04	0,01	2,18	38,46	0,01	8,84	14,23	13,78	2,27	17,14	65,64	16,05	82,78	1,75	0,47	196,17	49,28	9,89
28	S4G	1,02	1,34	0,49	0,01	4,75	0,60	2,33	4,55	0,90	2,81	0,91	1,60	8,13	1,20	4,77	1,12	4,08	2,88	0,01	0,01	1,54	0,01	0,01	33,68	0,01	5,46	11,65	14,49	4,31	24,70	52,37	18,80	77,07	1,73	0,53	333,12	41,76	8,48
29	S5A	0,89	1,18	0,52	0,52	4,87	0,01	2,02	3,17	0,62	0,59	0,95	0,89	5,87	0,96	5,12	0,82	3,38	2,36	1,03	0,01	1,57	0,01	1,91	36,25	0,01	8,40	14,77	13,17	1,22	20,36	63,95	14,39	84,31	1,39	0,26	183,56	30,65	8,36
30	S5B	0,01	0,47	0,01	0,01	3,51	0,28	1,50	3,62	1,31	1,50	0,65	0,54	4,57	0,81	4,55	0,66	2,98	1,62	1,06	0,01	1,36	1,54	1,89	38,71	1,64	8,91	15,00	9,13	3,09	16,39	70,11	12,22	86,50	1,14	0,19	226,71	42,31	8,09
31	S5C	0,01	0,01	0,01	0,01	1,30	0,01	0,52	1,43	0,93	2,26	0,89	1,16	6,73	1,11	6,11	0,91	4,72	2,65	0,98	0,60	1,62	0,01	1,67	39,07	0,01	7,50	13,91	3,29	3,20	24,88	64,77	6,49	89,65	1,19	0,22	190,37	38,70	8,42
32	S5D	0,01	0,73	0,41	0,46	4,27	0,01	2,30	4,08	1,34	1,54	0,76	0,54	4,61	0,77	5,91	0,74	3,35	1,82	0,85	0,45	1,24	1,62	1,78	37,24	0,01	7,67	14,03	12,26	2,89	18,95	64,44	15,15	83,39	1,31	0,18	218,41	51,93	8,94
33	S5E	0,73	1,00	0,01	0,88	3,94	0,01	1,63	3,91	0,84	1,18	0,75	0,68	5,14	0,90	5,56	0,01	3,46	2,02	0,74	0,01	1,62	1,66	1,84	37,07	0,01	7,70	14,87	12,10	2,03	18,53	65,51	14,13	84,04	1,14	0,26	185,32	42,78	8,55
34	S5F	0,72	1,16	0,45	0,51	4,47	0,01	1,90	4,45	1,53	1,68	0,72	0,58	4,74	0,79	5,03	0,64	3,30	1,67	0,88	0,57	1,58	1,64	1,63	35,60	0,01	8,72	15,02	13,66	3,22	18,04	65,08	16,88	83,12	1,04	0,25	137,50	42,44	9,10
35	S5G	1,14	1,42	0,62	0,59	4,67	0,01	2,36	4,54	1,47	2,35	0,92	0,77	5,47	0,90	5,86	0,83	3,64	2,13	0,01	0,01	1,25	1,36	0,01	35,31	0,01	7,00	13,27	15,34	3,83	20,53	58,22	19,17	78,75	0,99	0,28	159,11	42,43	8,09
36	S6A	0,51	0,01	0,01	0,01	5,29	1,09	1,72	2,60	0,83	1,99	0,64	1,08	6,01	1,11	3,87	0,77	3,63	2,41	1,50	0,01	1,87	0,01	0,01	35,90	0,01	9,45	14,85	10,15	3,91	19,53	63,60	14,06	83,13	1,89	0,70	219,33	73,16	6,90
37	S6B	0,99	1,26	0,62	0,61	6,23	1,48	1,88	3,37	1,17	1,90	0,01	0,91	5,77	0,97	4,02	1,71	3,54	2,11	1,39	0,01	1,40	0,01	0,01	35,15	0,01	9,06	14,36	14,96	4,55	19,05	61,39	19,51	80,44	1,50	0,59	152,77	69,26	6,55
38	S6C	0,81	1,11	0,01	0,47	4,20	0,92	1,29	2,13	1,29	1,76	0,68	0,94	5,46	0,95	5,14	2,68	3,23	2,07	1,25	0,01	1,64	1,56	1,30	32,75	0,01	10,39	15,93	10,02	3,97	21,16	64,83	13,99	85,99	1,09	0,41	96,89	70,05	6,16
39	S6D	1,19	1,67	0,67	0,72	6,17	0,79	1,82	2,67	1,21	1,17	0,59	0,78	4,52	0,9	4,33	3,55	2,89	1,58	1,45	0,01	1,13	1,47	0,97	30,7	0,71	11,08	15,21	14,91	3,17	19,15	62,72	18,08	81,87	0,8	0,39	83,29	63,86	4,98
40	S6E	0,81	0,81	0,01	0,01	3,4	0,71	0,93	1,52	1,22	1,67	0,53	0,87	4,91	0,92	3,79	4,52	2,64	1,85	1,27	0,01	1,49	1,42	1,06	34,9	0,81	10,95	16,95	7,49	3,6	20,04	68,85	11,09	88,89	0,86	0,37	101,98	61,97	4,55
41	S6F	0,87	1,07	0,56	0,52	5,21	0,78	1,56	2,46	0,86	0,83	0,01	0,9	4,62	0,74	3,2	5,51	2,73	1,52	1,31	0,01	0,93	0,01	0,92	35,73	1,87	11,03	14,17	12,25	2,47	19,24	65,97	14,72	85,21	1,27	0,48	147,97	62,47	5,89
42	S6G	0,51	0,63	0,39	0,01	4,49	0,65	1,56	2,42	0,68	2,08	0,68	0,84	5	0,01	3,41	6,43	2,89	1,57	1,23	0,01	1,32	0,01	0,01	35,4	0,01	11,49	16,2	10,01	3,41	20,84	65,67	13,42	86,51	0,97	0,35	130,65	66,91	5,53

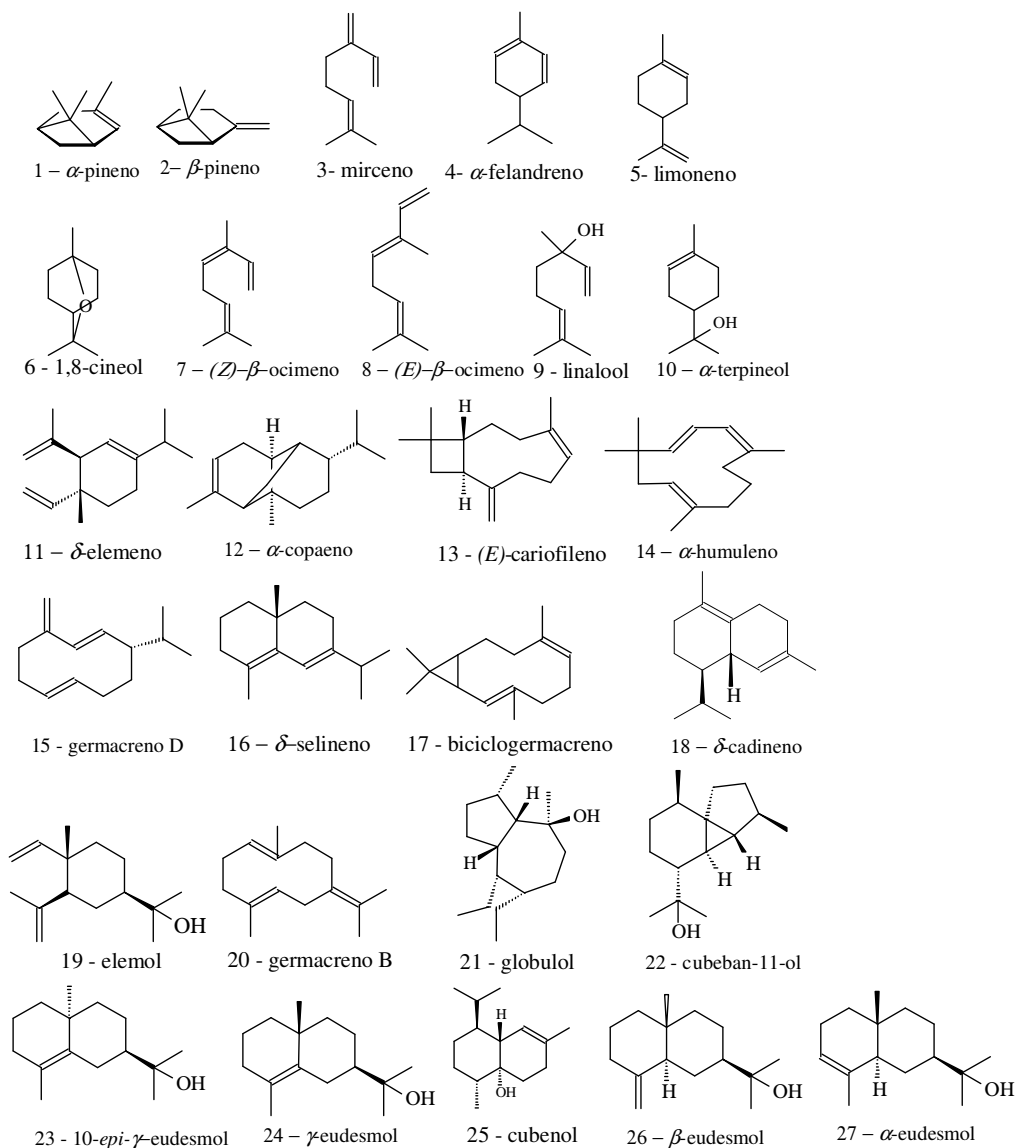
*As linhas representam as amostras e as colunas representam os constituintes dos óleos essenciais, fenóis totais e taninos.

a-pin = α -Pineno; b-pin = β -Pineno; b-myr = β -Mirceno; a-phe = α -Felandreno; lim = limoneno; 18-cin = 1,8-Cineol; Z-oci = (*Z*)- β -Ocimeno; E-oci = (*E*)- β -Ocimeno; linal = Linalool; a-ter = α -Terpineol; d-ele = δ -Elemeno; a-cop = α -Copaeno; E-car = (*E*)-Cariofileno; a-hum = α -Humuleno; ger-D = Germacreno D; d-sel = δ -Selineno; bicic = Bicyclgermacreno; d-cad = δ -Cadineno; Elemol; ger-B = Germacreno B; glob = Globulol; Cubebol; epi-eud = 10-epi- γ -Eudesmol; g-eud = γ -Eudesmol; Cubenol; b-eud = β -Eudesmol; a-eud = α -Eudesmol; MH = Hidrocarbonetos monoterpênicos; OM = Monoterpenos oxigenados; SH = Hidrocarbonetos sesquiterpênicos; OS = Sesquiterpenos oxigenados; M = Monoterpenos; S = Sesquiterpenos; FT = Fenóis Totais; TAN = Taninos; ANTO = Antocianinas; ACUCAR = Açúcar Redutor; ACIDEZ = Acidez Titulável.

Apêndice 8. Matriz ambiente. Propriedades físico-químicas dos solos dos sítios de amostragem dos frutos de *M. cauliflora*.

	argila	silte	areia	Cu	Fe	Mn	Zn	MO	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	Norte	Este
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
S1A	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128235,65	674246,52
S1B	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128238,65	674271,52
S1C	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128231,65	674252,52
S1D	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128229,65	674254,52
S1E	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128239,65	674249,52
S1F	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128230,65	674253,52
S1G	0,41	0,42	0,96	0,28	1,66	1,26	0,2	0,32	5	0,11	1,56	0,34	0,11	0,56	0,04	0,71	8128237,65	674242,52
S2A	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128185,30	674151,51
S2B	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128184,30	674145,51
S2C	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128192,30	674138,51
S2D	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128181,30	674140,51
S2E	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128192,30	674141,51
S2F	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128195,30	674139,51
S2G	0,58	0,4	0,83	0,38	2,35	1,35	0,4	0,3	4,8	0,23	1,54	0,36	0,15	0,49	0	0,69	8128184,30	674144,51
S3A	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128138,24	674511,10
S3B	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128141,24	674501,10
S3C	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128145,24	674515,10
S3D	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128147,24	674514,10
S3E	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128136,24	674505,10
S3F	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128136,24	674505,10
S3G	0,64	0,37	0,8	0,36	1,79	1,59	0,28	0,48	5	0,11	1,63	0,45	0,18	0,49	0	0,74	8128136,24	674505,10
S4A	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128193,19	674663,46
S4B	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128189,19	674657,46
S4C	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128178,19	674649,46
S4D	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128191,19	674668,46
S4E	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128196,19	674665,46
S4F	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128185,19	674663,46

	argila	silte	areia	Cu	Fe	Mn	Zn	MO	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	Norte	Este
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
S4G	0,7	0,42	0,71	0,28	1,54	1,82	0,6	0,57	5,2	1,11	1,89	0,72	0,38	0,51	0	0,95	8128180,19	674659,46
S5A	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129535,14	674959,73
S5B	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129539,14	674952,73
S5C	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129530,14	674958,73
S5D	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129529,14	674952,73
S5E	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129525,14	674947,73
S5F	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129536,14	674963,73
S5G	0,71	0,38	0,73	0,18	1,4	1,55	0,56	0,59	5,2	0,34	1,81	0,74	0,3	0,56	0	0,96	8129541,14	674949,73
S6A	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129432,45	674987,48
S6B	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129428,45	674981,48
S6C	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129425,45	674985,48
S6D	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129437,45	674978,48
S6E	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129426,45	674979,48
S6F	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129421,45	674985,48
S6G	0,45	0,35	0,99	0,24	1,58	1,02	0,22	0,44	5	0,11	1,57	0,26	0,1	0,56	0,04	0,68	8129421,45	674985,48

Apêndice 9. Estrutura química dos 27 constituintes identificados nos óleos essenciais dos frutos de *Myrciaria cauliflora*.**Apêndice 10.** Sumário da Análise de discriminante canônico de amostras dos frutos de *M. cauliflora* dos seis sítios de amostragem.

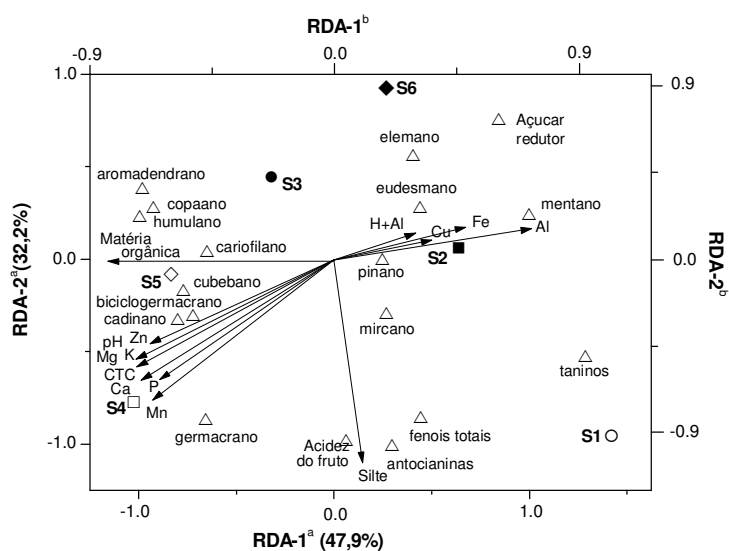
A. Funções Canônicas	Autovalores	Porcentagem relativa	Correlação canônica	Lambda de Wilks	F	GL	P
F1	10,702	83,6	0,956	0,026	23,05	12; 92	0,0001
F2	2,002	15,4	0,817	0,303	9,79	6; 72	0,0001
B. Coeficientes padronizados		α -copaeno	taninos	açúcar redutor	acidez do fruto		
F1		0,15	0,48	1,12	-0,94		
F2		0,64	-0,74	-0,18	-0,37		
C. Baricentros dos grupos		I	II	III	IV		
F1		-0,34	-3,30	1,45	5,83		
F2		-1,88	1,15	0,48	0,97		
D. Validação (Validação cruzada e Jackknife)	Porcentagem de classificação correta						
		I	II	III	IV	Total	
		93,0	93,0	86,0	100,0	93,0	

N = 42; variáveis discriminantes: α -copaeno, taninos, açúcar redutor, acidez do fruto. Grupos: I (n = 14), II (n = 14), III (n = 7) e IV (n = 7).

Apêndice 11. Porcentagem dos constituintes do óleo essencial de frutos de *M. cauliflora* de acordo com os esqueletos carbônicos.

Esqueletos Carbônicos	Sítios de amostragem					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
1. Pinano	1,80 a	1,56 a	1,60 a	1,52 a	1,40 a	1,75 a
2. Mircano	7,02 a	7,28 a	6,18 a	5,63 a	6,90 a	5,37 a
3. Mentano	8,45 a	7,30 abc	6,54 abc	5,04 c	6,00 bc	7,92 ab
4. Elemene	0,40 ab	0,40 b	0,74 ab	0,68 ab	0,80 a	0,45 ab
5. Copaano	0,56 ab	0,10 b	0,85 a	1,04 a	0,80 a	0,91 a
6. Cariofilano	4,40 b	4,48 ab	5,66 ab	6,24 a	5,40 ab	5,21 ab
7. Humulano	0,64 a	0,81 a	0,94 a	0,97 a	0,90 a	0,80 a
8. Germacrano	4,96 bc	5,07 bc	5,08 bc	6,34 a	5,80 ab	3,99 c
9. Bicyclogermacrano	3,16 a	3,24 a	3,74 a	3,95 a	3,60 a	3,09 a
10. Cadinano	1,82 b	2,13 b	2,29 ab	3,41 a	2,30 ab	2,37 ab
11. Elemeneo	1,07 bc	1,11 abc	1,11 ab	0,36 d	0,80 cd	1,35 a
12. Aromadendrano	0,94 b	1,23 ab	1,55 a	1,63 a	1,50 a	1,40 ab
13. Cubebano	0,30 a	0,92 a	0,85 a	1,30 a	1,10 a	0,64 a
14. Eudesmano	64,5 a	64,4 a	62,9 a	61,9 a	63,0 a	64,7 a
Total	100	100	100	100	100	100

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Apêndice 12. Análise de ordenação via RDA utilizando os constituintes do óleo essencial dos frutos agrupados por esqueletos carbônicos.

Ordenação dos dois primeiros eixos da RDA mostrando a distribuição dos sítios de amostragem de *M. cauliflora* (S1: ○, S2: ■, S3: ●, S4: □, S5: ◇, S6: ◆). Parâmetros do solo foram tratados como variáveis ambientais e estão representados por setas longas a partir da origem. Constituintes do óleo agrupados por esqueletos carbônicos, fenólicos, açúcares redutores e a acidez do fruto são representados pelos triângulos, cuja escala foi multiplicada por 10 para melhor visualização do diagrama.

Apêndice 13. Porcentagens dos constituintes do óleo essencial, fenólicos, açúcares redutores e acidez do fruto de *M. cauliflora* de acordo com os agrupamentos dos sítios de amostragem.

Constituintes	IR	Agrupamentos			
		I	II	III	IV
1. α -Pinoeno	933	0,66 a	0,48 a	0,59 a	0,81 a
2. β -Pinoeno	976	0,99 a	0,95 a	0,99 a	0,94 a
3. β -Mirreno	990	0,46 a	0,21 a	0,28 a	0,32 a
4. α -Felandreno	1005	0,40 a	0,25 a	0,34 a	0,34 a
5. Limoneno	1028	5,01 a	3,38 b	3,96 ab	5,00 ab
6. 1,8-Cineol	1031	0,52 b	0,12 c	0,26 bc	0,92 a
7. (Z)- β -Ocimeno	1035	2,22 a	1,57 b	1,74 ab	1,54 b
8. (E)- β -Ocimeno	1046	3,12 a	3,24 a	3,26 a	2,45 a
9. Linalool	1100	1,24 a	1,12 ab	0,80 b	1,04 ab
10. α -Terpineol	1191	1,81 a	1,67 a	1,84 a	1,63 a
11. δ -Elemeno	1338	0,39 b	0,73 a	0,72 ab	0,45 ab
12. α -Copaeno	1377	0,32 b	0,88 a	0,83 a	0,90
13. (E)-Cariofileno	1421	4,36 b	5,70 a	5,53 a	5,18 ab
14. α -Humuleno	1455	0,71 a	0,92 a	0,92 a	0,80 a
15. Germacreno D	1483	4,85 b	5,70 a	4,89 ab	3,97 b
16. δ -Selineno	1492	0,63 b	0,78 b	0,76	3,60 a
17. Bicyclgermacreno	1498	3,15 b	3,71 a	3,65 ab	3,08 ab
18. δ -Cadineno	1525	1,73 b	2,25 a	2,23 ab	1,87 ab
19. Elemol	1550	1,07 a	0,57 b	1,10 b	1,34
20. Germacreno B	1559	0,08 a	0,25 a	0,09 a	t
21. Globulol	1586	1,07 b	1,53 a	1,52 a	1,40 ab
22. Cubeban-11-ol	1596	0,60 a	1,20 a	0,84 a	0,64 a
23. 10- <i>epi</i> - γ -Eudesmol	1622	1,65 a	1,64 a	1,79 a	0,61 b
24. γ -Eudesmol	1637	39,40 a	36,47 bc	36,95 b	34,36 c
25. Cubenol	1645	0,21 a	0,55 a	t	0,49 a
26. β -Eudesmol	1654	7,90 b	7,91 b	7,99 b	10,49 a
27. α -Eudesmol	1658	13,75 b	14,32 ab	14,10 ab	15,38 a
Monoterpenos		16,42 a	13,00 a	14,06 a	14,98 a
Hidrocarbonetos monoterpênicos		12,85 a	10,08 a	11,16 a	11,40 a
Monoterpenos oxigenados		3,57 a	2,92 a	2,91 a	3,58 a
Sesquiterpenos		81,86 a	85,10 a	83,94 a	84,58 a
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		16,22 b	20,91 a	19,63 ab	19,86 ab
Sesquiterpenos oxigenados		65,64 a	64,19 a	64,30 a	64,72 a
Fenóis totais (mg mL ⁻¹)		1,73 a	1,43 ab	1,28 ab	1,20 b
Taninos (mg mL ⁻¹)		0,62 a	0,33 b	0,40 b	0,47 ab
Antocianinas (mg mL ⁻¹)		0,28 a	0,23 a	0,22 a	0,13 b
Açúcares redutores (g/100 g)		54,53 b	41,34 c	58,97 ab	66,81 a
Acidez do fruto (g/100 g)		8,71a	8,34 ab	7,67 b	5,79 c

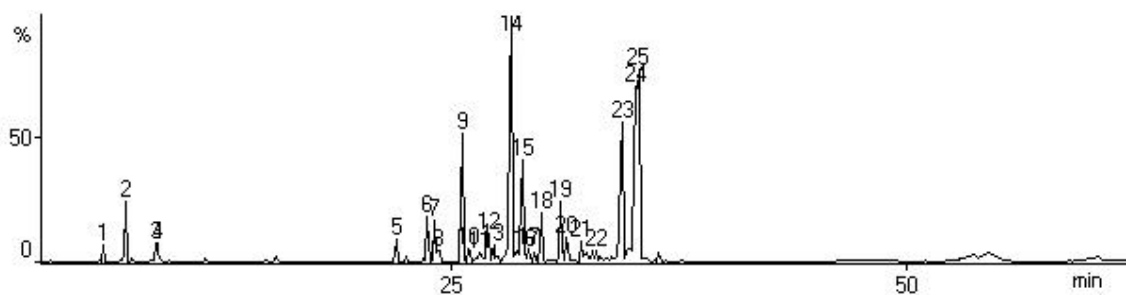
IR = Índice de retenção. t = traço (< 0.05%) Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Apêndice 14. Porcentagens dos constituintes do óleo essencial os frutos de *M. cauliflora*, agrupados por esqueletos carbônicos, nos grupamentos dos sítios de amostragem.

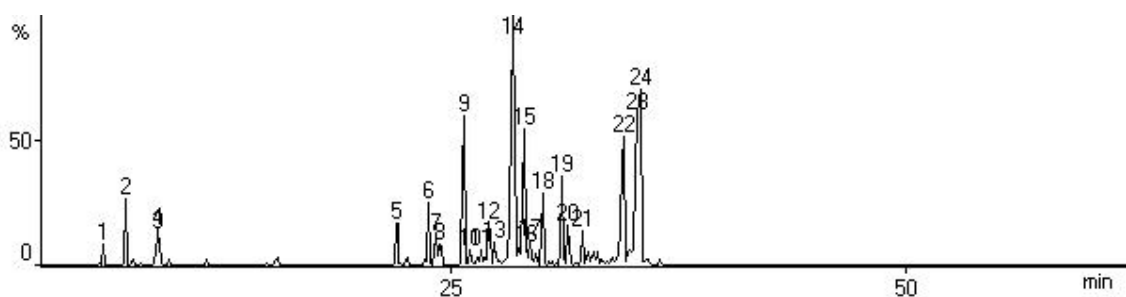
Esqueleto carbônico	Agrupamentos			
	I	II	III	IV
1. Pinano	1,68 a	1,45 a	1,60 a	1,75 a
2. Mircano	7,15 a	6,26 a	6,18 a	5,37 a
3. Mentano	7,88 a	5,53 b	6,54 ab	7,92 a
4. Elemano	0,40 b	0,75 a	0,74 ab	0,45 ab
5. Copaano	0,33 b	0,90 a	0,85 a	0,91 a
6. Cariofilano	4,44 b	5,82 a	5,66 ab	5,21 ab
7. Humulano	0,72 a	0,94 a	0,94 a	0,80 a
8. Germacrano	5,01 b	6,07 a	5,08 b	3,99 c
9. Bicyclgermacrano	3,20 b	3,78 a	3,74 ab	3,09 b
10. Cadinano	1,98 a	2,87 a	2,29 a	2,37 a
11. Elemano	1,09 b	0,58 c	1,11 ab	1,35 a
12. Aromadendrano	1,09 b	1,56 a	1,55 a	1,40 ab
13. Cubebano	0,61 a	1,22 a	0,85 a	0,64 a
14. Eudesmano	64,42 a	62,29 a	62,87 a	64,72 a

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não apresentam diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

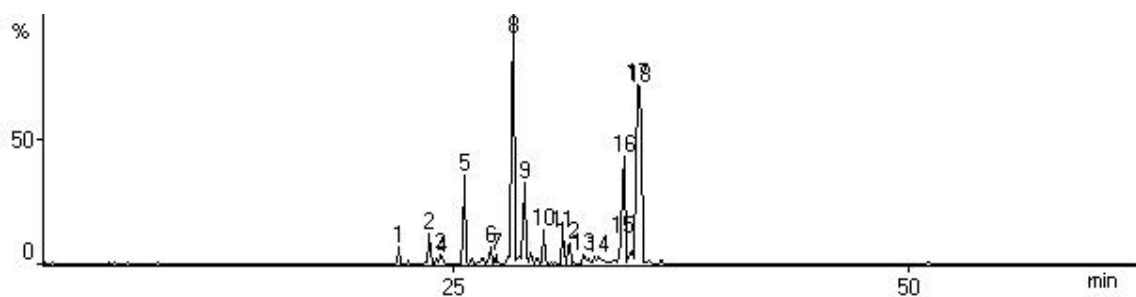
Apêndice 15. Cromatogramas Total de Íons (TIC) de amostras dos óleos essenciais de folhas de *M. cauliflora* e espectros de massas dos constituintes majoritários do óleo.



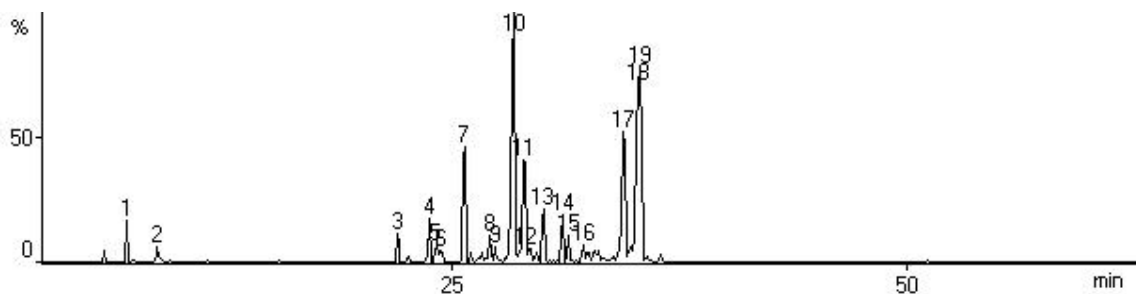
Amostra representativa do grupo I.



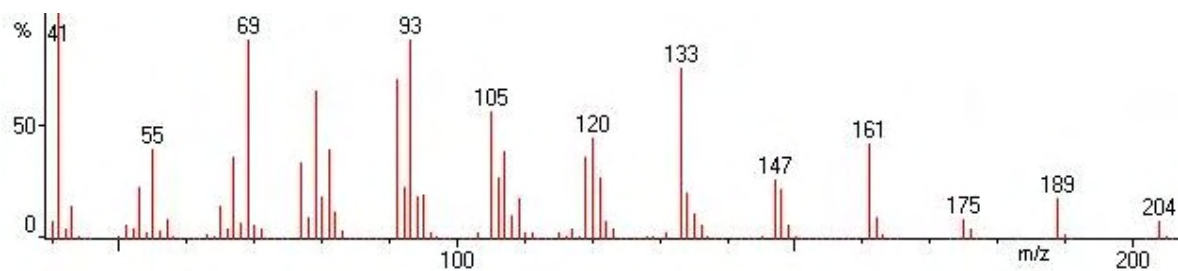
Amostra representativa do grupo II.



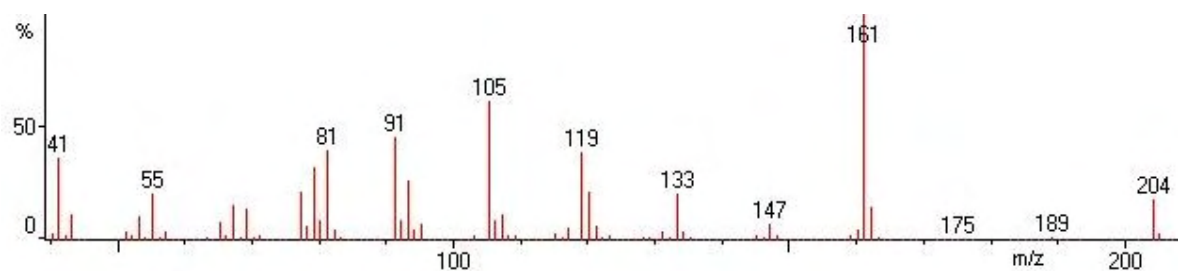
Amostra representativa do grupo III.



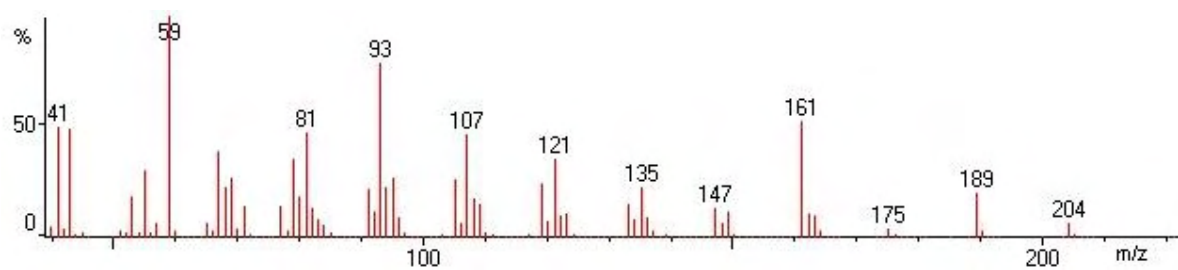
Amostra representativa do grupo IV.



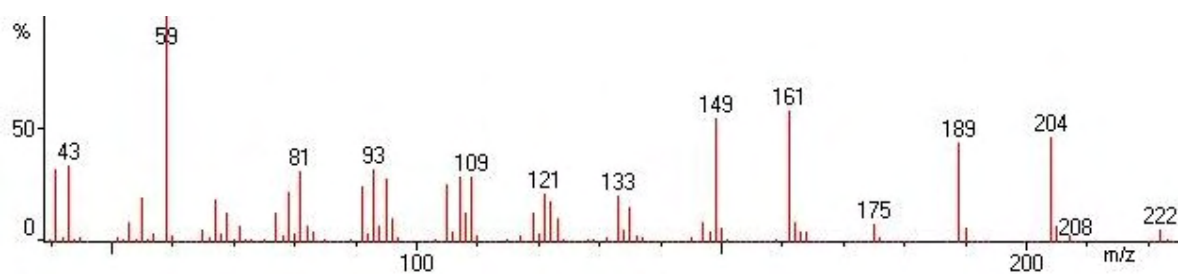
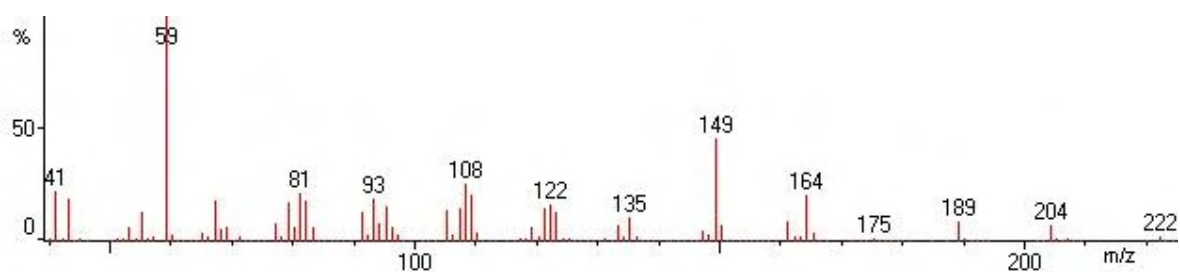
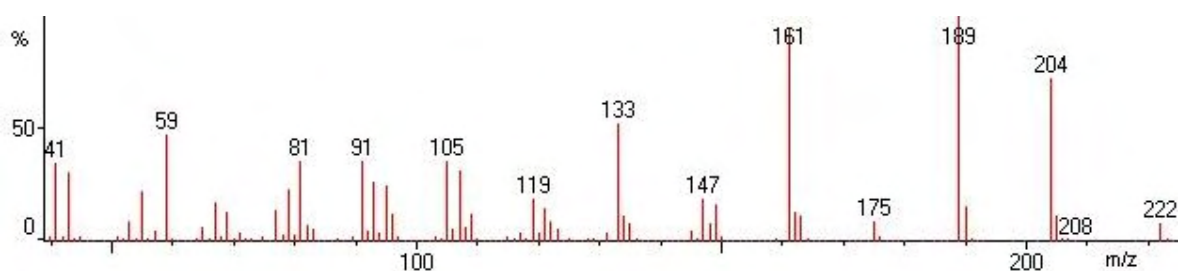
Espectro de massa do β -cariofileno.



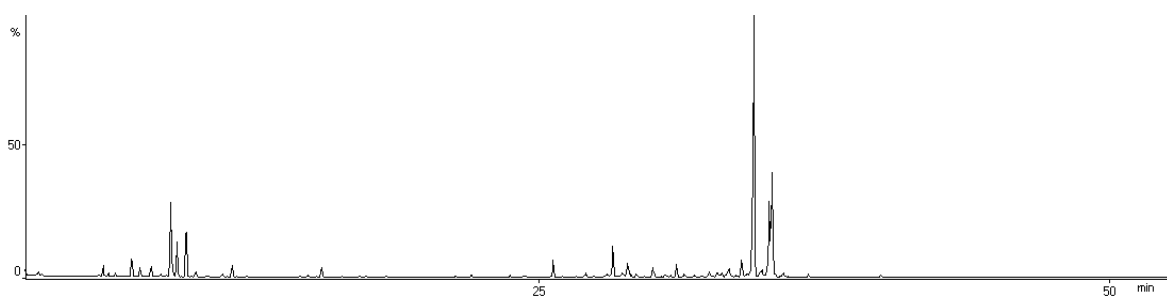
Espectro de massa do germacreno D.



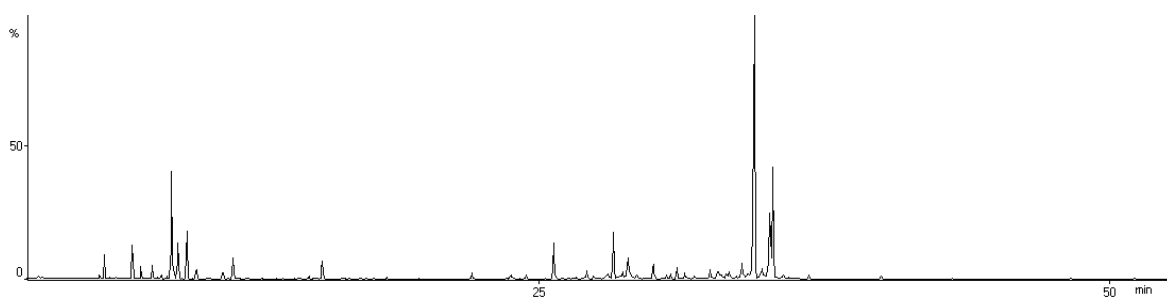
Espectro de massa do elemol.

Espectro de massa do α -eudesmol.Espectro de massa do β -eudesmol.Espectro de massa do γ -eudesmol.

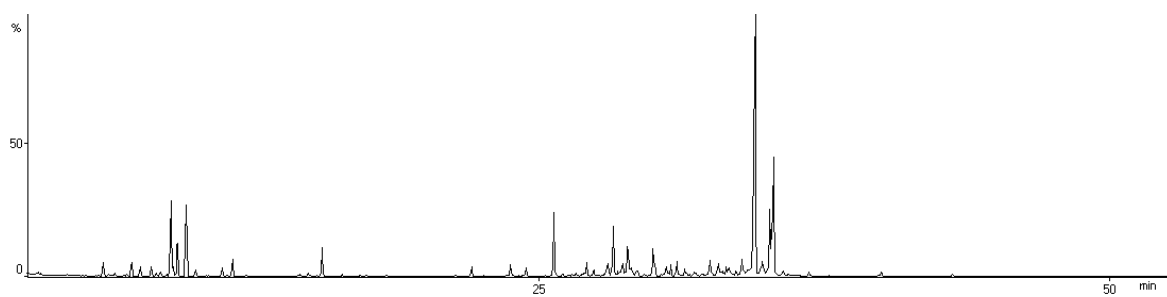
Apêndice 16. Cromatogramas Total de Íons (TIC) de amostras dos óleos essenciais dos frutos de *M. cauliflora*.



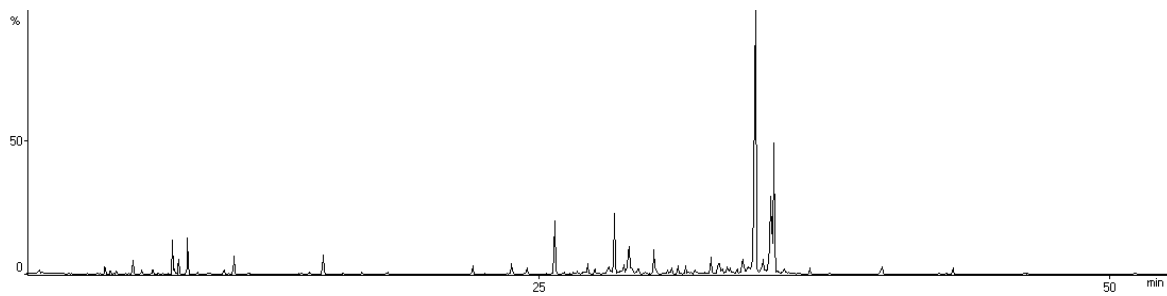
Amostra coletada no solo S1.



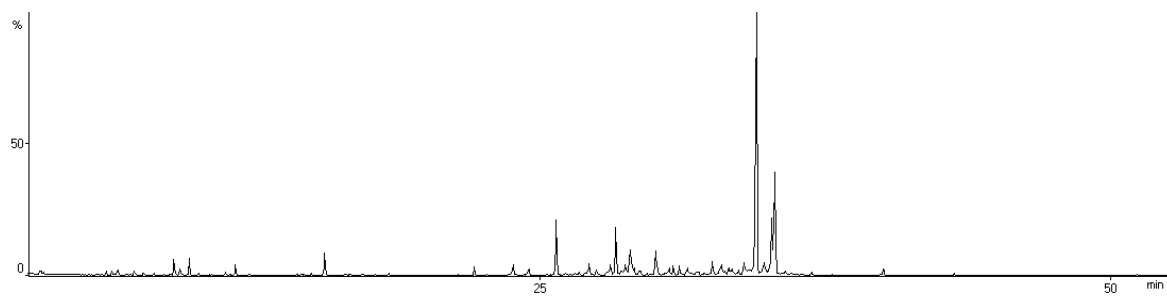
Amostra coletada no solo S2.



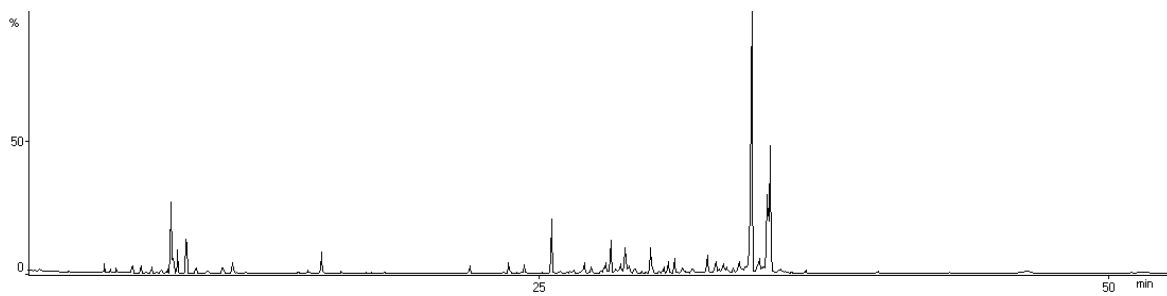
Amostra coletada no solo S3.



Amostra coletada no solo S4.



Amostra coletada no solo S5.



Amostra coletada no solo S6.