



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

João Gabriel Gouvêa da Silva

Quimiodiversidade de óleos essenciais de folhas de *Piper richardiifolium* Kunth (Piperaceae) em diferentes elevações no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (Teresópolis-RJ)

Rio de Janeiro

2022

João Gabriel Gouvêa da Silva

Quimiodiversidade de óleos essenciais de folhas de *Piper richardiifolium* Kunth (Piperaceae) em diferentes elevações no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (Teresópolis-RJ).

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Davyson de Lima Moreira

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

S586 Silva, João Gabriel Gouvêa da.
Quimiodiversidade de óleos essenciais de folhas de *Piper richardiifolium* Kunth (Piperaceae) em diferentes elevações no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (Teresópolis-RJ)/ João Gabriel Gouvêa da Silva. - 2022.
115 f. : il.

Orientador: Davyson de Lima Moreira
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Piperaceae - Teses. 2. Essencias e óleos essenciais - Teses. 3. Extração (Química) - Teses. 4. Plantas medicianis - Teses. I. Moreira, Davyson de Lima. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.
CDU 528.672

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 - Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte

Assinatura

Data

João Gabriel Gouvêa da Silva

**Quimiodiversidade de óleos essenciais de folhas de *Piper richardiifolium* Kunth
(Piperaceae) em diferentes elevações no Parque Nacional da Serra dos Órgãos
(Teresópolis-RJ)**

Dissertação apresentada, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre, ao Programa
de Pós-graduação em Biologia Vegetal, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Aprovada em 27 de outubro de 2022

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Davyson de Lima Moreira (Orientador)
Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Prof.^a Dra. Luciana Moreira Chedier
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof. Dr. Renato Crespo Pereira
Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Prof.^a Dra. Cláudia Simões Gurgel
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2022

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **João Carlos da Silva** e **Denise dos Santos Gouvêa** por todo amor, carinho e dedicação durante a minha criação. De Santos/SP para Rio de Janeiro/RJ com muita convicção de minha trajetória profissional. Obrigado por investirem nos meus sonhos e, acima de tudo, por me formarem como indivíduo. Obrigado pela vida e obrigado por serem meus pais!

A meu **irmão, meus avós, tios e primos**. Obrigado pelo suporte e apoio.

A **Juliana Rosa** por todo o incentivo, amor, paciência e dedicação na construção dos meus sonhos. Ao meu lado você me fortalece, obrigado!

A **Ygor Jesse Ramos** e **Claudete da Costa Oliveira** por toda paciência e comprometimento com a minha formação. Vocês enxergaram em mim potenciais que eu nunca teria enxergado sozinho e me incentivaram a me reinventar e superar todas as adversidades que encontrei em meu caminho. Hoje estou no meu caminho, com propósito e determinação graças ao amor e paciência de vocês. Obrigado pela amizade e parceria.

A meu orientador, **Davyson de Lima Moreira**, por ter me acolhido como aluno durante a pandemia em meio à uma série de incertezas econômicas e sociais. Foi graças à você que pude ter a oportunidade de aprender, me desenvolver e a ser um profissional crítico que olha para a natureza.

A todo o grupo de pesquisa do **Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, obrigado pelo apoio e ensinamentos, em especial à **Jéssica Salles, Diego Marcelino, Thiago Costa** e **Irene Cândido** pelos momentos de troca de conhecimento e auxílio prático..

A **George Azevedo**, por ter me acompanhado como um professor da natureza.

A **CAPES** pela bolsa concedida em meio às incertezas econômicas decorrentes da pandemia.

A **Farmanguinhos/FIOCRUZ**, principalmente a Plataforma Analítica, pelas análises e suporte estrutural para realização deste trabalho.

Ao **Centro de Responsabilidade Socioambiental do Jardim Botânico do Rio de Janeiro** pela estrutura e oportunidade de difusão de meus conhecimentos com os jovens do setor.

A todos aqueles que participaram de meu processo de formação e desenvolvimento profissional. O meu muito obrigado!

SIC PARVIS MAGNA

A ignorância gera mais frequentemente confiança do que o conhecimento: são os que sabem pouco, e não aqueles que muito sabem, que afirmam de uma forma tão categórica que este ou aquele problema nunca será resolvido pela ciência.

Charles Darwin

RESUMO

Gouvêa-Silva, João Gabriel. Quimiodiversidade de óleos essenciais de folhas de *Piper richardiifolium* Kunth (Piperaceae) em diferentes elevações no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (Teresópolis-RJ). 2022. 115 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

A compreensão das variações intra- e interespecíficas remetem à necessidade do entendimento de como os metabólitos especiais podem se diversificar em níveis individuais e coletivos. As espécies de *Piper* L. são interessantes alvos de estudos ecológicos e evolutivos por apresentarem respostas plásticas distintas frente a diferentes fatores ambientais, além de desempenharem importante papel ecológico na interação planta-planta e planta-animal. *Piper richardiifolium* Kunth é uma espécie nativa e endêmica do Brasil, pertencente ao clado *Macrostachys* e com escassas informações científicas sobre os constituintes voláteis presentes em seus óleos essenciais. Dessa forma, este trabalho teve por objetivo avaliar a composição química de óleos essenciais foliares de uma população de *P. richardiifolium* do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis/ RJ e, assim, verificar a influência da elevação em aspectos micromoleculares e nas quimiodiversidades α e β . Um total de 12 espécimes foram coletados em diferentes elevações, identificados e seus óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. A identificação dos constituintes químicos foi realizada por Cromatografia com Fase Gasosa (CG) acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) e a quantificação das substâncias foi realizada por CG acoplada ao Detector de Ionização por Chama (CG-DIC). Para calcular as variações intraespecíficas, interespecíficas e as tendências micromoleculares foram utilizados índices de quimiodiversidade (população) e dois novos índices de tendência micromolecular ou quimiofenéticos (indivíduos), sendo um deles desenvolvido nesta Dissertação. Foi possível identificar um total de 111 substâncias, sendo possível constatar espécimes abundantes em monoterpenos não oxigenados (α -pineno, β -pineno e canfeno), sesquiterpenos não-oxigenados (biciclogermacreno e bicicloelemeno) e sesquiterpenos oxigenados (*cis*-diidroagarofurano, 10-*epi*- γ -eudesmol, elemol, *E*-nerolidol e espatulenol). A elevação não influenciou na composição química de *P. richardiifolium* (1.000 - 1600 m), assim como os fatores edafoclimáticos. Foi registrada uma homogeneidade dos voláteis identificados na maioria dos espécimes, exceto em dois indivíduos, que se diferenciaram dos demais. Esses espécimes são possíveis candidatos à quimiotipos. Os índices de quimiodiversidade α demonstraram homogeneidade dos espécimes avaliados nas características de dominância e diversidade, nas diferentes elevações, evidenciando uma possível homeostase química. Os índices de quimiodiversidade β demonstraram baixa similaridade química entre os espécimes. O índice quimiofenético de Ramos&Moreira (R&M) demonstrou que os espécimes possuem mistura volátil reduzida. Em elevações baixas foi registrado maior flutuação do R&M, enquanto em elevações mais altas registrou-se maior homogeneidade. O novo índice ecológico desenvolvido neste trabalho, C_{DE} , demonstrou ter potencial para avaliar a dinâmica metabólica de espécimes em escalas espaciais e temporais, sugerindo como desvios de rotas biossintéticas podem favorecer um processo de adaptação. No entanto, mais pesquisas precisam ser realizadas para validar sua aplicação na mensuração quantitativa do metabolismo vegetal em avaliações ecológicas temporais e espaciais.

Palavras-chave: Quimiodiversidade. Quimiofenética. Terpenos. Substância voláteis. Plasticidade Fenotípica. *Macrostachys*.

ABSTRACT

Gouvêa-Silva, João Gabriel. *Chemodiversity of essential oils from leaves of Piper richardiifolium Kunth (Piperaceae) at different elevations in Serra dos Órgãos National Park (Teresópolis-RJ)*. 2022. 115 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

The intra and interspecific variations of species lead to a need to comprehend how secondary metabolites can diversify at individual and collective levels. *Piper* species are models for ecological and evolutionary studies because of their different plastic responses and their important role in the interaction with insects and fruit bats. *Piper richardiifolium* is a native and endemic species from Brazil, belonging to the *Macrostachys* clade and with few literary resources on chemical-volatile constituents present in its essentials. Thus, this work aims to determine how micromolecular trends and influences of different levels of chemodiversity in leaf essences of a population of *Piper richardiifolium* that occurs in different elevation patterns in Serra dos Órgãos National Park – Teresópolis – RJ. A total of 12 different individuals were collected at different elevation patterns, identified and their essential oils were extracted by hydrodistillation in modified Clevenger apparatus. The identification of chemical constituents was performed by gas chromatography applied to mass spectrometry (GC-MS) and the quantification of substances was elucidated employing gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID). The parameters calculated for the intraspecific and interspecific variations and the micromolecular trends were the chemodiversity indexes (individual and populational) and two new indexes of micromolecular trend for chemophenetics (individuals), one of which was developed in this Dissertation. A total of 111 substances were identified, with abundant non-oxygenated monoterpenes (α -pinene, β -pinene and camphene), non-oxygenated sesquiterpenes (bicyclogermacrene and bicycloelemene) and oxygenated sesquiterpenes (cis-dihydroagarofuran, 10-epi- γ -eudesmol, elemol, *E*-nerolidol and spathulenol). The elevation did not influence the chemical composition of *P. richardiifolium* (1000-1600 m), as well as the edaphoclimatic factors. A chemical homogeneity of volatile substances was observed in analyzed specimens, except in two individuals, that can possibly be chemotype of this species. The indexes of diversity α has shown an homogeneity of the dominance and diversity characteristics in the different elevations, showing an chemical homeostasis. The chemodiversity β indexes has shown low chemical similarity between the specimens. The chemophenetic index, Ramos&Moreira (R&M), has shown that the specimens have a reduced volatile mixture. In lower elevations, was registered a bigger variation of the R&M, but in higher elevations a homogeneity was registered for that index. The new ecological index developed in this manuscript, the C_{DE} , demonstrated big potential to evaluate the metabolic dynamics of the specimens in spacial and temporal scales, showing how biosynthetic routes can benefit the adaptation of species. However, more researches need to be realized for the validation of this index in the quantitative measurement of plants metabolism in ecological studies.

Keywords: Chemodiversity. Chemophenetics. Terpene. Volatile compounds. Phenotypical plasticity. *Macrostachys*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Relações biossintéticas entre metabolismo basal e especial em plantas.....	15
Figura 2 –	Esquema biossintético da via do ácido mevalônico (MEV) e da via do fosfato de metileritritol (MEP) na produção dos isoprenoides.....	18
Figura 3 –	Esquema biossintético de formação monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos.....	19
Figura 4 –	Principal rota biossintética para a produção de monoterpenos em hortelã-pimenta (<i>Mentha x piperita</i> L.)	21
Figura 5 –	Esquema da biossíntese de arilpropanoides e possíveis grupos funcionais presentes a partir de distintas reações químicas.....	22
Figura 6 –	Níveis de manifestação do genótipo.....	23
Figura 7 –	Fatores abióticos que alteram a produção de metabólitos especiais em plantas.....	25
Figura 8 –	Diferentes níveis de quimiodiversidade em diferentes arranjos populacionais.....	29
Figura 9 –	Fotografia de <i>Piper richardiifolium</i> situada na Trilha da Pedra do Sino no PARNASO em Teresópolis/RJ, Brasil.....	36
Figura 10 –	Rota utilizada para a coleta dos espécimes de <i>Piper</i>	41
Figura 11 –	Variabilidade de fatores macroclimáticos no dia de coleta realizada em 14 de julho de 2021.....	44
Figura 12 –	Variabilidade dos fatores macroclimáticos no ano de 2021.....	44
Figura 13 –	Extração dos óleos essenciais foliares de <i>Piper richardiifolium</i> por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.....	46
Figura 14 –	Estruturas químicas das substâncias majoritárias identificadas nos 12 espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> coletadas em diferentes elevações nos acessos de Teresópolis/RJ.....	53
Figura 15 –	Variação das classes químicas de óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> coletados em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.....	64
Figura 16 –	Variação do teor percentual relativo das substâncias majoritárias identificadas nos óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i>	

	coletados em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.....	65
Figura 17 –	Gráfico <i>Biplot</i> de Análise de Componente Principal da composição dos óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> coletadas em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.....	66
Figura 18 –	Dendrograma apresentando a similaridade química dos óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> coletadas em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.	67
Figura 19 –	Variação de quimiodiversidade α de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth. em diferentes elevações.....	70
Figura 20 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth amostra PR1 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	71
Figura 21 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR2). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	72
Figura 22 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR3). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	73
Figura 23 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR4). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	74
Figura 24 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR5). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	75
Figura 25 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR6). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	76
Figura 26 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR7). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	77
Figura 27 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR8). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO –	

	Teresópolis/RJ.....	78
Figura 28 –	Variação de quimiodiversidade β de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR9). com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.	79
Figura 29 –	Proposta de mapa biossintético dos tipos de esqueleto terpênico identificados nos óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i>	80
Figura 30 –	Variação do índice de Ramos & Moreira e número de substâncias nos óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	87
Figura 31 –	Resultado dos índices de quimiodiversidade α , índice de Ramos & Moreira (R&M) e Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (C_{DE}) aplicados para o óleo essencial de diferentes espécimes de <i>Piper</i> <i>richardiifolium</i> Kunth de diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	87
Figura 32 –	Variação do Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (C_{DE}), número de substâncias e números de esqueletos de carbono dos óleos essenciais de espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth de diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Composição majoritária por parte da planta e atividade biológica de óleos essenciais de espécies de <i>Piper</i> L. de ocorrência no Brasil.....	33
Tabela 2 –	Caracteres morfo-anatômicos de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth., <i>Piper truncatum</i> Vell. e <i>Piper pseudopothifolium</i> C.D.C.....	37
Tabela 3 –	Dados obtidos da coleta de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth na trilha da Pedra do Sino na sede de Teresópolis do PARNASO.....	42
Tabela 4 –	Fatores microclimáticos obtidos <i>in situ</i> no momento da coleta.....	43
Tabela 5 –	Composição do solo de doze locais de coleta de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth. No Parque Nacional da Serra dos Órgãos em Teresópolis/RJ....	45
Tabela 6 –	Constituição química, rendimentos (%), esqueleto de carbonos (esqueleto–C) dos óleos essenciais foliares de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth coletados em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.....	54
Tabela 7 –	Análise de correlação de Spearman entre variáveis ambientais, rendimentos, substâncias majoritárias e classes químicas dos óleos essenciais de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth em diferentes elevações.....	63
Tabela 8 –	Análise de correlação de Spearman entre variáveis ambientais e índices de quimiodiversidade dos óleos essenciais de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth em diferentes elevações.....	68
Tabela 9 –	Análise de correlação de Spearman entre índices de quimiodiversidade, substâncias majoritárias e classes químicas dos óleos essenciais de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth em diferentes elevações.....	69
Tabela 10 -	Índices de de quimiodiversidade α calculados para os espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	70
Tabela 11 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR1) com os demais	

	coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	71
Tabela 12 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR2) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	72
Tabela 13 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR3) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ....	73
Tabela 14 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR4) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	74
Tabela 15 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR5) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	75
Tabela 16 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR6) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	76
Tabela 17 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR7) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	77
Tabela 18 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR8) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	77
Tabela 19 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR9) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	78
Tabela 20 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR10) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.....	79
Tabela 21 -	Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth (PR11) com o espécime PR12.....	79

Tabela 22 - Índices de Ramos & Moreira calculados os espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth.....	81
Tabela 23 - Coeficiente de diversificação de esqueletos das substâncias identificadas em óleos essenciais em espécimes de <i>Piper richardiifolium</i> Kunth.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAH	Análise de Agrupamento Hierárquico
ACC	Análise de Correspondência Canônica
ACP	Análise de Componentes Principais
ALT	Elevação
ANOVA	Análise de Variância
β_c	Índice de Cody
C _{DE}	Coefficiente de Diversificação de Esqueleto
CG-DIC	Cromatografia Gasosa acoplada a Detector de Ionização por Chamas
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectometria de Massas
C _J	Índice de Jaccard
CoA	Coenzima A
D _S	Índice de Simpson
E	Índice de Pielou
Esqueleto-C	Esqueletos de Carbono
GM _{OR}	Índice Redox da Mistura Geral
GPP	Pirofosfato de geranial
H'	Índice de Shannon
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
I _{PAP}	Índice de Plasticidade Ambiental Padronizada
IPP	Pirofosfato de Isopentenila
IR	Índice de Retenção
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
JBRJ	Jardim Botânico do Rio de Janeiro
MEP	Metileritritol-fosfato
MEV	Mevalonato
MH	Monoterpeno Hidrocarboneto
MO	Monoterpeno Oxigenado
N _{IA}	Número de Substâncias Identificadas na Amostra
N _{OR}	Nível Ponderado de Oxi-redução
OE	Óleo Essencial
OS	Outras Substâncias
P.A.	Princípio Ativo

PARNASO	Parque Nacional da Serra dos Órgãos
PC	<i>Piper cernuum</i> Vell.
PO	<i>Piper obliquum</i> Ruiz & Pav.
PP	<i>Piper pseudopothifolium</i> C.DC.
PR	<i>Piper richardiifolium</i> Kunth
PT	<i>Piper truncatum</i> Vell.
REDOX	Oxi-redução
SH	Sesquiterpeno Hidrocarboneto
SI	Índice de Sørensen
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SO	Sesquiterpeno Oxigenado
TDO	Teoria da Defesa Ótima
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UPGMA	<i>Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages</i>
UTO	Unidade Taxonômica Operacional

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
δ	Delta
%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
>	Maior que
<	Menor que
$\geq$	Maior ou igual que
$\leq$	Menor ou igual que
g	Gramas
pH	Potencial de Hidrogênio Iônico
L	Litros
cm	Centímetros
m	Metros

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	REVISÃO DA LITERATURA	14
1.1	Metabolismo Vegetal	14
1.2.	Óleos essenciais	16
1.2.1	<u>Funções ecológicas e fatores de variabilidade</u>	23
1.3	Quimiodiversidade e plasticidade fenotípica química	26
1.4	Família Piperaceae	31
1.4.1	<u>Piper richardiifolium Kunth</u>	35
2	OBJETIVOS	39
2.1	Objetivo Geral	39
2.2	Objetivo Específico	39
3	MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1	Coleta do Material Vegetal	40
3.2	Análises da Composição do Solo e Dados Macro e Microclimáticos	43
3.3	Extração Dos Óleos Essenciais	46
3.4	Análise Das Composições Químicas Dos Óleos Essenciais	47
3.4.1	<u>Identificação Estrutural</u>	47
3.4.2	<u>Quantificação Das Substâncias</u>	47
3.5	Processamento de Dados	48
3.5.1	<u>Cálculo Dos Índices De Quimiodiversidade α</u>	48
3.5.2	<u>Cálculo Dos Índices De Quimiodiversidade β</u>	48
3.5.3	<u>Índices Micromoleculares</u>	49
3.5.3.1	Cálculo do Índice de Ramos & Moreira.....	49
3.5.3.2	Coeficiente de Diversificação de Esqueleto.....	49
4.	RESULTADOS	52
4.1	Composição química e rendimento dos óleos essenciais de folhas de Piper richardiifolium (PR) coletadas em Teresópolis/RJ (PARNASO) em diferentes elevações	52
4.2	Índices de Quimiodiversidade e Tendências Micromoleculares	68

4.2.1	<u>Índices de Quimiodiversidade α</u>	70
4.2.2	<u>Índices de Quimiodiversidade β</u>	71
4.2.3	<u>Tendências Micromoleculares</u>	79
4.2.3.1	Índice de Ramos & Moreira.....	81
4.2.3.2	Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (C_{DE})	88
5	DISCUSSÃO	89
	CONCLUSÃO	101
	REFERÊNCIAS	103

INTRODUÇÃO

A concepção de que as plantas detêm elevado dinamismo químico como resposta a fatores intra e interespecíficos constitui o alicerce dos estudos quimiofenéticos (indivíduo) e de quimiodiversidade (população). As distintas expressões fenotípicas químicas que indivíduos de uma mesma espécie podem desempenhar frente a fatores ilicitantes oferece uma compreensão não-hegemônica no entendimento das relações ecológicas a níveis individuais e populacionais que implicam no processo evolutivo das espécies. (PURVIS & HECTOR, 2000; KESSLER & KALSKE, 2018; ALONSO *et al.*, 2019)

A compreensão da quimiodiversidade de unidades taxonômicas implica a necessidade fundamental de um conceito multidimensional que é a tentativa do entendimento da diversidade por meio de dados numéricos. O processo de caracterização da quimiodiversidade exige um complemento de análises que, fracionadas não são capazes de fornecer respostas satisfatórias, mas juntas fazem parte de um todo, sendo necessária a compreensão de como números, uniformidades e diferenças podem fornecer respostas acerca da quimiodiversidade. (SØRENSEN, 1901; JACCARD, 1901; GOUYON *et al.*, 1986; SHANON, 1948; CODY, 1975; PURVIS & HECTOR, 2000; FENG *et al.*, 2021)

A forma mais intuitiva de se analisar a quimiodiversidade é a partir de resultados numéricos, que é referente à riqueza de substâncias presentes em uma determinada mistura, ou seja, quantas substâncias estão presentes desconsiderando sua dominância (*i.e.* concentração). No entanto, espécies podem se distinguir pelo número e pela quantidade de substâncias que expressam, mas possuir desempenho metabólico semelhante. Algumas características fenotípicas são mais importantes que outras para distinguir diferentes táxons. Para isso, medidas de uniformidade (*i.e.* equitabilidade) são cruciais para interconectar as variáveis de diversidade e dominância e estabelecer relações de diversidade entre indivíduos de uma mesma espécie.

Nesta Dissertação, a quimiodiversidade de uma população de *Piper richardiifolium* Kunth (Piperaceae), espécie que ainda não foi estudada dos pontos de vista químico e de atividades biodinâmicas, foi avaliada. Portanto, esse trabalho apresenta pela primeira vez a caracterização das substâncias voláteis da espécie. O desenho desta Dissertação foi pensado para avaliar a diversidade química de indivíduos de uma mesma espécie frente a diferentes fatores ilicitantes.

1. REVISÃO DA LITERATURA

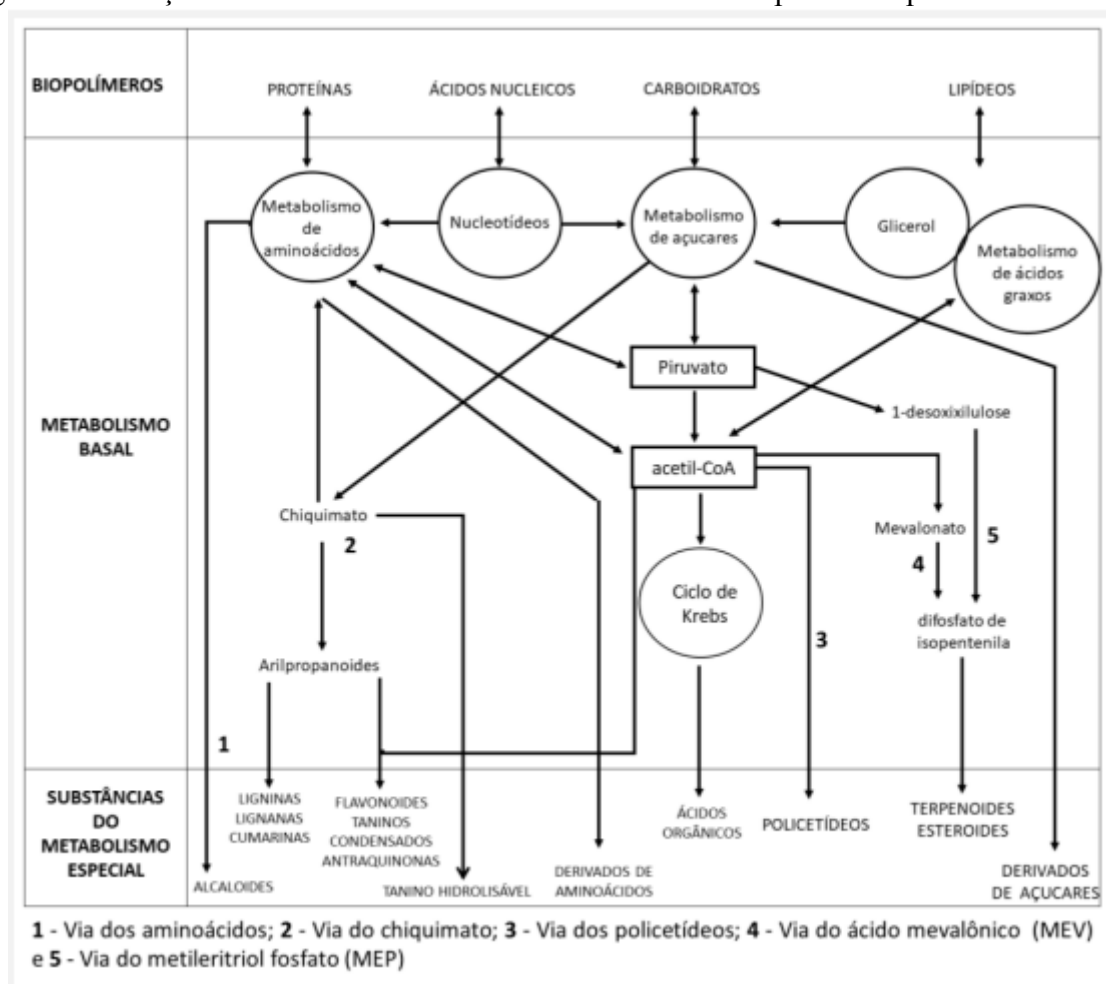
1.1. Metabolismo vegetal

Todo organismo vivo produz substâncias químicas de amplas variedades estruturais que desempenham diferentes funções biológicas. No entanto, as diversas substâncias produzidas por um determinado organismo vivo, como plantas, podem não apresentar funções bem definidas, visto que há uma ampla gama de substâncias que podem não apresentar uma atividade direta no desenvolvimento basal desses organismos. Nesta perspectiva, a complexa mistura de substâncias originadas a partir do conjunto de reações químicas de rotas biossintéticas provenientes do metabolismo de espécies vegetais pode garantir possíveis vantagens evolutivas para as espécies (GOTTLIEB *et al.*, 1992).

Devido às diferentes funções que as substâncias sintetizadas por organismos podem apresentar, diversos autores separam o metabolismo vegetal em duas classificações: metabolismo basal (metabolismo primário) e metabolismo especial (metabolismo secundário). O metabolismo basal compreende, em geral, as macromoléculas de distribuição ubiquitária que correspondem ao metabolismo energético e estrutural, sendo necessárias para o desenvolvimento dos organismos, tais como polissacarídeos, nucleotídeos, proteínas e lignina. O metabolismo especial compreende as micromoléculas que não desempenham função direta no desenvolvimento do organismo e são provenientes de rotas biossintéticas restritas, na maioria das vezes, à *taxa* específicos (SIMÕES *et al.*, 2017).

Apesar da classificação dicotômica do metabolismo vegetal, diversas substâncias são originadas a partir de um metabolismo anfibólico, ou seja, a partir de uma interrelação biossintética entre os metabolismos basal e especial (FIGURA 1). A produção de diversas substâncias no metabolismo vegetal depende da presença e/ou ausência de um determinado substrato, muitas vezes mediado por catalisadores enzimáticos, que visa a homeostase metabólica do organismo em questão. Um exemplo do anfibolismo pode ser observado no metabolismo dos carboidratos, que confere substratos essenciais para a produção de energia para as células vegetais por meio do ciclo de Krebs, mas que também pode contribuir com a biossíntese de diversas classes de metabólitos especiais ao serem convertidos em ácido chiquímico, piruvato e/ou acetil Coenzima A (CoA).

Figura 1 – Relações biossintéticas entre metabolismo basal e especial em plantas.



Fonte: Simões *et al.*, 2017, f.153.

Diversas classes químicas são registradas no metabolismo especial de plantas que, apesar de não apresentarem função direta na manutenção da vida e reprodução do organismo, dispõe de funcionalidade interativa com o ecossistema, provendo defesas que, se ausentes, poderiam significar a extinção do organismo. Por exemplo, componentes fenólicos em vegetais, como taninos, possuem funcionalidade reconhecida em inibição de herbívoros por conferirem impalatabilidade aos tecidos vegetais (VOLZ & CLAUSEN, 2001; MONTEIRO *et al.*, 2005); e alcaloides glicosilados encontrados em espécies do gênero *Solanum* L. (Solanaceae) podem desempenhar efeitos alelopáticos que suprimem o crescimento de sementes de outras espécies. (FUKUHARA & KUBO, 1991; YE *et al.*, 2001; ALVES *et al.*, 2003).

Os substratos (matéria-prima) presentes no metabolismo vegetal são recursos racionáveis a serem destinados para rotas biossintéticas distintas, a fim de garantir a manutenção da vida, reprodução e relações interespecíficas com o ecossistema. Dessa forma, quanto maior a

variedade química produzida com menor gasto energético, maior será a capacidade de sobrevivência de uma espécie em um determinado ecossistema.

1.2. Óleos essenciais

Óleos essenciais (OE) são misturas complexas que, de acordo com a *International Organization For Standardization* (ISO nº 9235 de 2013), são produtos obtidos de matérias-primas naturais de origem vegetal, por destilação por arraste com vapor d'água ou por processos mecânicos como espremedura dos pericarpos de frutos cítricos. Também são denominados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, devido às suas propriedades físico-químicas, caracterizando-se, principalmente, por serem líquidos odoríferos voláteis de aparência oleosa à temperatura ambiente.

Há diversas estruturas secretoras especializadas, tais como tricomas glandulares, células idioblásticas e células oleíferas, sendo que a produção dos OE e a formação da estrutura secretora estão estritamente conectadas (GOTTLIEB & SALANTINO 1987; GERSHENZON, 1994). Os OE podem ocorrer em qualquer estrutura vegetal, mas sua biossíntese e alocação são realizados em estruturas especializadas, como células parenquimáticas diferenciadas e canais oleíferos (BAKKALI *et al.*, 2008; PRINS *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2017).

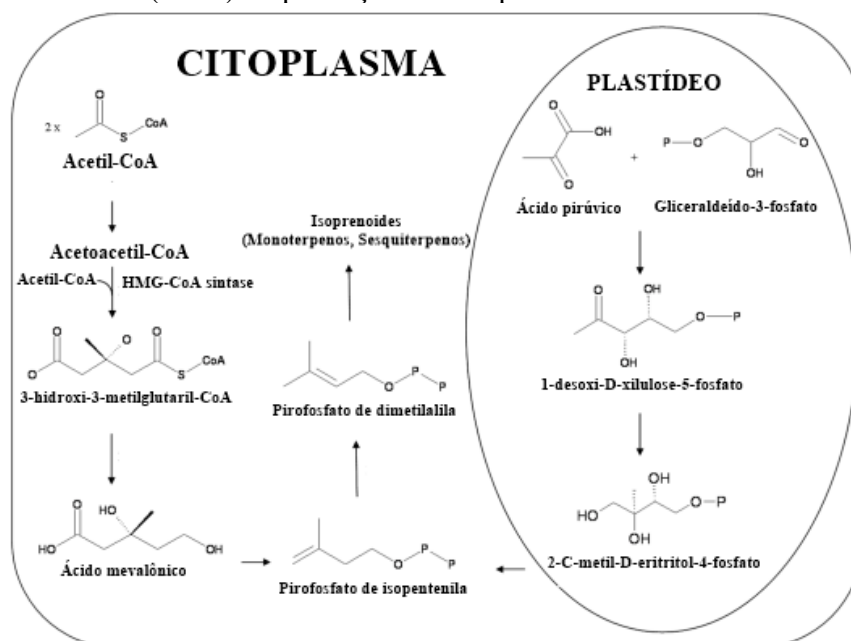
Apesar de diversas espécies apresentarem essa classe de metabólitos especiais, os OE são raros em gimnospermas e angiospermas monocotiledôneas, no entanto, angiospermas dicotiledôneas como espécies das famílias Piperaceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Lauraceae são abundantes nessas misturas (SIMÕES *et al.*, 2017). Na perspectiva de distribuição dessa classe de substâncias no Reino Vegetal, a quimiotaxonomia vegetal desempenha importante papel no delineamento de padrões moleculares para inferir similaridades ancestrais referentes a evoluções convergentes.

O uso de substâncias aromáticas, como os OE, é milenar. Os egípcios utilizavam de técnicas como maceração com óleos e gorduras para capturar fragrâncias, fazendo com que os perfumes na época fossem sólidos (BURGER *et al.*, 2019). Somente em 1563, quando Giovanni Battista della Porta escreveu seu livro “*De Destillatione libri I*” que os conhecimentos acerca da obtenção dos OE puros foram difundidos e foi possível extrair substâncias aromáticas sem a necessidade de utilização de solventes (BURGER *et al.*, 2019).

Com o avanço tecnológico que possibilitou a obtenção, identificação e caracterização dessas misturas complexas, o interesse em pesquisar OE começou a aumentar gradativamente. O farmacêutico Theodor Peckolt que chegou ao Brasil em 1847, estudou e publicou mais de 100 trabalhos sobre rendimentos e composição de OE (PINTO *et al.*, 2002; BIZZO *et al.*, 2009). A formação do Instituto de Química Agrícola no Rio de Janeiro em 1934 foi muito importante para o avanço dos estudos de fitoquímica no Brasil, principalmente na década de 50, pela participação do grupo dos professores Walter Baptist Mors, Otto Richard Gottlieb, Benjamin Gilbert e Mauro Taveira Magalhães, que futuramente vieram a se tornar os orientadores de diversos líderes de grupos de pesquisa em produtos naturais no país, inclusive aqueles que se dedicaram ao estudo de OE (BIZZO *et al.*, 2009).

Entre as substâncias presentes em OE, podem ser encontrados ampla variedade de grupos funcionais, tais como álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e substâncias com enxofre (SIMÕES *et al.*, 2017). No entanto, em sua grande maioria, os OE são formados majoritariamente pela presença de terpenos, sendo os mais simples oriundos de duas unidades isoprênicas, o pirofosfato de isopentenila (IPP) e pirofosfato de dimetilalila (DMAPP). O IPP é formado por duas vias distintas que cooperam entre si na biossíntese dos terpenoides, sendo essas a via do ácido mevalônico (MEV) e a via do fosfato de metileritritol (MEP) (FIGURA 2). A via do MEV se inicia com a condensação da Acetil-CoA, proveniente do metabolismo de lipídeos e carboidratos no citoplasma. A via do MEP é compartimentada nos plastídeos, que se inicia com o piruvato (oriundo da glicólise), que junto com o gliceraldeído-3-fosfato gera o IPP. O IPP é convertido a DMAPP pela ação enzimática de isomerases no citoplasma (SHARIF-RAD *et al.*, 2017).

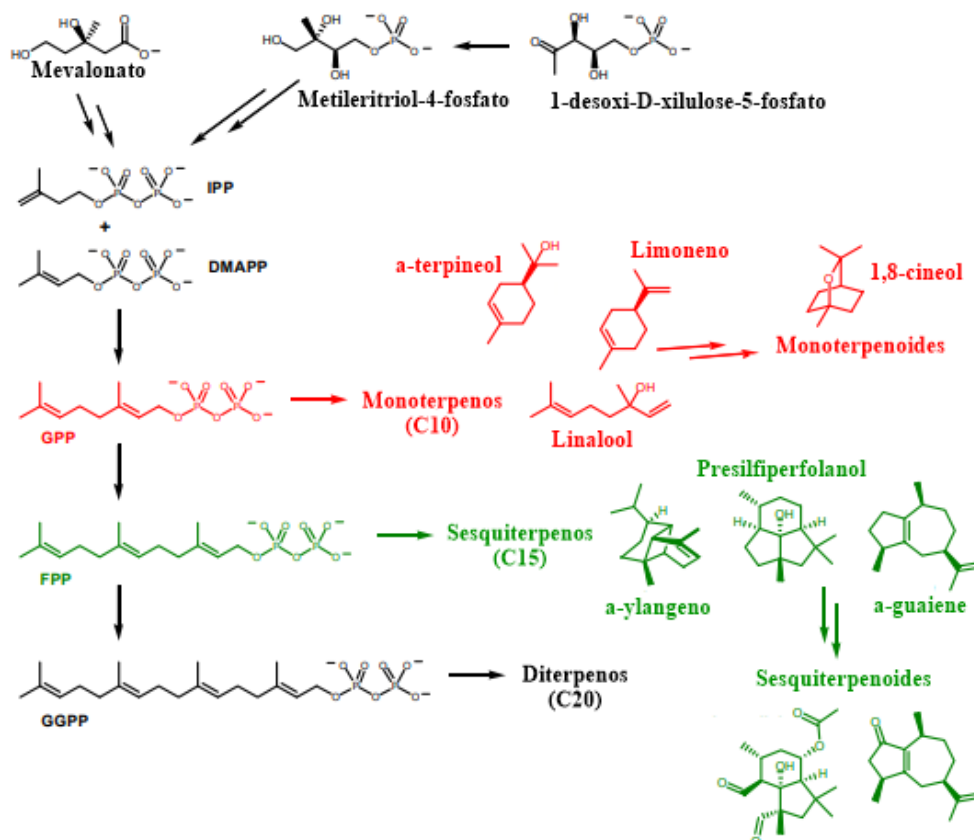
Figura 2 – Esquema biossintético da via do ácido mevalônico (MEV) e da via do fosfato de metileritritol (MEP) na produção dos isoprenoides.



Fonte: Adaptado de Sharifi-Rad *et al.*, 2017.

Quando ambos os precursores são ativados, ocorre a sua condensação originando hidrocarbonetos acíclicos que podem sofrer ciclizações intramoleculares a partir de diferentes pré-requisitos espaciais e estereoquímicos. Devido às características espaciais e químicas das unidades isoprênicas, a condensação desses precursores pode ocorrer em duas ou mais unidades, gerando uma subdivisão de diferentes classes de terpenoides formados nesta rota biossintética que, em sua maioria, serão múltiplos de cinco. Entre os terpenoides mais abundantes em OE, os monoterpenos são constituídos por duas unidades isoprênicas (C10), os sesquiterpenos por três unidades isoprênicas (C15) e os diterpenos (mais raros em OE) por quatro unidades isoprênicas (C20). Na etapa de condensação dos precursores isoprênicos, o DMAPP pode se condensar com uma unidade de IPP, formando o pirofosfato de geranila (GPP), precursor dos monoterpenoides, ou pode se condensar com duas unidades de IPP, gerando o pirofosfato de farnesila, precursor dos sesquiterpenoides (FIGURA 3). Sugere-se que a rota do MEP domina a produção de terpenoides, no entanto, a produção de sesquiterpenos ocorre majoritariamente pela via do MEV, pois as enzimas necessárias para a síntese de sesquiterpenos são citosólicas. (XIE *et al.*, 2008; WEDLER *et al.*, 2015; SHARIF-RAD *et al.*, 2017)

Figura 3 – Esquema biossintético de formação de monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos.



Fonte: adaptado de Wedler *et al.*, 2015.

Legenda: VERMELHO – Monoterpenos; VERDE – Sesquiterpenos

Os monoterpenos são muito voláteis e podem se apresentar como hidrocarbonetos ou substâncias oxigenadas, com distintas funções químicas, tais como álcoois, aldeídos epóxidos e cetonas. Em comparação aos monoterpenos, os sesquiterpenos são menos voláteis por apresentarem mais uma unidade isoprênica em sua estrutura molecular. Todavia, assim como os monoterpenos, podem apresentar grupos funcionais distintos oxigenados, entretanto, sua capacidade de diversificação isomérica ultrapassa a dos monoterpenos. As características estruturais dos terpenoides é mediada por reações específicas, que são catalizadas por enzimas denominadas terpeno sintases (KARUNANITHI & ZERBE, 2019).

A biossíntese de terpenoides depende de substratos provenientes da interação entre diferentes rotas biossintéticas, adjunto à biossíntese de enzimas catalisadoras específicas que modulam alterações estruturais e diversificam esqueletos terpênicos. No entanto, a diversidade de esqueletos terpênicos surge não apenas da quantidade de terpeno sintases, mas também da capacidade dessas enzimas mediarem diversos produtos a partir de um único substrato (DEGENHARDT *et al.*, 2009; BAR-EVEN *et al.* 2011; TEIXEIRA & MILAGRE,

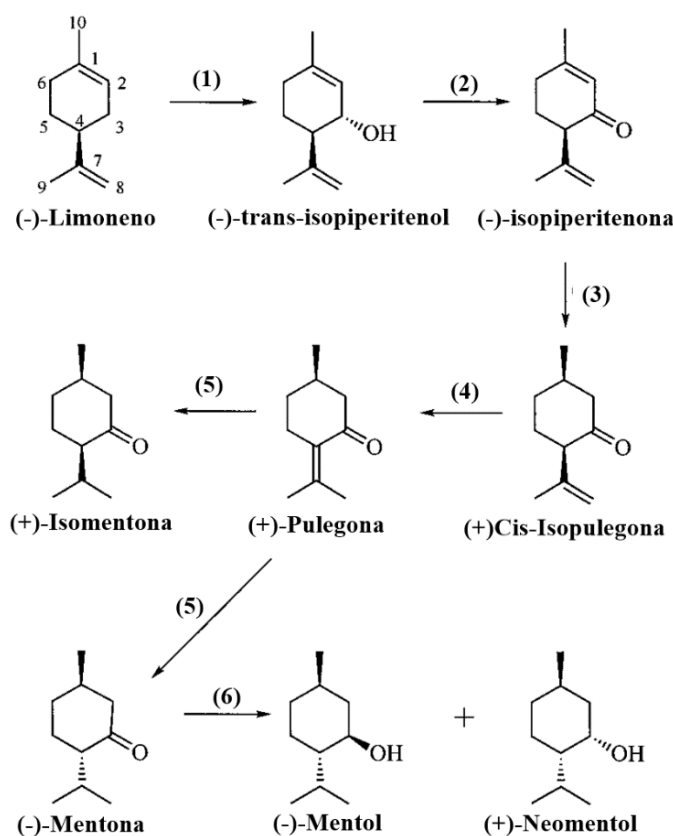
2020). Por exemplo, em estudo realizado por WISE *et al.*, (1998), a clonagem da enzima (+)-sabineno sintetase de *Salvia officinalis* L. demonstrou, *in vitro*, uma produção de 63% de (+)-sabineno, 21% de γ -terpineno, 7% de terpinoleno, 6,5% de limoneno e 2,5% de mirceno.

Apesar das reações catalisadas por enzimas serem bem conhecidas na literatura, pouco se sabe sobre as relações de estrutura-atividade de terpeno sintases nas rotas biossintéticas. Terpeno sintases com alta capacidade de diversificação estrutural a partir de um mesmo substrato podem ser consideradas como uma vantagem evolutiva para a manutenção de um organismo em um determinado nicho. No entanto, a capacidade de um mesmo substrato de interagir com diferentes sítios ativos de diferentes terpenos sintase é um fator que deve ser considerado no racionamento de substrato vs. rota biossintética e que permite uma maior diversificação a partir de menor gasto energético e de matéria-prima.

A disposição de matéria-prima (substrato) e a presença de terpeno sintases específicas para catalisar a síntese de produtos específicos depende da característica intrínseca do código genético do organismo. Como exemplo, a biossíntese de (-)-mentona em *Mentha x piperita* L. (hortelã-pimenta) é mediada pela presença do substrato (+)-pulegona na presença da enzima pulegona redutase, que também é media catalisa a reação desse mesmo substrato em outro produto. (Figura 4).

Os produtos oriundos de terpeno sintases podem sofrer diversas reações químicas, como oxidações, reduções, isomerização e conjugação, conferindo propriedades estereoquímicas e variantes metabólicas em uma mesma via biossintética. Durante o processo biossintético dos esqueletos terpenoides ocorre a formação de esqueletos catiônicos que por efeito mesomérico se estabilizam a partir de rearranjos biossintéticos. (KESSELMEIER & STAUDT, 1999; SANGWAN *et al.*, 2001; PRINS *et al.*, 2010). Por exemplo, a formação de 1,8-cineol também é mediada pela formação do cátion terpinila pela ciclização interna no oxigênio alcólico do α -terpineol, um intermediário oxigenado (WISE *et al.*, 1998; CHEN *et al.*, 2004). Todavia, enzimas também podem mediar rearranjos específicos em terpenoides, como é o caso da perda do próton no cátion terpinila que gera o limoneno, ou pela mediação de rearranjo de hidretos que gera estruturas isoméricas de terpineno ou produtos derivados do felandreno (LAFEVER & CROTEAU, 1993; BOHLMANN *et al.*, 1997; BOHLMANN *et al.*, 1999; SHIMADA *et al.*, 2004; BYUN MCKAY *et al.*, 2006).

Figura 4 – Principal rota biossintética para a produção de monoterpenos em hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L.).



Legenda: (1) Citocromo P450 limoneno-3-hidroxilase; (2) trans-isopiperitenol desidrogenase; (3) isopiperitenona redutase; (4) cis-isopulegona isomerase; (5) pulegona redutase; (6) mentona redutase.

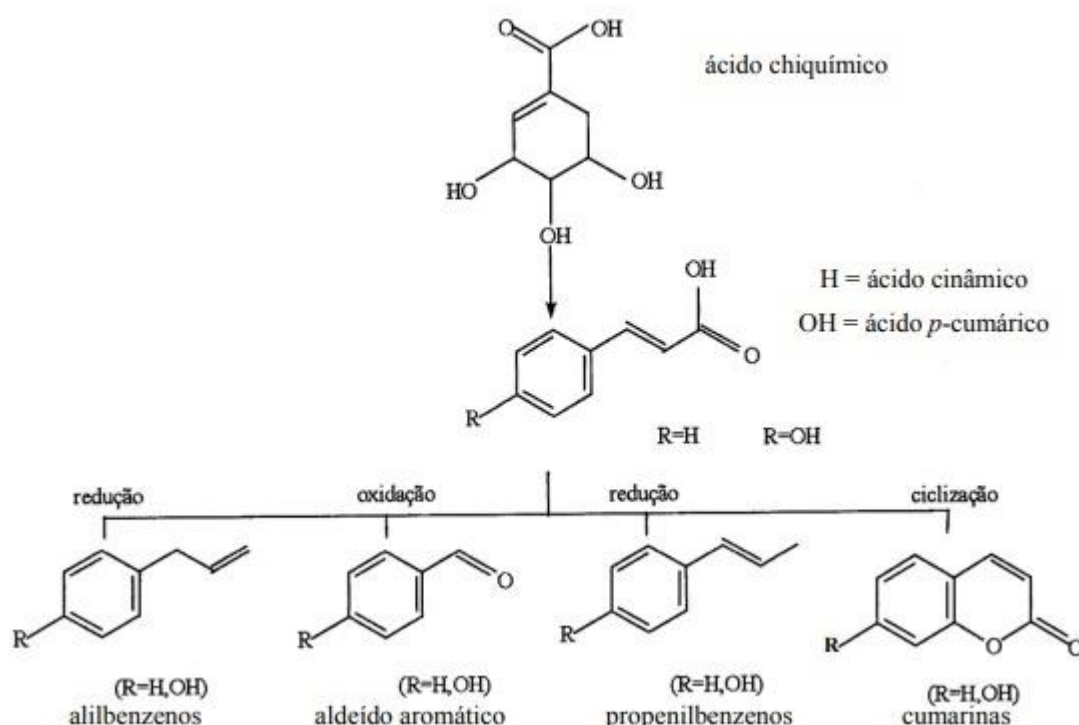
Fonte: adaptado de Turner & Gershenzon, 2000.

Tais diversificações presentes no metabolismo vegetal fornecem valiosas informações para investigações quimiotaxonômicas para estabelecimento de relações filogenéticas, visto que a capacidade de diversificação química de um organismo é inerente aos possíveis níveis de manifestação do genótipo do mesmo (GOTTLIEB, 1922; PEREIRA *et al.*, 2011).

Outra classe de importância quimiotaxonômica e abundante em OE são os arilpropanoides, produtos originados da rota do chiquimato, que se origina do metabolismo de diferentes aminoácidos como a *L*-fenilalanina e *L*-tirosina. Quando esses metabólitos ocorrem em OE, devido às suas propriedades, eles significativamente alteram diversas características organolépticas, sendo o eugenol, dilapiol, apiol, metil cinamato e miristicina, exemplos de arilpropanoides de elevada ocorrência e importância comercial (SANGWAN *et al.*, 2001). O ácido cinâmico e o ácido *p*-cumárico são os precursores biossintéticos dos

arilpropanoides, sendo originários da desaminação enzimática de aminoácidos, como é o caso da desaminação da *L*-fenilalanina catalisada pela *L*-fenilalanina amônia-liase (PAL). Diversos grupos funcionais podem estar presentes nessa classe de metabólitos a depender das reações químicas que ocorrem nesses precursores (Figura 5).

Figura 5 – Esquema da biossíntese de arilpropanoides e possíveis grupos funcionais presentes a partir de reações químicas distintas.



Fonte: adaptado de Simões *et al.*, 2017

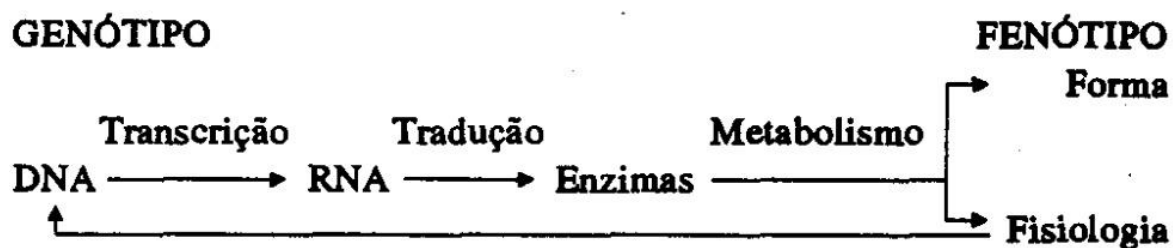
A vasta complexidade metabólica, incluindo OE, de um organismo depende das distintas relações intra e interespecíficas que ele é capaz de realizar, visto que o fenótipo químico de um vegetal é resultado da cinesia fisiológica de sua manifestação genotípica. Contudo, a “química adaptativa” proveniente da co-evolução e convivência com a biota associada, precedem os pilares da química ecológica que propiciam a homeostase ecossistêmica dos organismos agregados (KESSLER & KALSKE, 2018).

1.2.1. Funções ecológicas e fatores de variabilidade

A evolução tecnológica permitiu a compreensão de diversos mecanismos moleculares e bioquímicos, que são o núcleo central da diversidade dos metabólitos especiais em plantas. A capacidade biossintética de enzimas produzirem múltiplos produtos a partir de um único substrato, assim como a baixa especificidade de substratos para biossíntese de metabólitos especiais são mecanismos bioquímicos que contribuem para essa diversidade (KOLLNER *et al.*, 2004; PICHERSKY *et al.*, 2006; KESSLER & KALSKE, 2018). No entanto, fatores intrínsecos e extrínsecos ao organismo devem ser considerados em se tratando de diversidade química, visto que a diversificação metabólica também é fruto de informações químicas provenientes de relações ecossistêmicas (KESSLER & KALSKE, 2018).

Fatores extrínsecos podem afetar a diversidade de substâncias de uma planta por indução de processos bioquímicos por meio da expressão gênica, permitindo que plantas superem as adversidades ambientais por meio de adaptações oriundas de interações antagonistas e/ou mutualísticas intermediadas por unidades informativas (metabólitos) (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; KESSLER & HALISHKE, 2009; DUDAREVA *et al.*, 2013; KESSLER & KALSKE, 2018). Para Gottlieb (1992), os níveis de manifestação do genótipo (Figura 6) mostram o caminho biossintético dos genes às suas complexas manifestações macro- e micromoleculares, que contribuem para a definição molecular de vida de um organismo e que transcreve sua dinâmica ecológica em uma perspectiva evolutiva.

Figura 6 – Níveis de manifestação do genótipo.



Fonte: GOTTLIEB, 1992.

De fato, os metabólitos especiais representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001). Ainda, a produção de determinados metabólitos especiais tende a ocorrer em tecidos específicos e sob diferentes condições temporais, tais como período de desenvolvimento e se a espécie se encontra em fase reprodutiva ou não (DEWICK, 2002; KESSLER & HALITSCHKE, 2009; ABBAS *et al.*, 2017). Nessa perspectiva adaptativa, os OE compreendem interessante função mediadora de adaptações

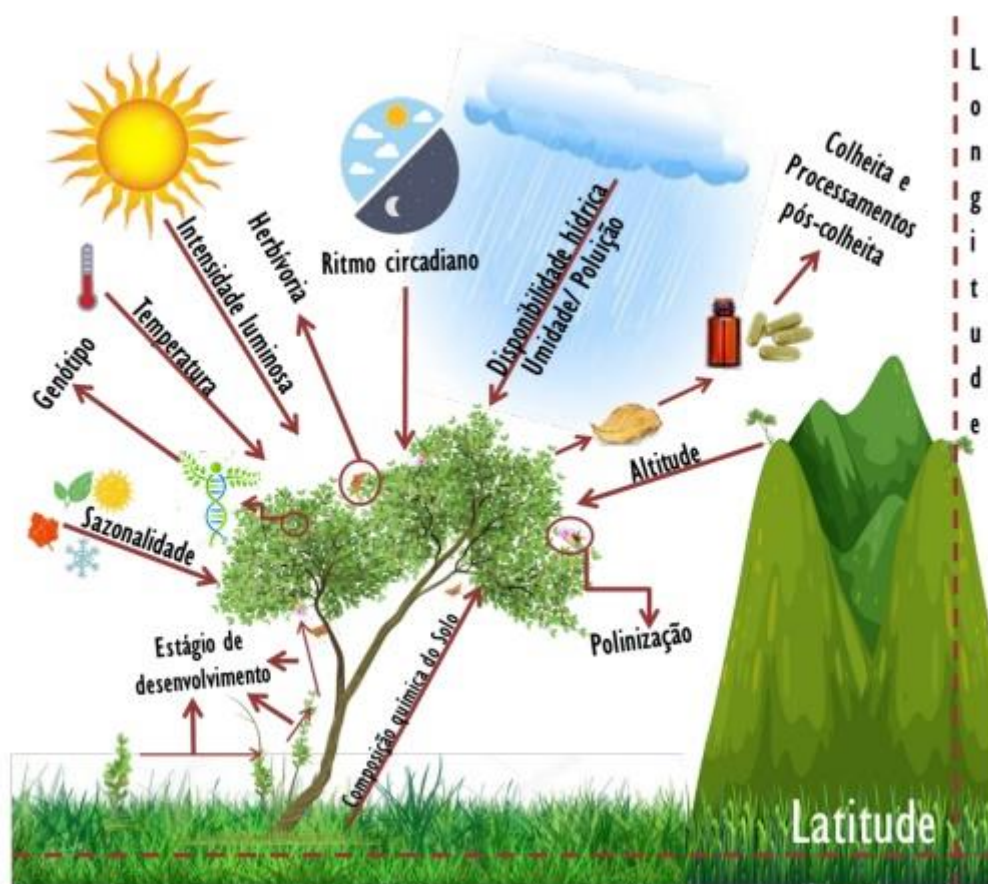
químicas, visto que influenciam na comunicação química intra e inter-específica. (KESSLER & BALDWIN, 2002; GOBBO-NETO & LOPES, 2007; MORAIS, 2009)

As substâncias voláteis de plantas desempenham importante função ecológica em virtude da capacidade de intermediar diferentes dinâmicas de comunicação inter-espacial (KESSLER & KALSKE, 2018). Organismos que interagem com plantas podem usar diversos metabólitos especiais para identificar alvos apropriados, podendo essa interação ser mutualística ou antagonista às necessidades homeostáticas (BRUCE & PICKET, 2011; KESSLER & KALSKE, 2018).

Em meio à complexa rede biossintética disposta por plantas, para melhor compreensão, é possível separar os fatores que influenciam a biossíntese de OE em fatores bióticos, abióticos e genéticos, sendo que esses fatores atuam de maneira interligada e não dissociada (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; GOTTLIEB *et al.*, 2012; RAMOS *et al.*, 2020). Os fatores bióticos e genéticos envolvem variáveis intrínsecas à planta, tendo como variáveis bióticas, o estágio de desenvolvimento, tecido específico e período fenológico da planta; pressões de herbivoria, variáveis genéticas, as alterações epigenéticas, transcrição gênica de enzimas específicas e relação de transcrição de sítios gênicos ativos e inativos, tais como *exons* e *íntrons* (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; FIGUEIREDO *et al.*, 2008; ABBAS *et al.*, 2017; RAMOS *et al.*, 2020).

Enquanto os fatores bióticos e genéticos são intrínsecos às características ontogenéticas do organismo, os fatores abióticos refletem os fatores extrínsecos que, na natureza, são variáveis imprevisíveis e fora de controle exclusivo do organismo em questão. Entre essas variáveis que alteram a composição química de OE, incluem-se: sazonalidade; composição de macro e micronutrientes do solo; latitude e longitude; ritmo circadiano; radiação ultravioleta (UV); disponibilidade hídrica e presença de herbivoria, parasitas e patógenos microbiológicos (MAFFEI *et al.*, 1999; VALLADARES *et al.*, 2002; CLOSE *et al.*, 2003; BANCHIO *et al.*, 2005; RAGAGNIN *et al.* 2014; QUEIROZ *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2018; KHALIL *et al.*, 2020; RAMOS *et al.*, 2020) (Figura 7).

Figura 7 – Fatores bióticos e abióticos que alteram a produção de metabólitos especiais em plantas.



Fonte: RAMOS *et al.*, 2021.

A diversidade química oriunda das diversas relações intra e interespecíficas é fruto de uma complexa relação biossintética entre esses fatores que, quando agregados, permitem uma vasta compreensão de aspectos evolutivos e ecológicos. Todavia, apesar da interface química demonstrada pela planta ser fruto da soma dos fatores bióticos, abióticos e genéticos, diversos estudos inferem alterações químicas específicas frente à abrupta mudança de padrões ambientais (MAFFEI *et al.*, 1999; VALLADARES *et al.*, 2002; CLOSE *et al.*, 2003; BANCHIO *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2018; KHALIL *et al.*, 2020; RAMOS *et al.* 2020).

A capacidade de diversificação química de uma planta frente a pressões ambientais infere ao organismo em questão características de um organismo com elevada vantagem evolutiva, visto que a diversificação química de metabólitos especiais aumenta o arsenal micromolecular que o organismo utiliza para mediar essas interações (KESSLER & BALDWIN, 2002). Tais diversificações ocorrem em medidas específicas do espaço-tempo,

contemplando a cinestesia química que um organismo deve perpassar para se perpetuar em ecossistemas de complexidades distintas.

Tendo como protótipo de espaço-tempo na escala evolutiva, a própria alteração na composição dos elementos atmosféricos no decorrer do tempo geológico do planeta Terra representou, possivelmente, uma importante mudança de paradigma na biossíntese de metabólitos especiais em plantas. A teoria REDOX de GOTTLIEB (1992) propôs as diferentes adaptações que plantas tiveram de ter para assimilação de elementos oxigenados em processos antagônicos dinâmicos visando a homeostase metabólica.

Em seus trabalhos, Gottlieb (1992) também menciona a co-evolução e convivência com a biota associada, principalmente herbívoros e predadores, como uma possível razão para essa necessidade químico-adaptativo. A Teoria da Defesa Ótima (TDO) contempla a alocação majoritária de recursos energéticos na produção de substâncias que desempenhem a função de proteção contra o predador alvo (PENNING *et al.*, 2001). Frente à necessidade de robusta racionalização de recursos que uma planta deve realizar para atingir sua homeostasia ecossistêmica, a TDO infere uma lógica adaptativa de priorização de uma determinada via biossintética em detrimento de outra, objetivando sua manutenção de vida frente à elevada pressão de herbivoria.

No entanto, frente à tantos fatores de variabilidade, Gottlieb (1992) indaga se a diversificação de metabólitos especiais em razão dessas interações ecológicas é, de fato, adaptativa ou se são fruto de uma bioatividade accidental. Não obstante, a lógica Darwinista pode se aplicar a esses organismos, não em virtude de plantas serem capazes de induzir a biossíntese de substâncias específicas e predeterminados, mas sim pela indução inespecífica de uma substância que, de maneira accidental e espontânea, desempenhou a expressão ecológica desejada. Tal indução inespecífica e conveniente seria uma resposta específica de um nível de manifestação genotípica denominada fenótipo, que pode ser uma característica herdável, ou não. (GUO *et al.*, 2008; WOLFFENBÜTTEL, 2016; HASHEMI *et al.*, 2018).

1.3. Quimiodiversidade e plasticidade fenotípica química

As alterações químicas provenientes da dinâmica entre os fatores intrínsecos e extrínsecos de uma planta representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, que pode ocorrer entre diferentes gerações levando à microevolução em escalas temporais relevantes para as interações ecológicas (AGRAWAL *et al.*, 2012, KESSLER &

KALSKE, 2018). Na perspectiva de interação ecológica, substâncias voláteis representam importantes fontes de informação química em um ambiente, havendo o reconhecimento da química floral como um dos maiores mediadores entre espécies por meio da seleção criteriosa de agentes biológicos interativos (SCHIELSTL, 2010; ADLER *et al.*, 2012; KESSLER & KALSKE, 2018; MACHADO *et al.*, 2021).

Os OE são misturas que possuem classes de substâncias com o maior número em diversidade estrutural, sendo, então, importantes para os estudos sobre variações químicas em plantas e de contribuições para o entendimento da quimiodiversidade (RAMOS *et al.*, 2018). Essa *diversidade interativa* concebe uma *diversidade comunicativa* mutualística e antagonista como consequência do potencial de diversificação estrutural de terpenoides, principalmente quando associados, visto que a atividade sinérgica entre substâncias é uma hipótese adequada de ser aplicada em OE, que são misturas que podem apresentar mais de 200 substâncias (BERENBAUM & ZANGERL, 1991; SIMÕES *et al.*, 2017).

Os polimorfismos químicos em OE são interfaces metabólicas oriundas de variações intra e inter-específicas que necessitam ser segmentadas a depender do caminho que o organismo utiliza para manifestação de um fenótipo. Tais segmentações são importantes para compreender e mensurar os mecanismos pelos quais as expressões fenotípicas são manifestadas a partir do genótipo frente às adversidades ambientais. (GUO *et al.*, 2008; RAMOS *et al.*, 2018)

Conceitualmente, pode-se separar esses polimorfismos em três classificações: *quimiotipo*, *ecotipo* e *geotipo*. As variações intra-específicas contínuas expressas na alteração da substância química majoritária do OE de uma espécie, com pouco e/ou nenhuma alteração morfológica e grande mudança no fenótipo químico corresponde a um quimiotipo (RAMOS *et al.*, 2018). As alterações químicas provenientes de alterações genéticas com mudanças morfológicas significativas correspondem aos ecotipos e os geotipos correspondem às alterações químicas derivadas exclusivamente das pressões induzidas pelos fatores bióticos e abióticos. (RAMOS, *et al.*, 2018).

Além dessas alterações químicas não poderem inviabilizar o cruzamento com outro membro da mesma espécie, a classificação desses polimorfismos deve atender à requisitos específicos:

- *Quimiotipo* – Expressão fenotípica química diferente quando os espécimes são cultivados em ambientes iguais. Deve haver alta correspondência gênica entre espécimes analisadas para inferir plasticidade fenotípica química, sendo essa

característica plástica possível de ser herdada entre gerações (GUO *et al.*, 2008; HASHEMI *et al.*, 2018);

- *Ecotipo* – Expressão fenotípica química e morfoanatômica diferente quando os espécimes são cultivados em ambientes iguais. Deve haver alta correspondência gênica entre espécimes analisadas (GUO *et al.*, 2008; HASHEMI *et al.*, 2018);
- *Geotipo* – Expressão fenotípica química derivada exclusivamente de pressão biótica e abiótica, tendo que possuir resposta fenotípica química e morfológica semelhantes quando os espécimes são cultivados em ambientes iguais. Deve haver alta correspondência gênica entre espécimes analisadas (GUO *et al.*, 2008; HASHEMI *et al.*, 2018).

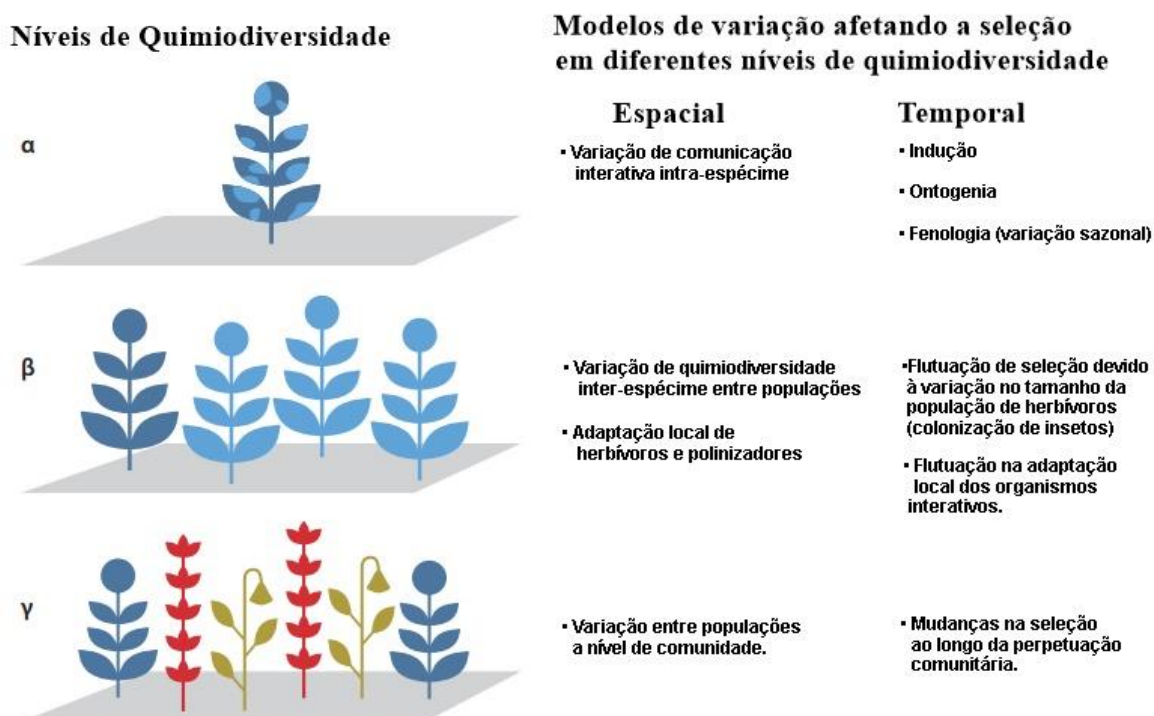
Recentemente, nosso grupo registrou a presença de um *cronotipo* para *Piper gaudichaudianum* Kunth (Piperaceae). Essa constatação foi possível ao analisar a composição química volátil das folhas ao longo de 24h nos períodos seco e chuvoso. Esse estudo demonstrou nitidamente a formação preferencial de sesquiterpenos acíclicos ou monocíclicos no período do dia, e sesquiterpenos bicíclicos e tricíclicos a noite. Portanto, um cronotipo é definido como uma expressão do fenótipo químico que depende da sincronização dos ritmos circadianos. Esse foi o primeiro registro de um cronotipo para uma espécie de Piperaceae (RAMOS *et al.*, 2021).

A plasticidade fenotípica química em plantas permite a ampla disposição de substâncias bioativas, que conferem aos organismos associados múltiplos canais interativos em diferentes níveis organizacionais. Considerando a produção de metabólitos especiais de plantas como fonte de informação, pode-se dividir o nível de comunicação intra e inter-espécimes em três principais níveis de quimiodiversidade: alfa (α), beta (β) e gama (γ) (KESSLER & KALSKE, 2018). Os diferentes níveis de quimiodiversidade se referem à diferentes níveis de comunidades e a escala espacial-temporal da qual essa informação é reproduzida e sinalizada (FIGURA 8).

- Quimiodiversidade α – correspondente a nível de propriedades bioquímicas de um espécime como um todo ou de um tecido específico do mesmo (MOORE *et al.*, 2014). A complexidade ecológica de comunidades na produção de substâncias multifuncionais são os pilares da quimiodiversidade α , que podem proporcionar interações positivas ou negativas a níveis individuais (MOORE *et al.*, 2014; KESSLER & KALSKE, 2018);

- Quimiodiversidade β – correspondente a diversidade de substâncias químicas entre diferentes indivíduos de uma mesma espécie em uma população delimitada geograficamente (MOORE *et al.*, 2014). A diversidade fenotípica e genotípica de uma população pode aferir a diversidade de metabólitos especiais, representando fontes locais de adaptação entre agentes interativos (KESSLER & KALSKE, 2018);
- Quimiodiversidade γ – Para Kessler & Kalske (2018), a quimiodiversidade γ corresponde a diversidade total de substâncias de todas as populações de plantas em uma comunidade de maneira análoga à diversidade de espécies em um território. Esse conceito diverge do conceito atribuído por Moore *et al.*, (2014), por contemplar a ideia de que alterações químicas em diferentes níveis de diversidade estrutural ocorrem na perspectiva de plantas serem organismos interativos.

Figura 8 – Diferentes níveis de quimiodiversidade em diferentes arranjos populacionais.



Fonte: adaptado de Kessler & Kalske, 2018.

A fim de constatar as variações e diversidade provenientes dos diferentes níveis organizacionais e espaciais, índices de quimiodiversidade podem ser utilizados (RAMOS *et al.*, 2021). Para quimiodiversidade α , pode-se utilizar o índice de Shanon, índice de diversidade de Simpson, índice de uniformidade de Pielou e índice de quimiodiversidade de

Iason (SHANON, 1948; SIMPSON, 1949; PIELOU, 1966; GOUYON *et al.*, 1986; IASON *et al.*, 2005; RAMOS *et al.*, 2021; FENG *et al.*, 2021). Para quimiodiversidade β , utiliza-se o índice de Sørensen, índice de Jaccard e índice de Cody, enquanto para a quimiodiversidade γ pode-se utilizar índices de similaridade química e o índice de Rao (SØRENSEN, 1901; JACCARD, 1901; CODY, 1975; SALAZAR *et al.* 2016; RAMOS *et al.*, 2021). Um recente índice, denominado índice de Ramos & Moreira, visa a predição de estados oxidativos de misturas complexas, como os OE, para avaliar padrões de oxidação em uma escala de tempo e espaço (RAMOS *et al.*, 2021).

Os índices de quimiodiversidade são intrinsecamente embasados na riqueza, abundância, presença ou ausência de substâncias. Primordialmente, os índices de diversidade α e β foram desenvolvidos para mensurarem a riqueza, abundância, ausência e presença de espécies em uma escala espacial (SØRENSEN, 1901; JACCARD, 1901; SHANON, 1948; SIMPSON, 1949; PIELOU, 1966; CODY, 1975; GOUYON *et al.*, 1986; IASON *et al.*, 2005; SALAZAR *et al.*, 2016). Ao adaptar os índices para prospectar quimiodiversidade intra e inter-específica, os mesmos termos se aplicam, mas com fundamentos diferentes:

- Abundância: Quantidade de uma determinada substância em uma mistura complexa, podendo ser referida aos constituintes majoritários e minoritários;
- Diversidade: Quantidade de substâncias diferentes entre si presentes na mistura;
- Riqueza: Quantidade de substâncias presentes na mistura, sendo os espécimes com maior riqueza correspondentes à maior quantidade de substâncias;
- Presença e ausência: Se uma determinada substância ocorre ou não na mistura quando comparada a outra espécime ou espécie.

A níveis individuais, a diversidade química de um espécime depende da magnitude de informação presente em uma região geográfica, consequentemente, quanto mais privada for a espécime de canais comunicativos (outras plantas), menor será a diversidade química (SCHIESTL 2005; MOORE *et al.*, 2014; RICHARDS *et al.*, 2015; KESSLER & KALSKE, 2018). Em estudos realizados por RICHARDS *et al.*, (2015), foi possível observar correlações positivas em espécies de *Piper* spp. entre a diversidade de metabólitos especiais associado à diversidade da comunidade de artrópodes. No entanto, poucos estudos abordam experimentos específicos tendo quimiodiversidade α aplicada em substâncias voláteis como alvo de estudo.

A níveis de população e comunidade, a diversidade química como fonte de informação inter-espécimes pode ser considerada como uma forma de maximizar o “ruído” informativo e evitar padrões químico-informativos usados por organismos predadores, como herbívoros, para alvejar seu alvo (BRUCE & PICKET, 2011). Esse ruído químico gera uma espécie de camuflagem geográfica para a população e/ou comunidade, levando a perspectiva que vantagens evolutivas são atribuídas a níveis organizacionais fora dos níveis individuais. É sugerido que interações químicas mutualísticas como atração de polinizadores são mais prováveis de atuarem em níveis populacionais menores, correspondendo a padrões comunicativos em canais segmentados. Tais comunicações dependem da capacidade sensorial dos organismos de responderem às sinalizações químicas de voláteis, que poderão ter interação direta com a planta emissora ou não representar de qualquer interação com a mesma. A concepção da interação com organismos que não apresentam quaisquer vantagens ou desvantagens para a planta emissora, foge do escopo argumentativo da planta disponibilizar recursos enérgicos apenas em atividades favoráveis para si (BRUCE & PICKET, 2011; KESSLER & KALSKE 2018).

Nessa perspectiva, a possibilidade do organismo beneficiado dispor de vantagem ecossistêmica oriunda do “ruído químico” que gera a camuflagem de populações e comunidades, pode refletir um processo co-evolutivo improvável de ser mensurado pela dificuldade de observação desses organismos associados. Essa lógica irracional na comunicação inter-espécimes concebe a complexa interação que os organismos dispõem na natureza, demonstrando que o processo evolutivo é demasiadamente enigmático.

1.4. Família Piperaceae

A família Piperaceae é pertencente à superordem Nymphaeiflorae e à ordem das Piperales, compreendendo 5 gêneros: *Piper* L., *Peperomia* Ruiz & Pav., *Manekia* Trel., *Verhuellia* Miq. e *Zippelia* Blume, que estão distribuídos em mais de 4.300 espécies, sendo *Piper* L. o gênero mais representativo (DALHGREN, 1989; SAMAIN, *et al.*, 2010; APG IV, 2016; CALLEJAS, 2020). São ervas eretas, epífitas, terrestre, subarbustos, arbustos, arvoretas ou trepadeiras; geralmente aromáticas e dotadas de glândulas translúcidas, com tipo de indumento variado (QUEIROZ *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2022).

As espécies de Piperaceae podem ser facilmente identificadas pelas características das inflorescências em forma de espiga, racemos ou umbela; pelo padrão de folhas alternas e pelo

padrão de nós e entrenós apresentados no caule. De distribuição Pantropical, Piperaceae possui grande representação nas regiões da América Central e do Sul, ocorrendo no México, Panamá, Peru, Costa Rica, Argentina e Brasil (JARAMILLO *et al.*, 2004; WANKE *et al.*, 2006; MARQUES, A.M. *et al.*, 2011; RAMOS *et al.*, 2018; QUEIROZ *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2022).

No Brasil, mais de 459 espécies de Piperaceae podem ser encontradas, tendo as regiões da Amazônia, Mata Atlântica e do Cerrado como regiões de destaque (GUIMARÃES *et al.*, 2020). Diversas espécies de Piperaceae são pioneiras, representando importante função de regeneração e manutenção de diversidade vegetal em matas (ANDRADE *et al.*, 2009). De maneira geral, a família Piperaceae apresenta um grande potencial químico-ecológico, visto que suas espécies possuem elevada quimiodiversidade (MARQUES, A.M. *et al.*, 2011; RAMOS *et al.*, 2018; SALEHI *et al.*, 2019; RAMOS *et al.*, 2020; RAMOS *et al.*, 2021; RAMOS *et al.*, 2022).

A Mata Atlântica é considerada como um dos cinco *hotspots* mais importantes de biodiversidade no mundo. Neste complexo ecossistema estão presentes 15.548 espécies vegetais distribuídas em 216 famílias de angiospermas. Dentre elas, 289 espécies são de Piperaceae que estão distribuídas em três gêneros: *Manekia* Trel. com uma espécie, *Peperomia* Ruiz & Pav. com 130 e *Piper* L. com 157. Estudo recente demonstrou que a taxa de endemismo em *Piper* nesse bioma é o mais alto quando comparado a outros táxons. Levantamentos na literatura descreve que existem baixos níveis de publicações associados à *Piper* da Mata Atlântica (QUIJANO-ABRIL *et al.*, 2006; CHRIST *et al.*, 2018; RAMOS *et al.*, 2020; RAMOS *et al.*, 2021; RAMOS *et al.*, 2022).

Analogamente ao seu potencial ecológico, Piperaceae possui diversos registros científicos que demonstram suas propriedades medicinais e aromáticas. Quimicamente é possível detectar a presença de substâncias como lignanas, neolignanas, flavonoides, amidas, alcaloides, α -pironas, arilpropanoides, derivados de ácido benzoico e terpenos (MOREIRA *et al.*, 2016). Em se tratando de OE, as substâncias que compõe a mistura são monoterpenos e sesquiterpenos (via do acetato mevalonato), C₆-C₃ (arilpropanodes), C₆-C₂, C₆-C₁, e raramente, derivados C₆-C₄ (butilbenzeno, identificado no óleo de *Piper anisum* (Spreng.) Angely.) (MOREIRA *et al.*, 2016).

O gênero *Piper* L. possui representantes em todos os biomas brasileiros (SALEHI *et al.*, 2019; FLORA DO BRASIL, 2020). As espécies apresentam um grande potencial medicinal, como exemplo, pode-se citar as propriedades digestivas e anti-inflamatórias de *Piper nigrum* L. (DAMANHOURI, 2014; SHUKLA *et al.*, 2018); as atividades larvicidas em

Aedes aegypti de *Piper cabralanum* C.DC., *Piper aduncum* L. e *Piper solmsianum* C.D.C (OLIVEIRA *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2014); propriedades ansiolíticas e neuroprotetoras de *Piper methysticum* L.f. (PEDROSA *et al.*, 2020) e diversas outras propriedades descritas na literatura, como atividades leishmanicidas, vasodilatadoras, antitumorais, antioxidantes e antimicrobianas (RAIMUNDO *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2017; SALEHI *et al.*, 2019; MACEDO *et al.*, 2019).

O gênero *Piper* também possui espécies de elevado interesse econômico, como é o caso de *Piper methysticum* G. Frost., popularmente conhecida por kava-kava, rica em cavactonas com propriedades ansiolíticas que são empregadas no tratamento da ansiedade, insônia e depressão. O uso de *P. methysticum* na medicina surgiu a partir de estudos etnobotânicos, em que aborígenes australianos utilizavam essa espécie para promover alterações no estado de consciência e favorecer estados meditativos em práticas ritualísticas (JUSTO & SILVA, 2008; BARBOSA *et al.*, 2013). Outras espécies de interesse medicinal em *Piper* têm registros etnobotânicos e históricos, como *P. umbellatum* L. e *P. aduncum* L. que possuem usos ritualísticos e populares, como as indicações anti-inflamatórias para infusões de *P. umbellatum* e as atividades adstringentes, antiparasitárias e antissépticas de *P. aduncum*. (MANDARINO *et al.*, 2010; POHLIT, 2013; SILVA *et al.*, 2017).

As espécies de *Piper* L. são modelos de estudos ecológicos e evolutivos por apresentarem respostas plásticas distintas frente a diferentes fatores ambientais, além de desempenharem importante papel ecológico na interação com insetos e morcegos frugívoros. (RICHARDS *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2017; SALEHI *et al.*, 2019; RAMOS *et al.*, 2020; MACHADO *et al.*, 2021). Seus OE constituem de elevado potencial biológico, ecológico e econômico, como é inferido em estudos de comunicação química em diferentes espécies de uma população de *Piper* (RICHARDS *et al.*, 2015) e de suas atividades biológicas desempenhadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição majoritária por parte da planta e atividade biológica de óleos essenciais de espécies de *Piper* L de ocorrência no Brasil.

Nomenclatura Botânica	Parte Utilizada	Composição Majoritária	Atividade Biológica	Referências
<i>Piper gaudichaudianum</i>	Folhas	dilapiol	Antifúngica	Schindler, 2015
<i>Piper aduncum</i>	Frutos	β -pineno; <i>E</i> -cariofileno; limoneno; santolitreio	Larvicida	Costa <i>et al.</i> , 2010
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	isoelemecina; apiol; valeneno; δ -guaieno;	Larvicida	Costa <i>et al.</i> , 2010

<i>Piper nigrum</i>	Sementes	<i>E</i> -cariofileno; óxido de cariofileno; sabineno; β -pineno; limoneno	Larvicida	Costa <i>et al.</i> , 2010
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	dilapiol	Praguicida	Volpe <i>et al.</i> , 2018
<i>Piper aduncum</i>	Folhas e Caules	dilapiol	Antibacteriano	Ferreira, 2015
<i>Piper aduncum</i>	Folhas e Caules	dilapiol	Inseticida	Estrela <i>et al.</i> , 2006
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas e Caules	safrol	Inseticida	Estrela <i>et al.</i> , 2006
<i>Piper caldense</i>	Folhas	δ -cadineno; <i>E</i> -cariofileno; germacreno D	Antimicrobiana	Maduro, 2019
<i>Piper solmsianum</i>	Folhas	Biciclogermacreno; germacreno D; α -pineno; δ -cadineno	Antibacteriano	Maduro, 2019
<i>Piper umbellatum</i>	Folhas	γ -muuroleno, biciclogermacreno e <i>E</i> -cariofileno	Antibacteriano	Maduro, 2019
<i>Piper xylosteoides</i>	Folhas	β -felandreno; <i>E</i> -nerolidol; biciclogermacreno; <i>E</i> -cariofileno	Antibacteriano	Maduro, 2019.
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	α -pineno; β -pineno; 1,8-cineol	Larvicida	Oliveira <i>et al.</i> , 2013
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	safrol; α -terpinoleno	Inseticida	Limal <i>et al.</i> , 2009
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	safrol	Praguicida	Zacaronil <i>et al.</i> , 2009
<i>Piper callosum</i>	Folhas	safrol; β -pineno; metileugenol	Praguicida	Souza, 2019.
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	Dilapiol	Larvicida	Figueiredo, 2014.
<i>Piper aleyreanum</i>	Folhas e Caule	β -elemeno; <i>E</i> -cariofileno; <i>cis</i> - β -guaieno	Antiinflamatório	Nascimento, 2018
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	safrol	Inseticida	Mendonça, 2019
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	apiol	Inseticida	Mendonça, 2019
<i>Piper anonifolium</i>	Folhas	closativeno; γ -muuroleno; α -muuroleno	Inseticida	Mendonça, 2019
<i>Piper crassinervium</i>	Folhas	β -elemeno; sabineno; α -pineno; viridiflorol	Inseticida	Mendonça, 2019

Fonte: O autor, 2022.

As atividades biológicas de plantas são muito interessantes na perspectiva de bioprospecção por novas moléculas farmacologicamente ativas para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos. No entanto, a bioprospecção de moléculas ativas necessita de um enfoque interdisciplinar que permita ao observador ter o discernimento da linguagem da natureza, a fim de que se possa entender, participar e interferir no seu funcionamento (GOTTLIEB *et al.*, 1998). Desta forma, o entendimento da natureza e dos fatores de variabilidade micromolecular precedem quaisquer estudos prospectivos por novas substâncias bioativas, visto que a cinética metabólica dos organismos vivos retrata uma química situada em um espaço-tempo específicos não contemplando a vasta fitoquímica que um espécime pode apresentar (RAMOS *et al.*, 2021).

Infelizmente, o uso pleno da linguagem para a compreensão dos processos da vida é impedido pelo abismo que separa Química de Biologia. Apesar da visão destoante entre essas disciplinas, a integração do conhecimento de ambas permite o vislumbre dos mecanismos que plantas utilizam para se perpetuar em ecossistemas, sendo possível visualizar tendências evolutivas e obter uma concepção de seleção natural na perspectiva da racionalização micromolecular (GOTTLIEB *et al.*, 1998). A partir do estudo da plasticidade fenotípica química em indivíduos e populações de *Piper* L. será possível ampliar a compreensão da complexa rede de informações ecológicas e o entendimento para propiciar a busca racional por substâncias bioativas.

1.4.1. *Piper richardiifolium* Kunth

Piper richardiifolium (Figura 9) é uma espécie nativa e endêmica do Brasil, popularmente conhecida como pau-de-junta e pau-de-junta do grado em Santa Catarina, não sendo encontrado outros termos vulgares para a espécie (GUIMARÃES & MONTEIRO, 2005). De ampla distribuição geográfica brasileira, a espécie ocorre nas regiões Norte (Amazonas), Nordeste (Bahia e Piauí), Centro-Oeste (Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e Sul (Paraná e Santa Catarina) (FLORA DO BRASIL, 2022). *P. richardiifolium* pode ser encontrada em florestas ombrófilas densas, tendo seus registros associados a florestas primárias úmidas e sombrias, ocorrendo ainda mais em locais de clareira de mata secundária (GUIMARÃES & MONTEIRO, 2005; FLORA DO BRASIL, 2022).

Figura 9 – Fotografias de *Piper richardiifolium* Kunth situada na Trilha da Pedra do Sino no PARNASO em Teresópolis/ RJ, Brasil.



Fonte: O autor, 2022.

A espécie pertence ao clado *Macrostachys*, que compreende mais de 200 espécies de *Piper* L. neotropicais (JARAMILLO *et al.*, 2008). Diversas espécies desse clado ocorrem no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO), situado em Teresópolis – Rio de Janeiro, apresentando um padrão de folhas de 25cm ou mais, com base fortemente auriculada (GUIMARÃES, E.F. 1994). *P. richardiifolium* apresenta características morfológicas semelhantes a outras espécies pertencentes ao clado *Macrostachys*, e que também ocorrem no PARNASO, em especial as espécies de *Piper truncatum* Vell. e *P. pseudopothifolium* C.DC. (Tabela 2). Essas semelhanças morfológicas podem propiciar identificações taxonômicas errôneas, principalmente em se tratando de espécies com poucos estudos fitoquímicos.

Tabela 2 – Caracteres morfo-anatômicos de *Piper richardiifolium* Kunth, *Piper truncatum* Vell. e *Piper pseudopothifolium* C.DC.

Caracteres		<i>Piper richardiifolium</i>	<i>Piper truncatum</i>	<i>Piper pseudopothifolium</i>
Hábito		Arbusto	Arbusto	Arbusto
Altura		1-3m	1,5-3m	1,5-2,5m
Folhas	-tamanho da lâmina	21-37x7-13cm	19-27x4,4-4,5 cm	18-35x4,5-10cm
	-tamanho do pecíolo	5-7,3cm	3,3-5,4cm	2,5-5cm
				Glabra na face adaxial e
		Glabra ou hirta		densamente vilosa
	-tricomas	nas nervuras da face abaxial	Glabra	nas nervuras abaxiais ou moderadamente hirta
	-ápice	Agudo-acuminado	Acuminado	Acuminado
	-base assimétrica	Cordada-auriculada	Cordada-auriculada	Cordada-arredondada
	-nervação	Eucamptódroma	Broquidódroma	Broquidódroma
	-nervura secundária	6-8	12-13	7 ou mais
Espiga	-forma	Pêndula	Pêndula	Pêndula
	-tamanho	21-25x0,4-0,5cm	18cm	16-18x0,2-0,4cm
	-bractéolas	Triangulares subpeltadas	Triangulares subpeltadas franjadas	Crescentes subpeltadas franjadas
Frutos	-forma	Obovoide	Oblonga	Oblonga
	-lateral	Achatado	Não-achatado	Comprimido
	-tamanho	1,1-1,2mm	1-1,5mm	1-2mm

Fonte: adaptado de MONTEIRO & GUIMARÃES (2009); GUIMARÃES & MONTEIRO (2005); CARVALHO-SILVA *et al.*, (2013); GUIMARÃES, E.F. (1994); QUEIROZ & GUIMARÃES (2020).

A fitoquímica de *P. richardiifolium* é pouco conhecida, havendo até então apenas um estudo fitoquímico que explorou a presença de metabólitos especiais e a atividade

antioxidante e antimicrobiana de seu extrato etanólico (SOUZA *et al.*, 2013). O extrato etanólico dessa planta demonstrou, qualitativamente, a presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides. Os ensaios registraram atividade antioxidante moderada e potente ação antimicrobiana contra as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus saprophyticus* e *S. aureus*.

Nenhum estudo explorou os efeitos dos fatores abióticos sobre os constituintes voláteis presentes nos OE de *P. richardiifolium*, tampouco avaliou a plasticidade fenotípica química da espécie frente às variações intra e inter-específicas, tornando os estudos acerca da composição de voláteis da espécie de grande relevância quimio-ecológica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a composição química de óleos essenciais foliares de uma população de *Piper richardiifolium* do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Teresópolis/ RJ e, assim, verificar a influência de fatores abióticos, em especial a elevação, em aspectos micromoleculares e nas quimiodiversidades α e β .

2.2. Objetivos específicos

- I. Realizar coleta de folhas de espécimes de *P. richardiifolium* em diferentes elevações;
- II. Realizar a extração dos OE para identificação e quantificação das substâncias por Cromatografia com Fase Gasosa (CG) acoplada à Espectometria de Massas (CG-EM) e CG acoplada à Detector por Ionização de Chama (CG-DIC), respectivamente;
- III. Correlacionar estatisticamente as substâncias identificadas com os fatores abióticos;
- IV. Calcular os índices de quimiodiversidade α e β para os OE dos espécimes estudados;
- V. Determinar possíveis padrões micromoleculares nos OE de *P. richardiifolium* em diferentes elevações.
- VI. Validar a aplicação do novo índice ecológico de Coeficiente de Diversificação de Esqueleto.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta do material vegetal

Devido à alta similaridade morfológica das espécies do clado *Macrostachys*, todas as espécies de *Piper* L. que apresentavam as características do clado, como folhas grandes (20cm ou mais) e base auriculada foram coletadas. A fim de garantir a maior variação de elevação possível dos espécimes coletados, a coleta do material foliar se iniciou na sub-sede do PARNASO localizada em Guapimirim e se encerrou na sede do PARNASO de Teresópolis, próxima ao final da trilha da Pedra do Sino, quando não era mais possível constatar a presença de espécimes de *Piper* L. com essas características. Todas as coletas foram realizadas no dia 17 de julho de 2021. As coletas foram feitas com licenças concedidas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), sob o número de autorização 57296-10 e código de autenticação 0572961020210324.

As identificações botânicas foram realizadas pela Dr^a Elsie Franklin Guimarães do Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ) e as amostras coletadas foram herborizadas no herbário da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) com as respectivas localizações e elevação. Após as identificações botânicas dos exemplares coletados, foi possível identificar cinco espécies diferentes de *Piper* L. no trajeto da sede de Guapimirim à trilha da Pedra do Sino: *Piper cernuum* Vell. (PC); *Piper truncatum* Vell. (PT), *Piper richardiifolium* Kunth (PR); *Piper pseudopothifolium* C.DC. (PP) e *Piper obliquum* Ruiz & Pav. (PO) (FIGURA 10).

Figura 10 – Rota utilizada para a coleta dos espécimes de *Piper*.



Fonte: O autor, 2022.

Legenda: Pontos em vermelho: *Piper truncatum* Vell.; Pontos em azul: *Piper cernuum* Vell.; Pontos em amarelo: *Piper obliquum* Ruiz & Pav; Pontos em verde: *Piper richardiifolium* Kunth; Pontos em rosa: *Piper pseudopothifolium* C.DC.

Os dados de identificação das espécies foram agrupados e as espécies que não possuíam no mínimo um número de espécimes igual a três em diferentes elevações foram descartadas por não terem um quantitativo significativo para inferir padrões micromoleculares de correlação. Ao final, apenas *P. richardiifolium* possuía espécimes em diferentes elevações, sendo possível realizar a avaliação do padrão e influência da quimiodiversidade α e β na quimiodiversidade dos OE foliares da espécie foi prosseguido.

Tabela 3 – Dados obtidos da coleta de *Piper richardiifolium* Kunth na trilha da Pedra do Sino na sede de Teresópolis do PARNASO.

Localização	Identificação	Latitude /Longitude	Elevação (m)	Registro no Herbário
Dentro do PARNASO, próximo à saída de veículos.	PR1	-42°59'20.534W -22°26'59.557S	940	HRB13566
Dentro do PARNASO, próximo à saída de veículos.	PR2	-42°59'20.534W -22°26'59.557S	1.027	HRB13565
Estrada dentro do PARNASO.	PR3	-42°58'39.798W -22°25'23.594S	1.080	HRB13564
Estrada dentro do	PR4	-42°59'42.241W	1.106	HRB13563

PARNASO.		-22°27'24.571S		
Dentro do PARNASO, no meio da mata, após a ponte próxima ao estacionamento.	PR5	-43°0'3.310W -22°27'6.048S	1.164	HRB13561
Estrada dentro do PARNASO.	PR6	-42°59'58.316W -22°27'11.769S	1.172	HRB13562
Caminho à Pedra do Sino.	PR7	-43°0'28.725W -22°26'50.857S	1.330	HRB13560
Caminho à Pedra do Sino.	PR8	-43°0'28.725W -22°26'50.857S	1.340	HRB13559
Caminho à Pedra do Sino.	PR9	-43°0'41.050W -22°26'49.430S	1.450	HRB13558
Caminho à Pedra do Sino.	PR10	-43°0'41.050W -22°26'49.430S	1.450	HRB13557
Caminho à Pedra do Sino.	PR11	-43°0'49.964W -22°27'0.846S	1.584	HRB13556
Caminho à Pedra do Sino.	PR12	-43°0'51.674W -22°26'59.889S	1.600	HRB13555

Fonte: O autor, 2022.

3.2. Análises da composição do solo e dados macro e microclimáticos.

Os fatores microclimáticos foram obtidos *in situ* com um Pocket Weather Meter digital Kestrel 3000. Os dados de temperatura foliar foram aferidos com auxílio de um termômetro digital infravermelho mira a laser do modelo GM320 (Tabela 4) e as amostras de solo foram coletadas próximas ao acesso de cada espécime, seguindo a metodologia utilizada por RAMOS (2018) (Tabela 5).

Tabela 4 – Fatores microclimáticos obtidos *in situ* no momento da coleta

Espécime	T Foliar °C	T Ambiente °C	Umidade %	CO ₂ ppm	TVOC ppm	HCHO ppm
PR1	16,6	20,6	60	687	701	94
PR2	17,3	21,4	55	1.040	2.012	267
PR3	16	24,7	50	1.485	3.515	454

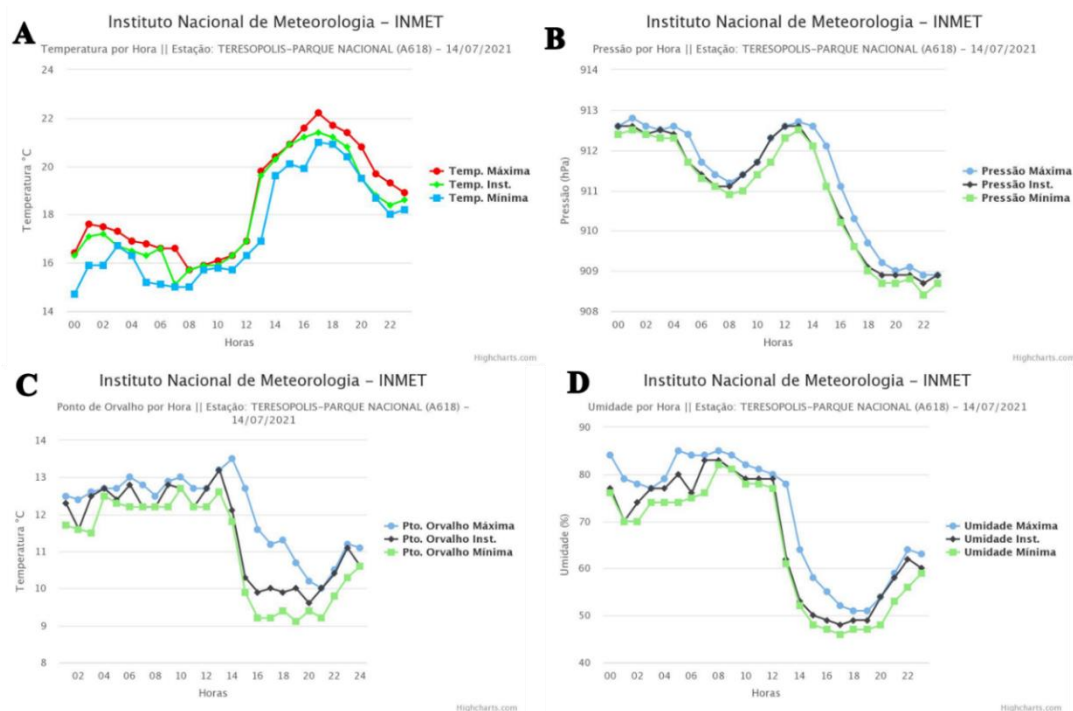
PR4	24,9	23,0	52	1.950	5.328	723
PR5	20,7	18,3	67	349	21	3
PR6	20,1	18,4	83	1.399	3.345	452
PR7	10,3	12,9	76	371	161	12
PR8	11,0	13,7	87	542	21	3
PR9	9,0	20,2	59	670	1.223	142
PR10	7,0	12,1	80	764	1.220	130
PR11	11,8	14,1	63	44	53	56
PR12	12,1	15,4	54	677	844	108

Fonte: O autor, 2022.

Legenda: T = temperatura; TVOC: Compostos Orgânicos Voláteis; HCHO: Formaldeído ambiente.

Os dados macroclimáticos da região do PARNASO em Teresópolis/RJ foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), coletando dados do dia da coleta (Figura 11) e das variações que ocorreram no ano (Figura 12) (INMET, 2021).

Figura 11 – Variabilidade de fatores macroclimáticos no dia de coleta realizada em 14 de julho de 2021.



Fonte: INMET, 2021

Legenda: Variabilidade de temperatura (A), pressão atmosférica (B), ponto de orvalho (C) e umidade (D) ao longo do dia da coleta realizada em 14 de julho de 2021.

Figura 12 – Variabilidade dos fatores macroclimáticos no ano de 2021.



Fonte: INMET, 2021

Legenda: Variabilidade de radiação (A), temperatura (B), pressão atmosférica (C), ponto de orvalho (D), umidade (E) e velocidade do vento (F) ao longo do ano de 2021.

Tabela 5 – Composição do solo de doze locais de coleta de *Piper richardiifolium* Kunth no Parque Nacional da Serra dos Órgãos em Teresópolis/ RJ.

Amostras	Micronutrientes do Solo															
	M.O	pH	P	K	Ca	Mg	Al	P (Resina)	P-rem	Na	S	B	Zn	Mn	Cu	Fe
	dag/dm3	unid.	mg/dm3	mg/dm3	cmolc/dm3	cmolc/dm3	cmolc/dm3	mg/dm3	mg/L	mg/dm3	mg/dm3	mg/dm3	mg/dm3	mg/dm3	mg/dm3	mg/dm3
PR1	3,5	5	5,1	147	2,4	1	0,9	0	0	0	19	0,5	3,4	15,7	0,9	158
PR2	7,5	5	22,7	100	4,3	1,2	0,9	0	0	0	27	0,7	5,3	27	0,5	181
PR3	10,1	5	46,3	122	6,7	0,8	0,2	0	0	0	34	0,3	3,9	17,2	0,4	48
PR4	3,8	5,4	18,8	281	3,4	0,9	0,6	0	0	0	31	0,6	8,8	56,8	1	51
PR5	7,9	5,2	18,8	157	2,7	1,2	0,6	0	0	0	44	0,4	4,7	21,3	0,8	145
PR6	3,5	4,3	10	38	0,4	0,3	2	0	0	0	18	0,7	2,1	6,4	0,7	227
PR7	3,8	4,5	14,6	56	0,5	0,3	1,7	0	0	0	20	0,6	1,9	7	0,4	260
PR8	7,5	5,2	255,2	301	6,1	1,3	0,2	0	0	0	29	0,6	5,9	60,8	0,4	42
PR9	8,7	5,2	27,6	121	3,4	1	1,2	0	0	0	29	1,6	3,7	27	1,3	209
PR10	6,9	4,2	11,4	55	0,5	0,2	2,6	0	0	0	17	2,1	2,1	5,8	0,6	170
PR11	5	5	26,9	103	4,4	0,9	0,6	0	0	0	23	0,5	8,1	46,8	1	34
PR12	1,2	6,2	46,6	157	2,5	0,8	0	0	0	0	44	0,3	2,6	6,9	1,2	95

Fonte: O autor, 2022.

Legenda: M.O – Matéria Orgânica; P – Fósforo; K – Potássio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; Al – Alumínio; Na – Sódio; S – Enxofre; B – Berílio; Zn – Zinco; Mn – Manganês; Cu – Cobre; Fe – Ferro.

3.3. Extração dos óleos essenciais

Para a extração dos OE dos espécimes de *P. richardiifolium* coletadas, entre 70-200g de folhas frescas foram cominuídas manualmente com o auxílio de uma tesoura e acomodadas em balão de vidro de 2L contendo 1L de água destilada. As folhas cominuídas foram submetidas à hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado por 2h, seguindo protocolos presentes na literatura para extração de OE de *Piper* L. e adotados pelo grupo (OLIVEIRA *et al.*, 2013; RAMOS *et al.*, 2020) (FIGURA 11). Após a extração, os OE puros foram separados da fase aquosa, armazenados em frascos de vidro âmbar vedados, e acondicionados em freezer a -20°C até o momento das análises. Os rendimentos dos OE foram calculados pela razão do peso do OE separado e a quantidade em gramas do material vegetal fresco utilizado para a extração, sendo que o valor final obtido neste cálculo foi transformado em teor percentual (%). Os OE que obtiveram baixo rendimento, ou seja, não se separaram da fase aquosa no equipamento, foram separados pela adição de diclorometano P.A. ao hidrolato em um funil de separação. Nesse caso, considerou-se o rendimento de 0,1% para fins de comparação.

Figura 13 – Extração dos óleos essenciais foliares de *Piper richardiifolium* por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.



Fonte: O autor, 2022.

3.4. Análise das composições químicas dos óleos essenciais

3.4.1. Identificação estrutural

Os OE foram solubilizados em diclorometano P.A. até atingirem concentração final de aproximadamente 1000 ppm. As amostras foram submetidas à análise por Cromatografia com Fase Gasosa (CG) acoplada à Espectrometria de Massas (EM) em equipamento HP Agilent GC 6890 – MS 5973 para elucidação das estruturas químicas das substâncias presentes nos OE. As condições para as análises seguiram o mesmo procedimento adotado por Oliveira *et al.*, (2013) e Ramos *et al.*, (2020), ou seja, 1µL da solução de OE foi injetada com temperatura de injetor de 270°C, sem divisão de fluxo (*splitless*), com coluna HP-5MS (30m x 0,32mm i.d. x 0,25µm), programação de temperatura de 60° a 240°C com aumento de temperatura de 3°C a cada 1 minuto, usando hélio como gás de arraste em fluxo constante de 1,0mL por minuto e uma varredura de massas de 40 a 600 u.m.a., com energia de impacto de 70 eV em modo positivo. Após a obtenção dos espectros de massas, os índices de retenção (IR) foram calculados a partir do tempo de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos (C₈-C₂₈, Sigma Aldrich). Os IR calculados e os espectros de massas obtidos foram comparados com os registros encontrados nas bibliotecas de WILEY e NIST e os compilados de ADAMS (2017).

3.4.2. Quantificação das substâncias

Após a identificação das substâncias encontradas nos OE, a quantificação foi realizada por CG acoplada ao Detector por Ionização em Chama (DIC) em um equipamento HP-Agilent 6890. A metodologia de quantificação também seguiu metodologia estabelecida por Oliveira *et al.*, (2013) e Ramos *et al.*, (2020), sendo injetados 1µL da solução de OE com temperatura de injetor a 270°C sem divisão de fluxo (*splitless*), com coluna HP5-MS (30m x 0,32mm i.d. x 0,25µL), com programação de rampa de temperatura de 60°C a 240°C com aumento de temperatura de 3°C a cada minuto, usando hidrogênio e ar sintético como gases de arraste, com fluxo constante de 1,0mL por minuto. Os teores percentuais de cada substâncias foram provenientes das áreas do cromatograma, sem correção.

3.5. Processamento de dados

3.5.1. Cálculo dos índices de quimiodiversidade α

Os índices de quimiodiversidade α foram calculados utilizando o índice de Shannon (1), índice de diversidade de Simpson (2) e índice de Pielou (3) (FENG et al. 2021; SHANON, 1948; SIMPSON, 1949; PIELOU, 1966). As fórmulas das equações seguem abaixo:

$$H' = -\sum P_i \ln P_i \quad (1)$$

$$D_s = 1 - \sum P_i^2 \quad (2)$$

$$E = \frac{H'}{S} \quad (3)$$

Nessas equações, P_i equivale à abundância proporcional das substâncias, que é obtido pela divisão do teor da substância identificada pelo teor total identificado na amostra, do qual i é o número de substâncias nas amostras e S é o número de substâncias.

3.5.2. Cálculo dos índices de quimiodiversidade β

Para obtenção dos índices de quimiodiversidade β , foram utilizados o índice de Sørensen (4), índice de Jaccard (5) e índice de Cody (6) (SØRENSEN, 1901; JACCARD, 1901; CODY, 1975; FENG et al., 2021). As fórmulas das equações seguem abaixo:

$$SI = \frac{2C}{A+B} \quad (4)$$

$$C_J = \frac{C}{A+B-C} \quad (5)$$

$$\beta_c = \frac{A+B-2C}{2} \quad (6)$$

Nas equações, a equivale ao número de substâncias em uma amostra; b é o número de substâncias em outra amostra e C é o número das mesmas substâncias encontradas em A e B .

3.5.3. Índices micromoleculares

3.5.3.1. Cálculo do índice de Ramos & Moreira

O cálculo do índice de Ramos & Moreira (8), ou índice redox da geral da mistura (GM_{OR}) foi realizado pela equação intermediária que calcula o Nível Ponderado de Oxi-redução (N_{OR}) (7), de acordo com metodologia utilizada por RAMOS *et al.*, (2021). As fórmulas das equações seguem abaixo:

$$N = \frac{(N_{ox\ da\ substância} \times Q\%)}{n} \quad (7)$$

$$GM = \frac{\sum N}{N_{IA}} \quad (8)$$

O estado de oxidação da substância (N_{ox}) é calculado pelo número de ligações C-C, C-H, C-O e C-heteroátomo (RAMOS *et al.*, 2021). Na equação N_{OR} , o estado de oxidação da substância (N_{ox}) de interesse é multiplicado pelo valor quantitativo da substância encontrado na amostra e dividido pelo número de átomos de carbono no esqueleto molecular (n). Para obtenção do índice de Ramos & Moreira o somatório do N_{OR} de todas as substâncias é dividido pelo número de substâncias identificadas na amostra (N_{IA}). Em termos de interpretação do resultado para misturas, quanto mais distante de zero em *valor positivo, mais oxidada*; e quanto mais distante de zero em *valor negativo, mais reduzida*.

3.5.3.2. Coeficiente de Diversificação de Esqueleto

Nessa Dissertação desenvolvemos o inédito **Coeficiente de Diversificação de Esqueleto** (C_{DE}) (9), que vislumbra a diversificação química presente em uma mistura complexa, pois indica, em média, o número de esqueletos de carbono (esqueleto-C) que originam os metabólitos de uma mistura. Dessa forma, tem-se um novo índice micromolecular que pode ser usado para avaliar o grau de quimiodiversidade e, consequentemente, inferir possíveis plasticidades fenotípicas químicas em decorrência de fatores elicitanes.

$$C_{DE} = \left(\frac{-E}{S} \right) + 1 \quad (9)$$

Na equação de C_{DE} , a variável E equivale ao número total de esqueletos-C em uma determinada mistura, enquanto a variável S corresponde à quantidade total de substâncias identificadas na amostra. Ao final, será obtido um valor entre 0 e 1, sendo que *quanto mais próximo* o valor for de 1, *maior será a diversificação química* da mistura produzida pelo espécime.

3.5.4. Análises estatísticas.

Análises estatísticas foram realizadas para determinar inter-relações, correlações, correspondências e variâncias nos OEs dos diferentes espécimes avaliados. Foram avaliados: I–variações entre as substâncias e classes químicas nos espécimes vs. fatores ilicitantes; II–Variação edafoclimática (umidade, temperatura, macro e micro-nutrientes do solo); III–Variação espacial (latitude, longitude e elevação) e IV–Variação entre os índices calculados.

As análises de variância (ANOVA) foram realizadas utilizando o Programa *Statistica* versão 13 (StartSoft Inc., Tulsa, EUA). Para comparação das médias obtidas nos resultados de rendimento e componentes majoritários dos OEs, assim como nos resultados de diversidade encontrados para os grupos de elevação selecionados. Para verificar a possível inter-relação entre variáveis edafoclimáticas e variação espacial, as correlações entre os índices calculados foram avaliadas.

Para o Índice de Ramos & Moreira, Nível Ponderado de Oxi-redução e os componentes dos OEs selecionados, foi utilizada a análise de correlação de Spearman, devido ao padrão de normalidade do conjunto de dados (CALLEGARI-JACQUES, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2013; SÁ *et al.*, 2016). O coeficiente de correlação Spearman foi interpretado de acordo com os critérios sugeridos por Jannuzzi *et al.*, (2010) como a seguir: 0,00 a 0,19 (*bem fraca*); 0,20 a 0,39 (*fraca*); 0,40 a 0,69 (*moderada*); 0,70 a 0,89 (*forte*); e de 0,90 a 1,00 (*muito forte*). A significância do conjunto de dados foi testada por *t* de Student.

A Análise de Componentes Principais (ACP) e a Análise de Agrupamento Hierárquico (AAH) foram realizadas utilizando o programa *Statistica* versão 13 (StartSoft Inc., Tulsa, EUA). As matrizes foram construídas com a composição química dos OEs. As matrizes foram tratadas como unidades taxonômicas operacionais (UTO).

Análises de Agrupamento Hierárquico (AAH) foram feitas para verificar similaridades entre as UTO. Para obtenção do dendrograma foram utilizadas as distâncias Euclidianas com o método de UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*).

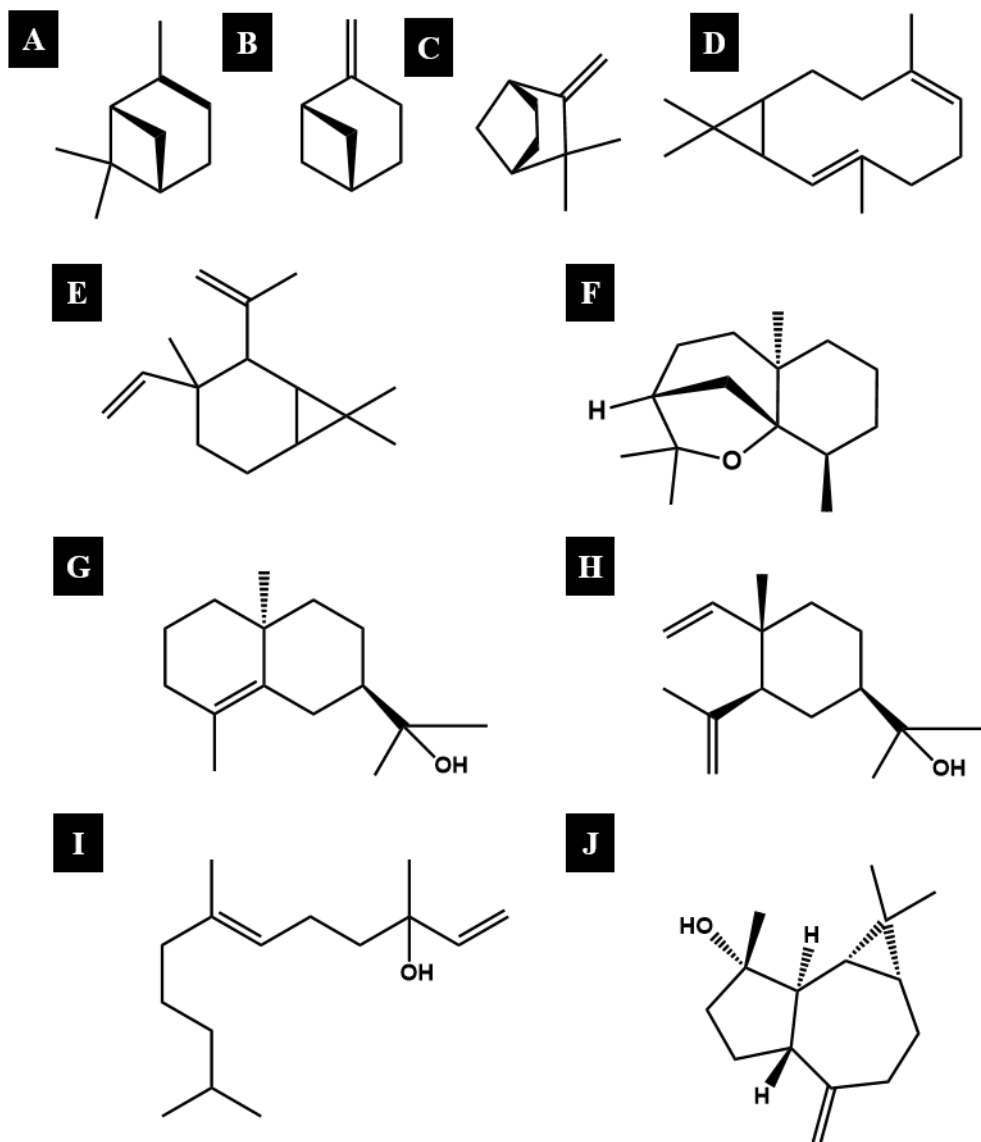
4. RESULTADOS

4.1. Composição química e rendimento dos óleos essenciais de folhas de *Piper richardiifolium* (PR) coletadas em Teresópolis/RJ (PARNASO) em diferentes elevações.

Os OEs extraídos de *P. richardiifolium* dos acessos do PARNASO coletados em diferentes elevações apresentaram coloração levemente amarelada, com rendimentos variando de 0,07 a 0,42%. As composições químicas são descritas na tabela 6 (12 amostras). Um total de 111 substâncias diferentes foram identificadas considerando todas as amostras. O total de substâncias quantificadas nos OEs ficou entre 49,37 e 98,20%. As frações dos OEs de 10 espécimes apresentaram-se ricas em monoterpenos não oxigenados (17,79-76,27%), enquanto apenas dois espécimes apresentaram baixo teor dessas substâncias (0,75-2,05%). Os OEs de 10 espécimes também apresentaram alto teor relativo de sesquiterpenos não oxigenados (9,54-32,61%), enquanto dois espécimes apresentaram baixos teores dessas substâncias (4,34-4,71%). Em relação aos sesquiterpenos oxigenados, apenas um espécime apresentou baixos teores desse tipo (3,96%), enquanto as demais apresentaram alto teor relativo (5,19-86,81%).

As substâncias principais registradas foram os monoterpenos não oxigenados α -pineno (A) (5,14-20,72%), β -pineno (B) (7,29-13,54%) e canfeno (C) (7,21-33,51%). Os sesquiterpenos não oxigenados biciclogermacreno (D) (7,77%) e bicicloelemeno (E) (5,31-10,56%) também foram registrados em teor percentual relevante, junto com os sesquiterpenos oxigenados *cis*-diidroagarofurano (F) (39,84%), 10-*epi*- γ -eudesmol (G) (21,34%), elemol (H) (15,45%), *E*-nerolidol (I) (6,27%) e espatulenol (J) (5,36-7,67%). As estruturas químicas dos majoritários são apresentadas na Figura 14.

Figura 14 – Estruturas químicas das substâncias majoritárias identificadas nos 12 espécimes de *Piper richardiifolium* coletadas em diferentes elevações nos acessos de Teresópolis/RJ.



Fonte: O autor, 2022.

Tabela 6 – Constituição química, rendimentos (%), esqueleto de carbonos (esqueleto-C) dos óleos essenciais foliares de *Piper richardiifolium* Kunth coletados em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.

				Porcentagem Relativa (%)											
Esqueleto-C	Constituintes	IR _{lit.}	IR _{calc.}	PR1	PR2	PR3	PR4	PR5	PR6	PR7	PR8	PR9	PR10	PR11	PR12
				940m	1027m	1080m	1106m	1164m	1172m	1330m	1340m	1450m	1450m	1584m	1600m
Monoterpenos - hidrocarbonetos				60,3	76,27	0,75	2,6	26,07	55,93	69,57	58,13	53,16	34,46	47,03	53,02
Pinano	α -pineno	932	934	18,70	20,72	-	-	7,54	14,89	22,44	17,45	13,73	9,90	12,88	13,75
Canfano	canfeno	946	946	23,29	33,51	-	-	10,58	23,04	32,27	23,41	19,15	12,96	17,44	19,72
Pinano	β -pineno	974	975	12,84	13,54	-	0,72	4,34	11,41	7,80	12,27	11,32	7,29	10,32	11,29
Mentano	limoneno	1024	1025	3,70	7,31	0,72	0,99	1,19	3,87	2,76	3,44	4,10	2,20	3,62	4,11
Mircano	β -ocimeno	1044	1046	0,60	-	0,33	0,69	1,97	2,73	2,25	1,19	3,56	1,53	1,81	2,94
Mentano	γ -terpineno	1054	1055	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mentano	α -terpinoleno	1086	1087	0,27	0,56	-	-	0,07	-	0,57	-	0,34	-	0,30	0,33
Mircano	<i>allo</i> -ocimeno	1128	1129	0,90	0,55	-	0,20	0,38	-	1,48	0,37	0,96	0,58	0,66	0,88
Monoterpenos – oxigenados				0,25	2,00	1,41	0,72	1,38	-	2,07	1,77	5,37	1,11	1,59	0,33
Mentano	1,8-cineol	1026	1027	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mircano	linalool	1096	1097	-	0,97	-	0,42	0,10	-	0,46	0,23	0,16	0,28	0,50	-
Pinano	<i>trans</i> -pinocarveol	1135	1136	-	-	-	-	0,10	-	-	-	-	-	-	-
Pinano	<i>trans</i> -verbenol	1140	1140	-	-	-	-	0,16	-	-	-	0,16	0,17	-	-
Pinano	pinocarvona	1160	1160	-	-	-	-	0,10	-	0,08	-	0,09	0,05	0,10	-

Canfano	borneol	1165	1166	0,25	0,19	-	-	0,60	-	-	0,43	0,52	0,54	0,55	-
Mentano	terpinen-4-ol	1174	1174	-	0,18	-	-	-	-	0,33	-	0,10	-	0,06	-
Mentano	α -terpineol	1186	1186	-	0,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinano	myrtenol	1194	1195	-	-	-	-	0,18	-	-	-	-	-	-	-
Pinano	verbenona	1204	1205	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	0,05	-	-
Mentano	<i>trans</i> -carveol	1215	124	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,02	-	-
Mircano	citronelol	1221	1221	-	-	-	-	-	-	0,16	-	-	-	-	-
Mircano	citronelato de metila	1257	1257	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	-	-	-
Mircano	geraniol	1262	1262	-	-	-	0,27	-	-	0,24	-	0,15	-	0,18	0,16
Mircano	nerolato de metila	1280	1281	-	-	1,41	-	0,13	-	-	1,11	-	-	-	-
Canfano	acetato de isobornila	1283	1284	-	-	-	-	-	-	0,72	-	-	-	0,20	-
Canfano	acetato de bornila	1284	1285	-	0,49	-	-	-	-	-	-	0,14	-	-	0,17
Mircano	geranato de metila	1322	1322	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mircano	γ -pironeno	1345	1345	-	-	-	-	-	-	-	-	3,90	-	-	-
<i>Sesquiterpenos – hidrocarbonetos</i>				18,65	4,71	4,34	37,08	14,00	15,86	14,66	16,78	10,81	23,84	21,20	21,39
Elemmano	bicicloelemeno	1324	1323-1324	4,55	0,72	2,36	11,89	2,26	4,56	2,10	4,29	-	5,31	4,16	3,52
Cubebano	α -cubebeno	1348	1348-1349	-	0,14	-	0,38	0,10	-	-	-	0,13	-	0,65	-
Copaano	α -ylangeno	1373	1372-1374	-	0,05	-	1,84	0,07	-	0,08	-	0,10	0,13	-	0,11
Copaano	α -copaeno	1374	1373-	-	0,25	-	-	0,43	-	0,43	0,40	-	0,69	-	0,47

[illegible]

Humulano	α -humuleno	1452	1451- 1452	-	0,28	-	0,28	0,23	-	0,36	0,38	1,70	0,54	0,46	0,39
Aromadendrano	<i>allo</i> - aromadendreno	1458	1457- 1458	3,97	-	-	0,77	1,14	-	0,71	1,16	0,09	-	-	1,25
Aromadendrano	deidro- aromadendreno	1460	1459- 1460	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,63	-
Elemmano	α -elemeno	1469	1469- 1470	-	-	-	0,26	-	-	-	-	-	-	-	-
Aromadendrano	γ -gurjuneno	1475	1475- 1476	-	-	-	3,05	-	-	-	-	-	-	-	-
Cadinano	γ -muuroleno	1478	1478- 1479	-	0,51	-	-	0,79	-	-	-	-	1,92	1,53	1,27
Germacrano	germacreno D	1480	1479- 1480	0,25	0,97	-	0,27	1,19	1,20	1,05	1,84	2,01	0,13	-	1,68
Bisabolano	γ -curcumeno	1481	1481- 1482	-	-	-	-	-	1,74	-	-	-	-	-	-
Eudesmano	β -selineno	1489	1489- 1490	-	0,07	-	-	-	-	0,24	-	-	-	-	0,76
Eudesmano	δ -selineno	1492	1492- 1493	-	-	-	0,67	-	-	-	-	-	-	-	-
Cadinano	<i>trans</i> -muurola- 4(14),5-dieno	1493	1493- 1494	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,09	1,87	-
Aromadendrano	viridifloreno	1496	1495- 1496	0,67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eremofilano	valenceno	1496	1496- 1497	-	-	-	-	-	-	0,79	0,16	-	-	0,22	-

Biciclogermacrano	biciclogermacreno	1500	1500-1501	2,49	-	-	8,75	1,36	2,52	2,54	2,52	2,88	4,69	2,94	2,56
Cadinano	α -muuroleno	1500	1500-1501	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eudesmano	β -diidroagarofurano	1503	1503-1504	3,27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cadinano	δ -amorfenno	1511	1510-1511	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,23	-
Cadinano	γ -cadineno	1513	1512-1513	0,18	-	-	-	0,44	-	0,57	0,79	0,43	0,68	-	0,43
Cadinano	δ -cadineno	1522	1522-1523	1,27	1,07	-	3,84	0,94	1,42	1,90	2,14	1,82	2,73	2,02	1,90
Cadinano	cis-calameno	1528	1527-1528	0,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cadinano	cadina-1,4-dieno	1533	1532-1533	-	0,10	-	0,20	0,06	-	0,17	0,11	0,12	0,18	0,13	0,13
Cadinano	α -cadineno	1537	1536-1537	-	0,07	-	0,14	0,07	-	0,19	0,14	0,13	0,19	0,14	0,15
Cadinano	α -calacoreno	1544	1543-1544	0,23	-	-	-	-	-	-	0,19	-	0,31	-	0,23
Guaiano	guaiazuleno	1779	1778-1779	-	-	-	-	0,04	-	-	-	0,05	-	-	-
Sesquiterpenos - oxigenados				15,81	8,35	86,81	16,00	7,61	5,22	11,75	11,52	10,51	13,61	11,16	11,06
Eudesmano	cubebol	1514	1513-1514	-	-	-	-	-	-	-	0,19	-	-	-	0,21

	trien-1- α -ol														
Eudesmano	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1687	1687-1688	-	-	-	-	-	-	0,29	-	-	-	-	-
Farnesano	Z,Z-farnesol	1698	1697-1698	-	-	0,39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farnesano	E,Z-farnesol	1714	1713-1714	0,75	-	-	1,16	0,07	-	0,37	0,11	0,12	0,49	-	-
Farnesano	Z,E-farnesol	1722	1722-1723	-	-	-	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Outras substâncias</i>				-	-	-	0,03	0,31	0,01	0,17	-	0,24	0,33	-	-
Pentadecanona	Pentadecanona-2	1697	1696-1697	-	-	-	-	0,03	-	0,04	-	0,05	-	-	-
Mentano	Sulfóxido de menta	1740	1740-1741	-	-	-	-	-	-	0,05	-	0,03	0,05	-	-
Octadecano	Octadeceno-1	1789	1789-1793	-	-	-	-	0,01	-	-	-	-	-	-	-
Farnesano	β -espringeno	1865	1865-1869	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06	0,14	-	-
Nonadecano	<i>n</i> -nonadecano	1900	1897-1905	-	-	-	-	0,01	-	-	-	-	-	-	-
Farnesano	α -espringeno	1969	1966-1972	-	-	-	-	-	-	0,01	-	-	0,03	-	-
Mircano	geranil-linalol	1987	1985-1990	-	-	-	-	0,23	-	0,05	-	0,10	0,11	-	-
Eicosano	<i>n</i> -eicosano	2000	1995-	-	-	-	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-

			2004												
Heneicosano	<i>n</i> -heneicosano	2100	2095-2105	-	-	-	0,01	0,01	-	0,01	-	-	-	-	-
Docosano	<i>n</i> -docosano	2200	2197-2205	-	-	-	0,01	0,01	0,01	0,01	-	-	-	-	-
Tricosano	<i>n</i> -tricosano	2300	2298-2306	-	-	-	-	0,01	-	0,01	-	-	-	-	-
Nº de substâncias encontradas				50	72	20	79	103	30	17	59	99	105	96	88
Substâncias identificadas (%)				95,01	91,33	93,3	56,72	49,37	77,02	98,20	88,98	80,09	73,35	80,98	85,80
Rendimento OE %				0,18	0,42	0,21	0,07	0,07	0,11	0,25	0,13	0,07	0,15	0,20	0,20
Atividade Fenológica		<i>Vegetativa</i>		X		X	X	X	X	X	X	X		X	X
		<i>Reprodutiva</i>			X								X		

Fonte: O autor, 2022.

Legenda: IR_{cal} = Índice de retenção calculado (coluna HP-5MS); IR_{lit} = índice de retenção da literatura (Adams, 2017); PR = *Piper richardiifolium*.

As análises de Spearman que correlacionam as classes químicas, rendimentos e as substâncias majoritárias presentes nos OEs com os fatores ambientais (elevação, temperatura foliar, temperatura ambiental do local de coleta, CO₂, TVOC, HCHO e umidade) encontram-se na Tabela 7. A Figura 15 apresenta as variações do percentual das classes químicas para os espécimes de *P. richardiifolium* coletados em diferentes elevações, enquanto a Figura 16 apresenta as variações dos constituintes majoritários.

Tabela 7 – Análise de correlação de Spearman entre variáveis ambientais, rendimentos, substâncias majoritárias e classes químicas dos óleos essenciais de *Piper richardiifolium* Kunth em diferentes elevações.

Variáveis analisadas		Elevação (m)	Latitude	Longitude	Umidade (%)	Temperatura Foliar (°C)	Temperatura Ambiental (°C)	CO ₂ (ppm)	TVOC (ppm)	HCHO (ppm)
Substâncias majoritária no OE	Rendimentos	-0,067	-0,212	-0,361	-0,204	-0,215	-0,045	-0,010	-0,007	-0,024
	α -pineno	0,214	-0,088	-0,112	0,388	-0,220	-0,283	-0,255	-0,312	-0,361
	canfeno	0,143	-0,088	-0,112	0,395	-0,206	-0,269	-0,234	-0,301	-0,343
	β -pineno	0,287	-0,070	-0,007	0,300	-0,069	-0,041	-0,111	-0,192	-0,185
	limoneno	0,336	0,242	0,052	0,041	-0,118	-0,034	-0,125	-0,038	-0,024
	bicicloelemeno	0,189	-0,070	0,281	0,216	0,216	-0,090	0,405	0,189	0,217
	biciclogermacreno	0,418	0,599*	0,095	0,077	-0,343	-0,392	-0,070	0,068	0,089
	cis-diidroagarofurano	-0,393	-0,482	-0,482	-0,480	0,043	0,480	0,393	0,393	0,393
	elemol	-0,261	-0,630*	-0,564	-0,288	-0,085	0,296	0,389	0,289	0,257
	<i>E</i> -nerolidol	0,301	-0,017	0,077	-0,320	-0,017	0,171	-0,052	0,049	0,035
	espatulenol	0,483	0,734**	0,186	0,083	-0,251	-0,377	-0,153	-0,108	-0,038
	10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	-0,239	-0,761**	-0,355	-0,495	0,229	0,651*	0,431	0,321	0,321
	α -eudesmol	-0,640*	-0,624*	-0,386	-0,532	0,182	0,591*	0,462	0,463	0,463
Classes químicas	Monoterpenos não oxigenados	0,164	-0,123	0,101	0,370	-0,188	-0,209	-0,216	-0,259	-0,301
	Monoterpenos oxigenados	-0,220	0,101	-0,474	0,006	-0,503	-0,146	-0,426	-0,227	-0,248
	Sesquiterpenos não oxigenados	0,511	0,414	0,344	0,132	-0,034	-0,370	0,034	-0,066	-0,038
	Sesquiterpenos oxigenados	0,059	-0,355	-0,432	-0,356	-0,160	0,167	0,335	0,227	0,213
	Outras substâncias	-0,093	0,298	0,020	0,302	-0,182	-0,324	-0,097	-0,001	-0,042

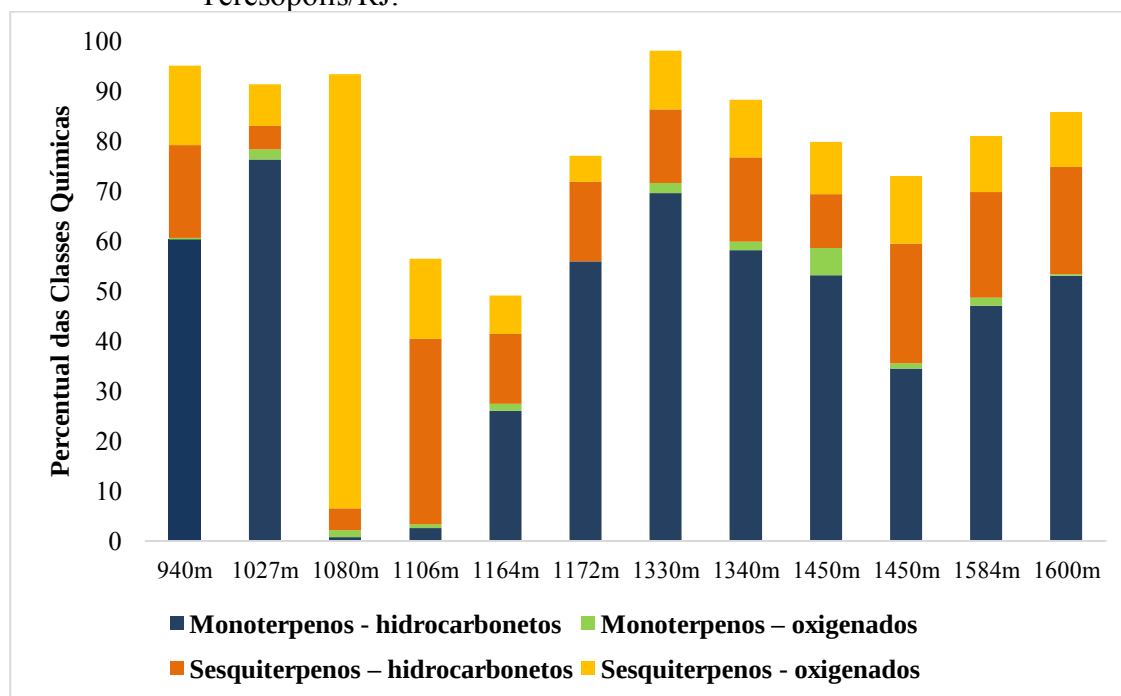
Legenda – *Significativo a $p < 0,05$; OE – Óleo Essencial.

Fonte: O autor, 2022.

É possível observar uma correlação significativa do α -eudesmol vs. elevação e vs. temperatura do ambiente no local da coleta, assim como também foi observado para o 10-*epi*- γ -eudesmol. Salienta-se que também foi observado uma correlação negativa dos monoterpenos oxigenados com o período reprodutivo da planta ($-0,582$; $p=0,05$) e dos terpenos não oxigenados limoneno ($-0,582$; $p=0,05$) e bicicloelemeno ($0,647$; $p=0,05$) com o período vegetativo da espécie.

Pode-se observar na Figura 15 que os espécimes de *P. richardiifolium* avaliados apresentam uma predominância da classe dos monoterpenos não oxigenados na composição química de seus OEs, exceto para as amostras coletadas nas elevações de 1080 e 1106m. As médias das classes químicas apresentaram diferença significativa entre si, sendo as variações de monoterpenos não oxigenados ($p=0,00005$), monoterpenos oxigenados ($p=0,003$) e sesquiterpenos não oxigenados ($p=0,000036$) as mais significativas. Cabe destacar que também foi observado variância significativa entre as médias do rendimento dos OEs entre os espécimes em diferentes elevações ($p=0,000089$).

Figura 15 – Variação das classes químicas de óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* coletados em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.

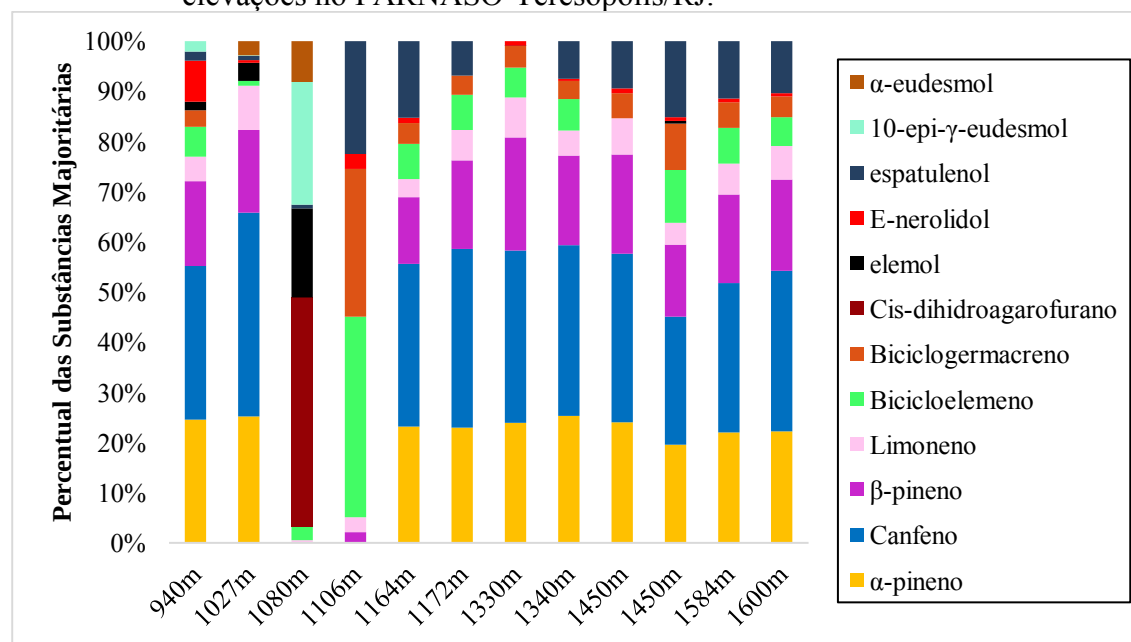


Fonte: O autor, 2022.

Pode-se observar na Figura 16 que as amostras de *P. richardiifolium* avaliadas apresentam predominância de teor percentual relativo de α -pineno, canfeno e β -pineno, com

excessão dos espécimes PR3 e PR4, que apresentaram maior teor percentual relativo de sesquiterpenos não oxigenados e oxigenados, respectivamente. As médias de variações dos componentes majoritários foram significantes para α -pineno ($p=0,00008$), canfeno ($p=0,0001$), β -pineno ($p=0,00005$), limoneno ($p=0,00001$), bicicloelemeno ($p=0,0006$), biciclogermacreno ($p=0,0008$) e espatulenol ($p=0,0002$).

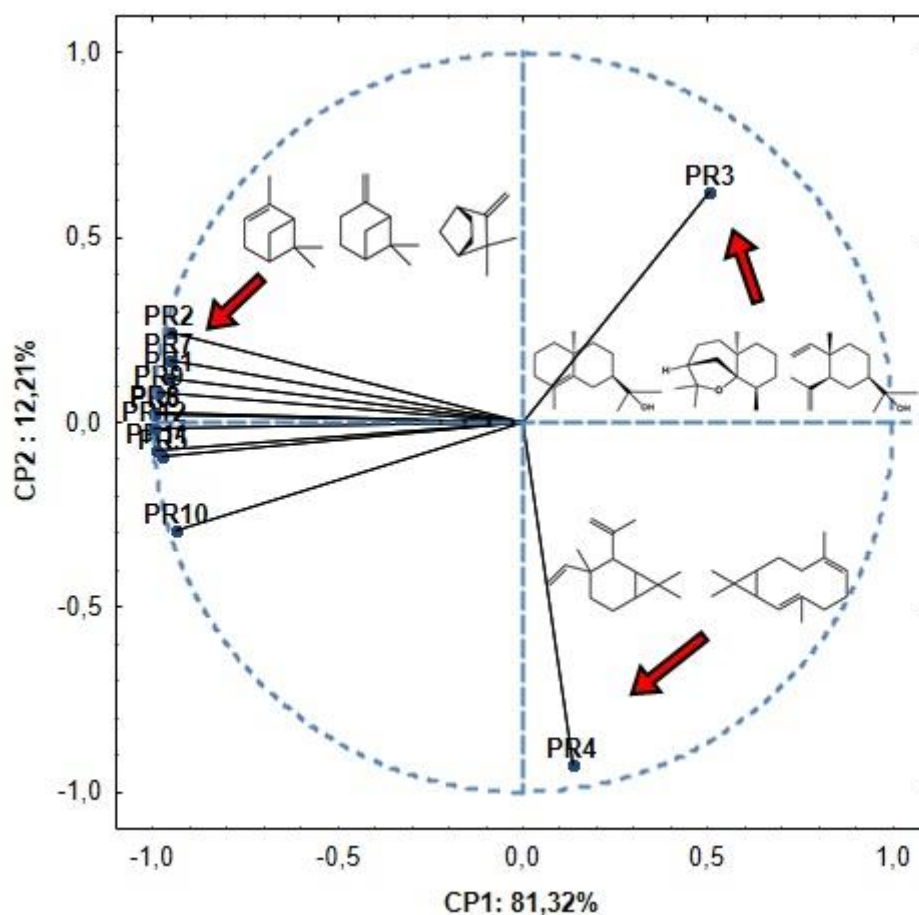
Figura 16 – Variação do teor percentual relativo das substâncias majoritárias identificadas nos óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* coletados em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.



Fonte: O autor, 2022

A Análise de Componente Principal (ACP) foi realizada com as substâncias cujos teores percentuais relativos foram superiores a 5%. Pela análise estatística por ACP da variância total dos dados foram representados pelos dois principais componentes CP1 (81,32%) e CP2 (12,21%), como demonstrado na Figura 17. A partir da análise de ACP, tem-se: **Grupo I** (PR1, PR2, PR3, PR5, PR6, PR7, PR8, PR9, PR10, PR11, PR12) constituído por espécimes ricas em α -pineno, canfeno e β -pineno; **Grupo II** (PR3) resultante do agrupamento da amostra rica em limoneno, elemol, E-nerolidol, 10-epi-eudesmol, α -eudesmol e cis-diidroagarofurano e **Grupo III** (PR4) formado pela presença de espatulenol, bicicloelemeno e biciclogermacreno.

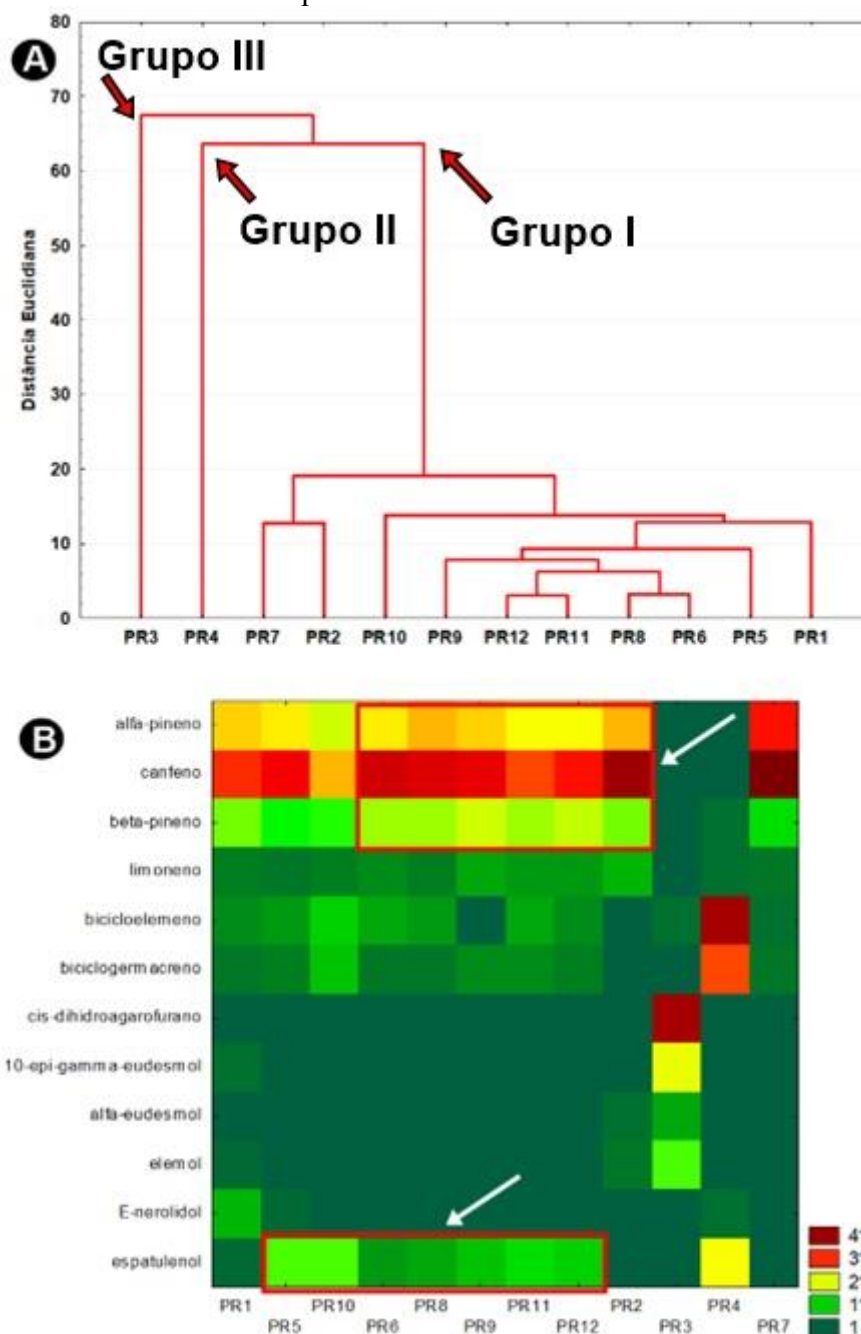
Figura 17 – Gráfico *Biplot* de Análise de Componente Principal da composição dos óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* coletadas em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.



Fonte: O autor, 2022.

O agrupamento hierárquico (AAH) para as diferentes elevações está representado na Figura 18A, sendo bem representativa, uma vez que foi superior a 60%. Os agrupamentos no dendograma são originados a partir das interseções correspondentes às distâncias euclidianas das amostras em relação às constituições químicas mais próximas. É possível observar a formação dos **Grupos I, II e III**, como demonstrado pela ACP, demonstrando a diferenciação química inter-espécimes. Concomitantemente, essa separação reflete, principalmente, o teor percentual relativo de monoterpenos, que é majoritário no **Grupo I** e de sesquiterpenos, que é majoritário nos **Grupos II e III**. O gráfico 18B apresenta o gráfico *two-way joining* permite visualizar a distribuição de substâncias por amostra e, conseqüentemente, tendência de similaridade entre as amostras.

Figura 18 – Dendrograma apresentando a similaridade química dos óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* coletadas em diferentes elevações no PARNASO-Teresópolis/RJ.



Legenda: A) Dendrograma e B) gráfico *two-way joining*. Setas vermelhas apontam separação de grupos Setas brancas apontam tendência de similaridade inter-espécimes.

Fonte: O autor, 2022.

4.2. Índices de quimiodiversidade e tendências micromoleculares

As análises de Spearman que correlacionam os índices de quimiodiversidade com os fatores ambientais (elevação, temperatura foliar, temperatura ambiental no local da coleta, CO₂, TVOC, HCHO e umidade) encontram-se dispostas na tabela 8 e as análises entre os índices e as substâncias e classes químicas majoritárias encontram-se na tabela 9. Foi possível observar uma correlação significativa do índice de R&M com a dominância e diversidade das amostras, assim como do C_{DE} com a equitabilidade de Pielou, que reflete a diversidade química da mistura. Devido ao índice de Shannon ser um índice de quimiodiversidade α , é observada uma correlação significativa com diversidade e dominância das amostras, sendo um resultado estatístico de significância a ser discutida.

Tabela 8 – Análise de correlação de Spearman entre variáveis ambientais e índices de quimiodiversidade dos óleos essenciais de *Piper richardiifolium* Kunth em diferentes elevações.

Variáveis analisadas		Dominância	Diversidade	Índice de Shannon	Equitabilidade de Pielou	Índice de R&M	CDE
Variáveis Microclimáticas	Elevação	-0,388	0,388	0,318	0,297	0,220	0,170
	Umidade	-0,132	0,132	0,027	0,251	-0,083	-0,031
	Temperatura Foliar	0,034	-0,034	0,055	0,258	-0,174	-0,304
	Temperatura Ambiental no local	0,363	-0,363	-0,300	-0,209	-0,139	0,0490
	CO ₂	0,258	-0,258	-0,328	0,076	-0,083	0,343
	TVOC	0,259	-0,259	-0,287	0,063	0,024	0,329
	HCHO	0,217	-0,217	-0,259	0,112	0,080	0,385
Índices de Quimiodiversidade	Dominância	-	-	-	-	-	-
	Diversidade	-	-	-	-	-	-
	Índice de Shannon	-0,958***	0,958***	-	-	-	-
	Equitabilidade de Pielou	-0,643*	0,643*	0,566	-	-	-
	Índice de R&M	-0,818**	0,818**	0,734**	-0,384	-	-
	CDE	-0,406	0,406	0,315	0,886***	0,206	-

Legenda: *Significativo a $p < 0,05$; **Significativo a $p < 0,01$; ***Significativo a $p < 0,001$; R&M – Ramos & Moreira; CDE – Coeficiente de Diversificação de Esqueleto.

Fonte: O autor, 2022.

Observa-se na correlação de Spearman que há uma relação do aumento de rendimento de OEs com espécimes que apresentam maior dominância de substâncias ($p < 0,05$) (Tabela 9). Entre as classes de substâncias identificadas nos OEs, os monoterpenos oxigenados apresentaram correlação inversamente proporcional com o C_{DE} ($p < 0,01$) e diretamente

proporcional com a dominância ($p < 0,005$). Observa-se uma forte e significativa correlação de espatulenol com a dominância e diversidade das amostras ($p < 0,0001$), assim como com a equitabilidade de Pielou ($p < 0,0001$). Em relação ao período reprodutivo de *Piper richardiifolium*, como esperado, foi observada uma correlação positiva com o CDE (0,583; $p < 0,05$).

Tabela 9 – Análise de correlação de Spearman entre índices de quimiodiversidade, substâncias majoritárias e classes químicas dos óleos essenciais de *Piper richardiifolium* Kunth em diferentes elevações.

Variáveis analisadas	Dominância	Diversidade	Índice de Shannon	Equitabilidade de Pielou	Índice de R&M	CDE
Rendimento	0,596*	-0,596*	-0,560	-0,536	-0,515	-0,330
<i>α</i> -pineno	0,500	-0,500	-0,476	-0,367	-0,490	-0,536
Canfeno	0,514	-0,514	-0,511	-0,388	-0,448	-0,557
<i>β</i> -pineno	0,335	-0,335	-0,419	-0,188	-0,167	-0,346
Limoneno	0,216	-0,216	-0,272	-0,104	0,020	-0,234
Bicicloelemeno	-0,412	0,412	0,286	0,762**	0,167	0,781**
Biclogermacreno	-0,659*	0,659*	0,631*	0,617*	0,652*	0,467
<i>cis</i> -diidroagarofurano	0,480	-0,480	-0,480	-0,393	-0,393	0,043
Elemol	0,506	-0,506	-0,522	-0,616*	-0,382	-0,355
<i>E</i> -nerolidol	-0,178	0,178	0,308	-0,084	0,262	-0,238
Espatulenol	-0,825***	0,825***	0,692*	0,650*	0,846***	0,518
10- <i>epi</i> - <i>γ</i> -eudesmol	0,587*	-0,587*	-0,587*	-0,569	-0,449	-0,248
<i>α</i> -eudesmol	0,650*	-0,650*	-0,650*	-0,639*	-0,344	-0,290
Monoterpenos não oxigenados	0,482	-0,482	-0,468	-0,377	-0,398	-0,567
Monoterpenos oxigenados	0,279	-0,279	-0,195	-0,685*	0,048	-0,756**
Sesquiterpenos não oxigenados	-0,685*	0,685*	0,622*	0,755**	0,454	0,626*
Sesquiterpenos oxigenados	0,027	-0,027	-0,006	-0,118	-0,083	0,126
Outras substâncias	-0,533	0,533	0,552	0,216	0,451	-0,016

Legenda: *Significativo a $p < 0,05$; **Significativo a $p < 0,01$; ***Significativo a $p < 0,001$; CDE – Coeficiente de Diversificação de Esqueleto; R&M – Ramos & Moreira.

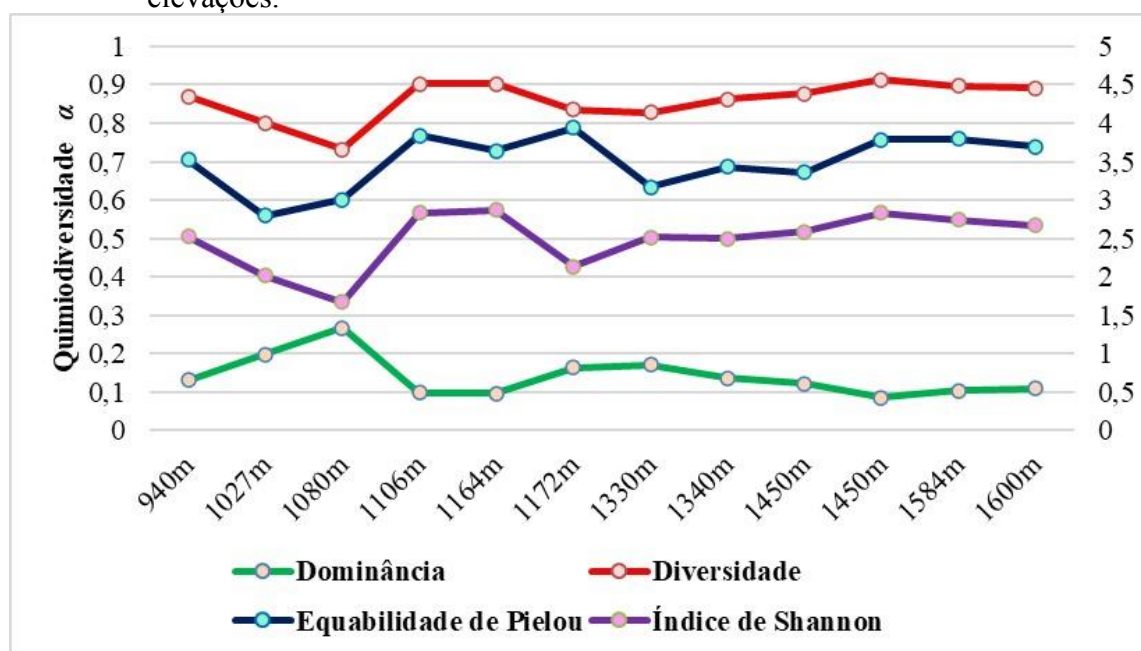
Fonte: O autor, 2022.

A partir das médias obtidas para os índices de quimiodiversidade na análise de correlação, foi observado uma variância significativa na diversidade ($p < 0,001$), dominância ($p < 0,001$), índice de Shannon ($p < 0,001$), equitabilidade de Pielou ($p < 0,001$), índice de R&M ($p = 0,015$) e CDE ($p < 0,001$) em relação aos espécimes estudados.

4.2.1. Índices de quimiodiversidade α Tabela 10 – Índices de quimiodiversidade α calculados para os espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

Espécimes	Elevação M	Índices de Quimiodiversidade α			
		Índice de Simpson		Índice de Shannon	Equitabilidade de Pielou
		Dominância	Diversidade		
PR1	940	0,130622505	0,869377495	2,528955615	0,705718501
PR2	1027	0,199293459	0,800706541	2,018415014	0,558975602
PR3	1080	0,267350303	0,732649697	1,669478719	0,602137167
PR4	1106	0,097944328	0,902055672	2,832674405	0,767895628
PR5	1164	0,097377408	0,902622592	2,867215376	0,729232586
PR6	1172	0,164050942	0,835949058	2,134896817	0,788352009
PR7	1330	0,17193741	0,82806259	2,51498517	0,633450946
PR8	1340	0,137508683	0,862491317	2,498929967	0,686974784
PR9	1450	0,122028516	0,877971484	2,590427948	0,672812634
PR10	1450	0,085711535	0,914288465	2,831994882	0,757689997
PR11	1584	0,10329955	0,89670045	2,739299778	0,75861591
PR12	1600	0,108817126	0,891182874	2,66991516	0,73940068

Fonte: O autor, 2022.

Figura 19– Variação de quimiodiversidade α de *Piper richardiifolium* Kunth. em diferentes elevações.

Fonte: O autor, 2022.

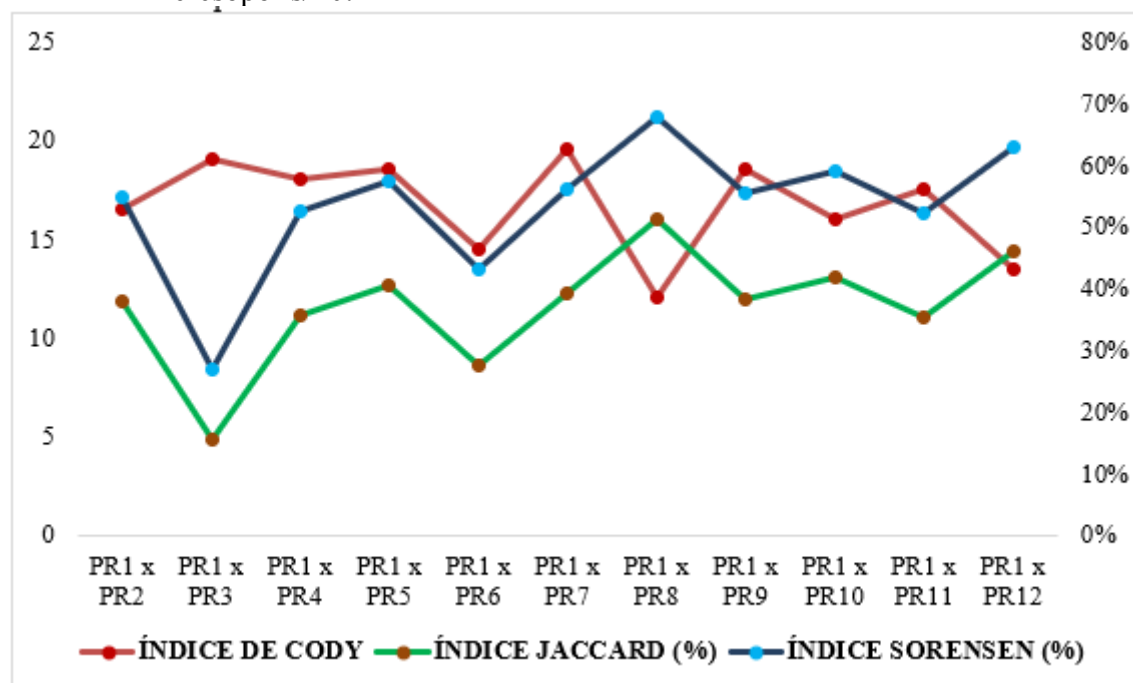
4.2.2. Índices de quimiodiversidade β

Tabela 11 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR1) com os demais coletados em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORESEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR1 x PR2	37,74	54,79	16,5
PR1 x PR3	15,56	26,92	19,0
PR1 x PR4	35,71	52,63	18,0
PR1 x PR5	40,32	57,47	18,5
PR1 x PR6	27,50	43,14	14,5
PR1 x PR7	39,06	56,18	19,5
PR1 x PR8	51,02	67,57	12,0
PR1 x PR9	38,33	55,42	18,5
PR1 x PR10	41,82	58,97	16,0
PR1 x PR11	35,19	52,05	17,5
PR1 x PR12	46,00	63,01	13,5

Fonte: O autor, 2022.

Figura 20– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth amostra PR1 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



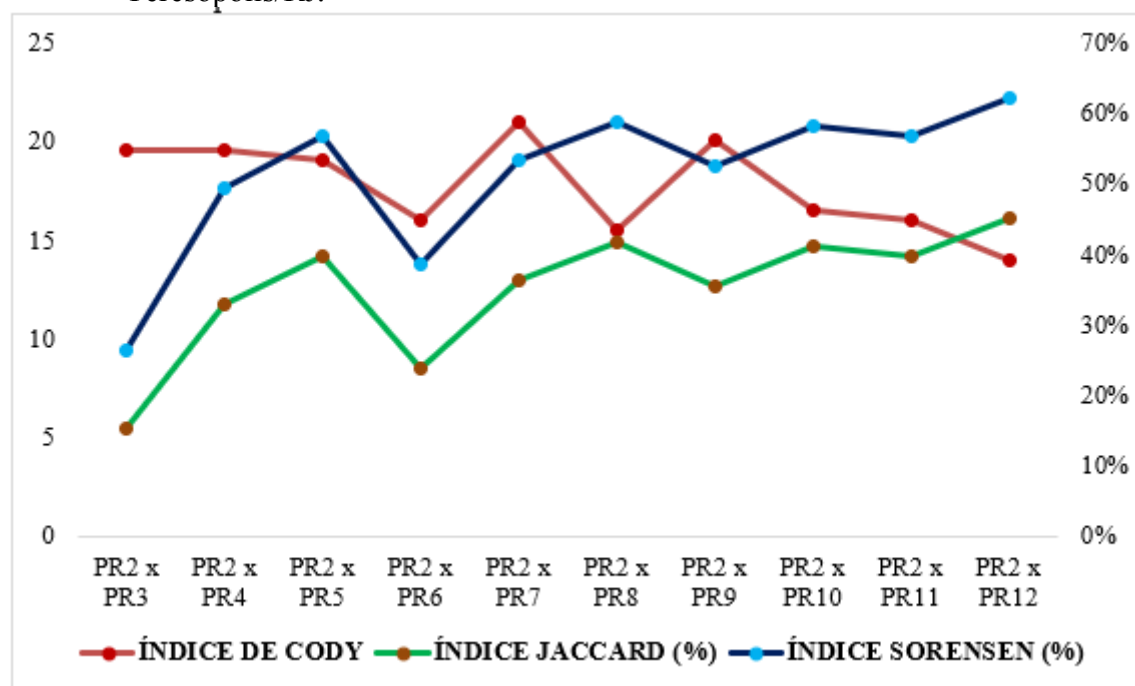
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 12 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR2) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORESENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR2 x PR3	15,22	26,42	19,5
PR2 x PR4	32,76	49,35	19,5
PR2 x PR5	39,68	56,82	19,0
PR2 x PR6	23,81	38,46	16,0
PR2 x PR7	36,36	53,33	21,0
PR2 x PR8	41,51	58,67	15,5
PR2 x PR9	35,48	52,38	20,0
PR2 x PR10	41,07	58,23	16,5
PR2 x PR11	39,62	56,76	16,0
PR2 x PR12	45,10	62,16	14,0

Fonte: O autor, 2022.

Figura 21– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR2 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



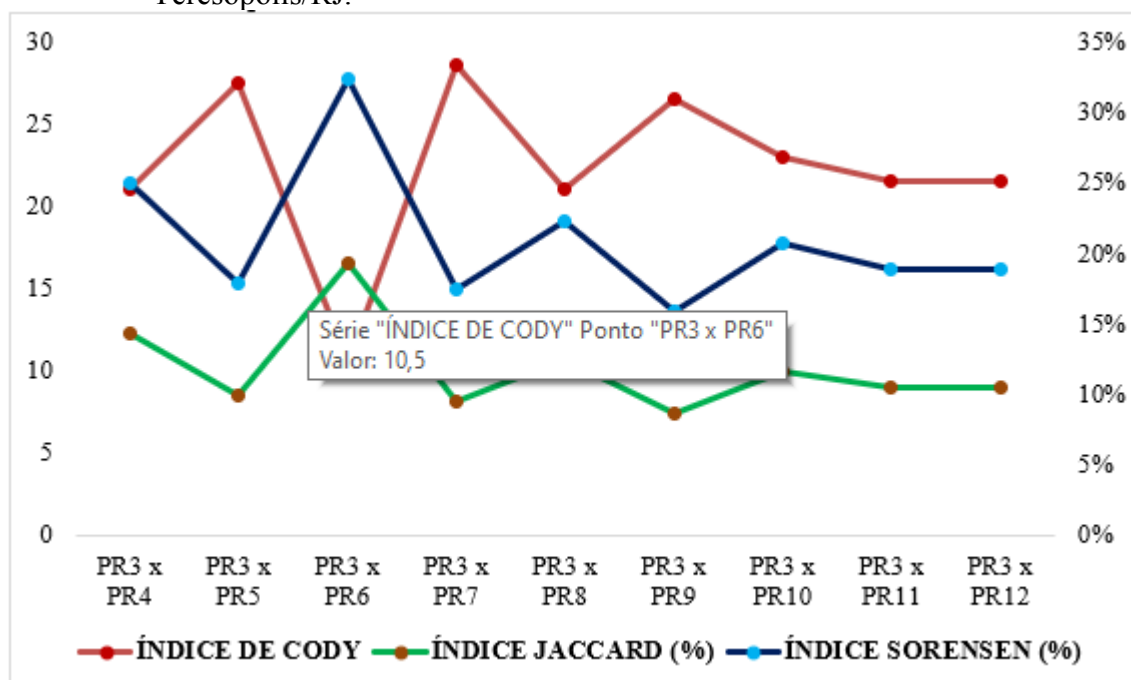
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 13 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR3) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORESENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR3 x PR4	14,29	25,00	21,0
PR3 x PR5	9,84	17,91	27,5
PR3 x PR6	19,23	32,26	10,5
PR3 x PR7	9,52	17,39	28,5
PR3 x PR8	12,50	22,22	21,0
PR3 x PR9	8,62	15,87	26,5
PR3 x PR10	11,54	20,69	23,0
PR3 x PR11	10,42	18,87	21,5
PR3 x PR12	10,42	18,87	21,5

Fonte: O autor, 2022.

Figura 22– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR3 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



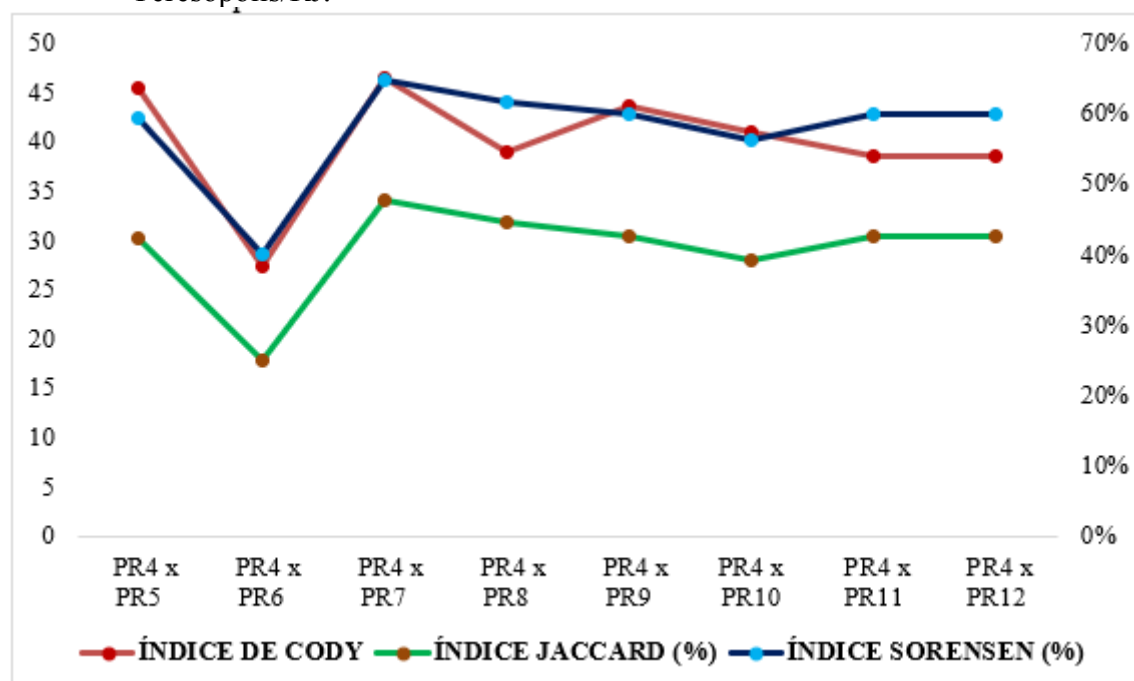
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 14 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR4) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR4 x PR5	42,19	59,34	45,5
PR4 x PR6	25,00	40,00	27,4
PR4 x PR7	47,62	64,52	46,5
PR4 x PR8	44,44	61,54	39,0
PR4 x PR9	42,62	59,77	43,5
PR4 x PR10	38,98	56,10	41,0
PR4 x PR11	42,59	59,74	38,5
PR4 x PR12	42,59	59,74	38,5

Fonte: O autor, 2022.

Figura 23– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR4 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



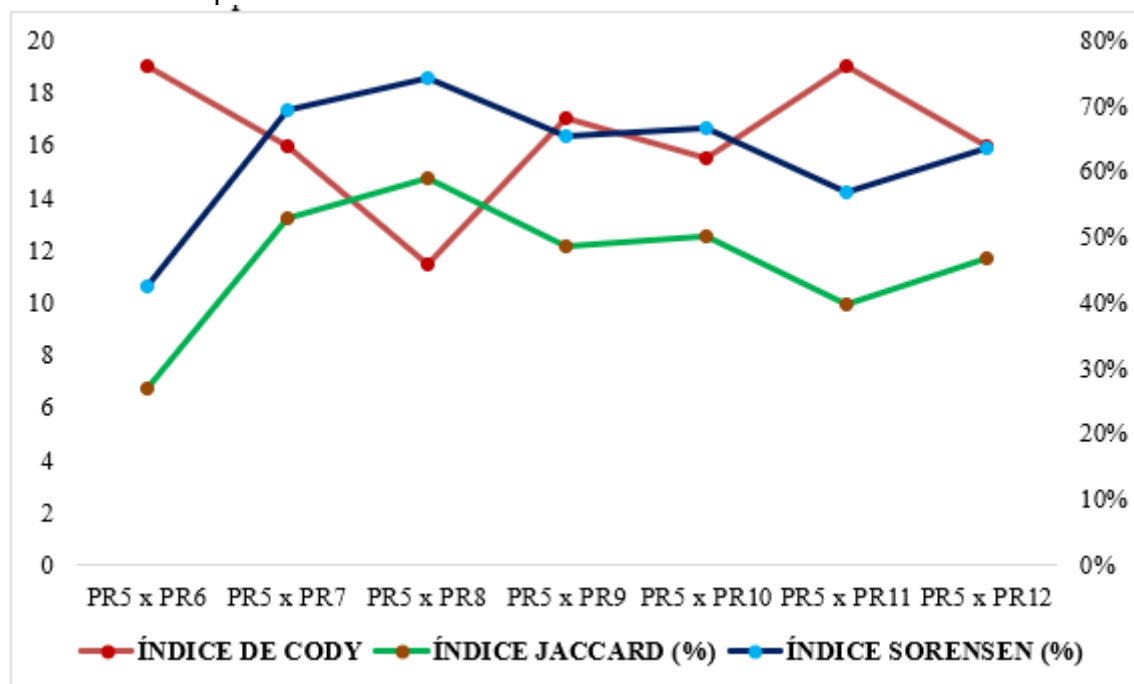
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 15 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR5) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORESENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR5 x PR6	26,92	42,42	19,0
PR5 x PR7	52,94	69,23	16,0
PR5 x PR8	58,93	74,16	11,5
PR5 x PR9	48,48	65,31	17,0
PR5 x PR10	50,00	66,67	15,5
PR5 x PR11	39,68	56,82	19,0
PR5 x PR12	46,67	63,64	16,0

Fonte: O autor, 2022.

Figura 24– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR5 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



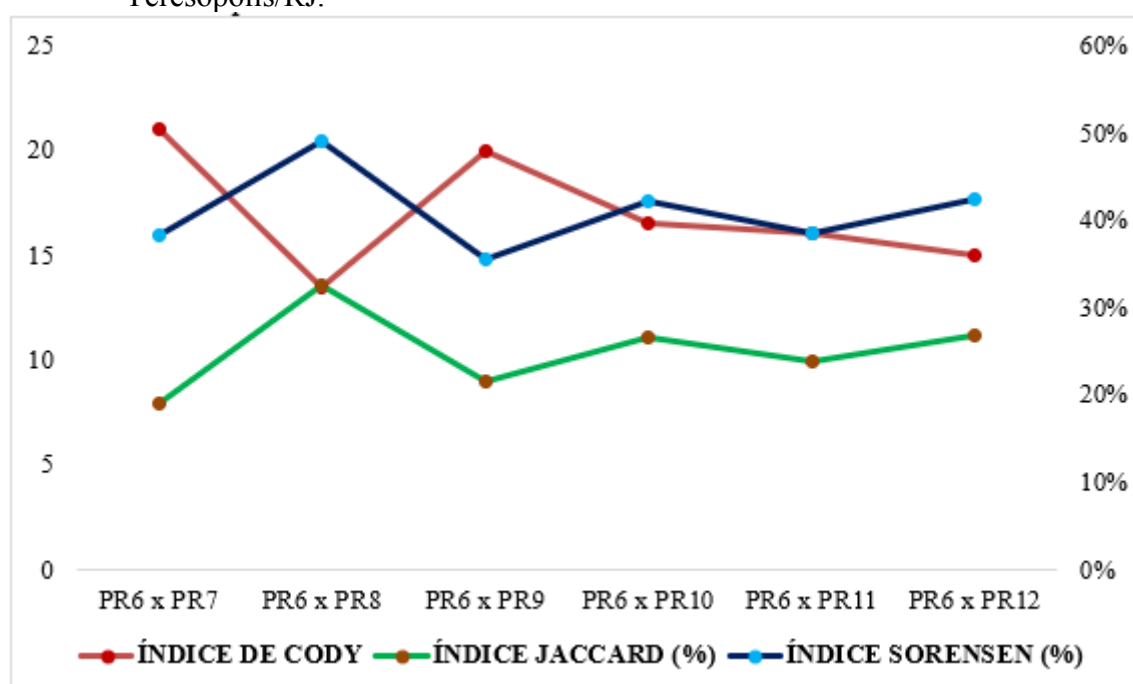
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 16 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR6) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORESENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR6 x PR7	19,12	38,24	21,0
PR6 x PR8	32,50	49,06	13,5
PR6 x PR9	21,57	35,48	20,0
PR6 x PR10	26,67	42,11	16,0
PR6 x PR11	23,81	38,46	16,0
PR6 x PR12	26,83	42,31	15,0

Fonte: O autor, 2022.

Figura 25– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR6 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



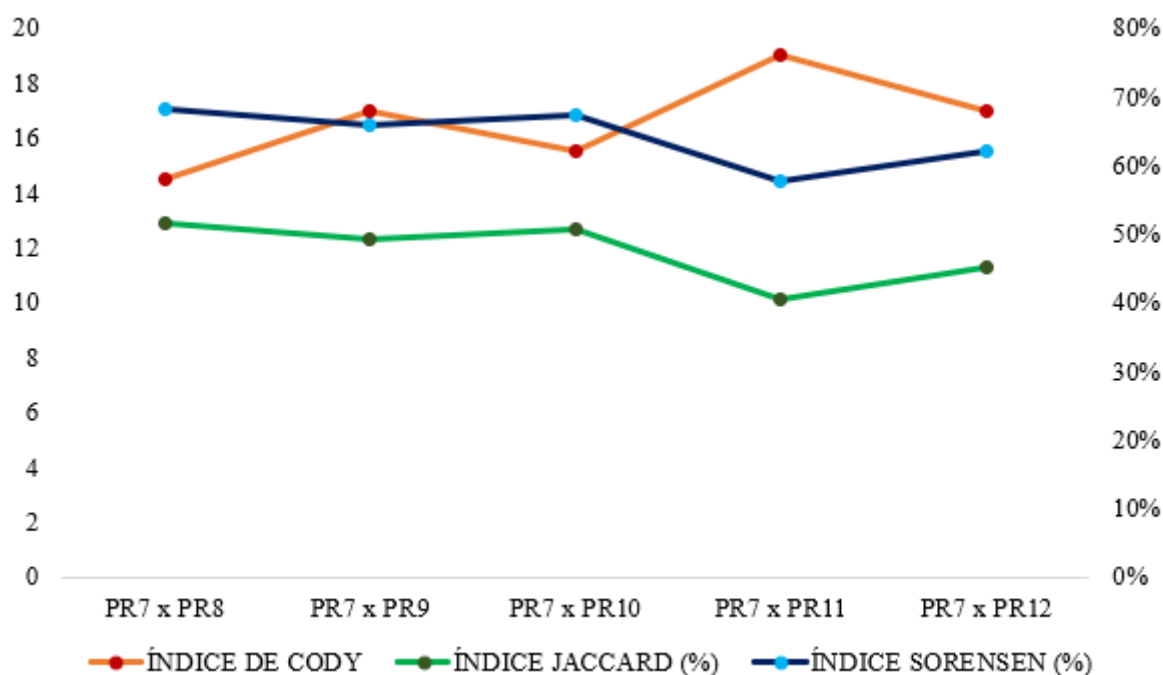
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 17 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR7) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR7 x PR8	51,67	68,13	14,5
PR7 x PR9	49,25	66,00	17,0
PR7 x PR10	50,79	67,37	15,5
PR7 x PR11	40,63	57,78	19,0
PR7 x PR12	45,16	62,22	17,0

Fonte: O autor, 2022.

Figura 26 – Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR7 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



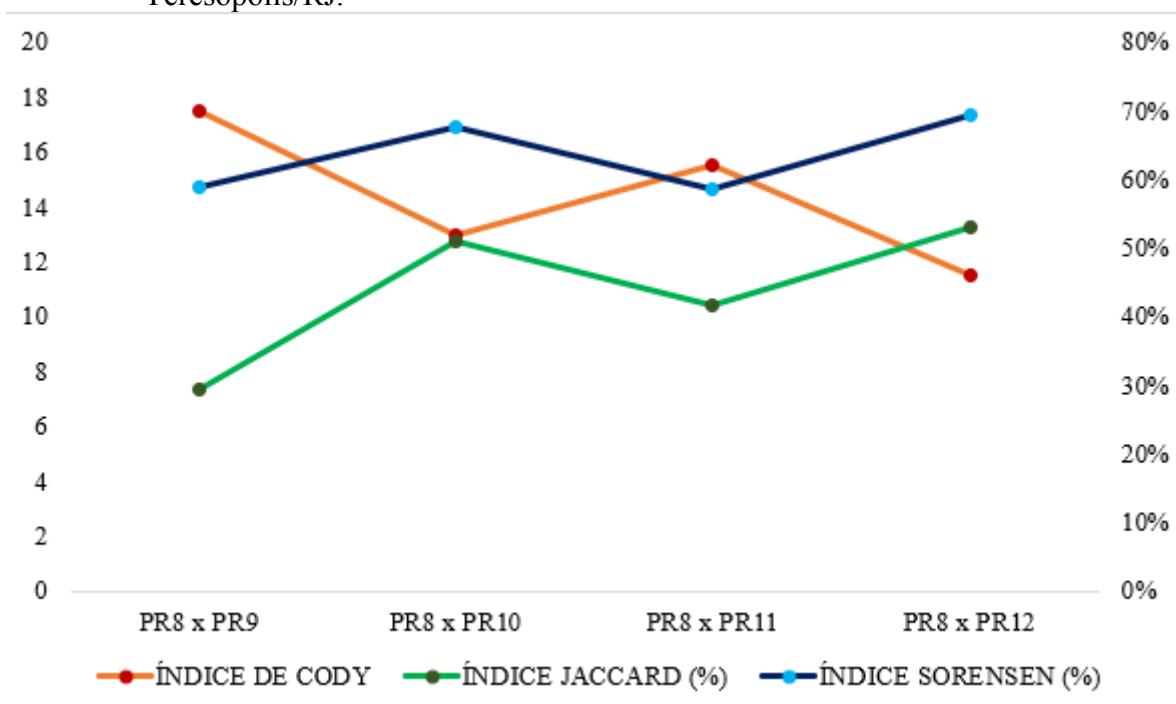
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 18 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR8) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR8 x PR9	29,41	58,82	17,5
PR8 x PR10	50,94	67,50	13,0
PR8 x PR11	41,51	58,67	15,5
PR8 x PR12	53,06	69,33	11,5

Fonte: O autor, 2022.

Figura 27– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR8 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



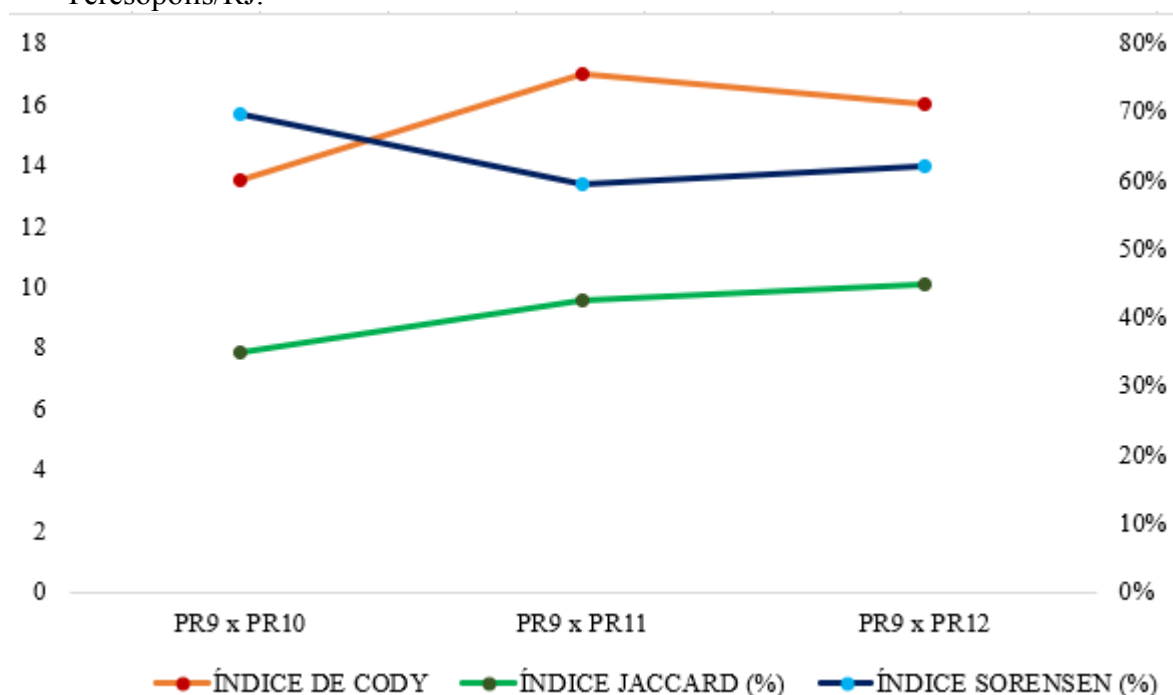
Fonte: O autor, 2022.

Tabela 19 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR9) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR9 x PR10	34,83	69,66	13,5
PR9 x PR11	42,37	59,52	17,0
PR9 x PR12	44,83	61,90	16,0

Fonte: O autor, 2022.

Figura 28– Variação de quimiodiversidade β de *Piper richardiifolium* Kunth da amostra PR9 com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



Fonte: O autor, 2022.

Tabela 20 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR10) com os demais coletadas em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR10 x PR11	43,64	60,76	15,5
PR10 x PR12	49,06	65,82	13,5

Fonte: O autor, 2022.

Tabela 21 – Índices de quimiodiversidade β calculados para as inter-relações entre espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth (PR11) com o espécime PR12.

ESPÉCIME	ÍNDICE JACCARD (%)	ÍNDICE SORENSEN (%)	ÍNDICE DE CODY
PR11xPR12	48,00	64,86	13,0

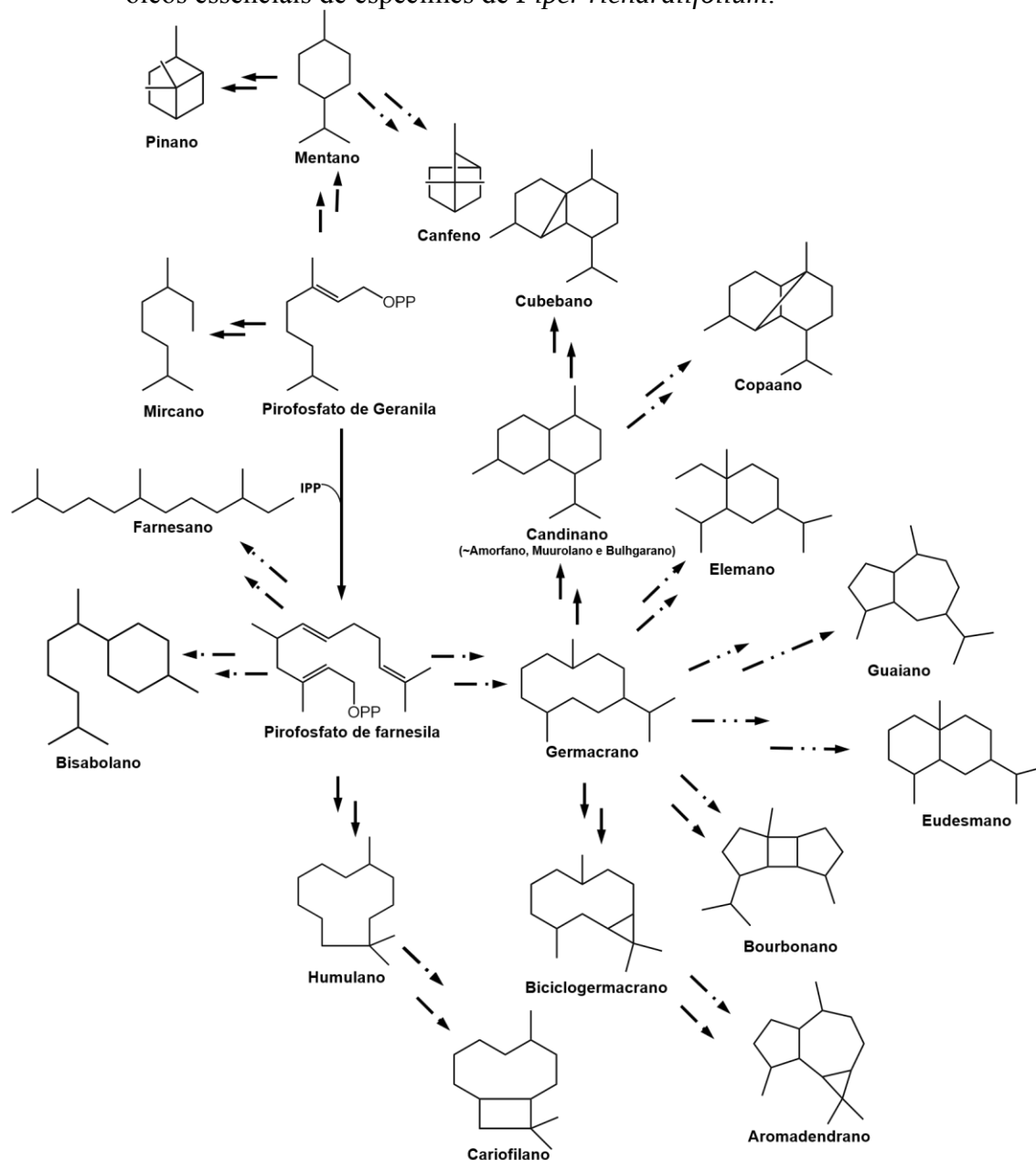
Fonte: O autor, 2022.

4.2.3. Tendências micromoleculares

Possíveis tendências micromoleculares na biossíntese de voláteis de *P. richardiifolium* foram observadas a partir dos esqueletos-C encontrados nos espécimes estudados (FIGURA

25). Pode-se constatar uma possível homogeneidade biossintética das substâncias dos OE dos espécimes. As diferenças majoritárias são em razão de desvios de rotas biossintéticas específicas, promovida pela diferenciação de *dominância* química de determinadas substâncias, enquanto a *diversidade* se mantém próxima.

Figura 29 – Proposta de mapa biossintético dos tipos de esqueleto terpênico identificados nos óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium*.



Fonte: O autor, 2022.

4.2.3.1. Índice de Ramos & Moreira

Tabela 22 – Índices de Ramos & Moreira calculados para os espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth.

Classes	Esqueleto-C	Substâncias	PR1	PR2	PR3	PR4	PR5	PR6	PR7	PR8	PR9	PR10	PR11	PR12
			NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR
MH	Pinano	α -pineno	-29,92	-33,15	0,00	0,00	-12,07	-23,82	-35,91	-27,92	-21,97	-15,84	-20,61	-22,00
MH	Canfano	canfeno	-37,26	-53,62	0,00	0,00	-16,93	-36,86	-51,63	-37,46	-30,64	-20,74	-27,90	-31,55
MH	Pinano	β -pineno	-20,54	-21,66	0,00	-1,15	-6,95	-18,25	-12,48	-19,63	-18,11	-11,66	-16,51	-18,06
MH	Mentano	Limoneno	-5,18	-10,23	-0,59	-1,39	-1,66	-5,42	-3,86	-4,82	-5,74	-3,08	-5,07	-5,75
MH	Mircano	β -ocimeno	-0,78	0,00	-0,43	-0,89	-2,56	-3,54	-2,92	-1,55	-4,63	-1,99	-2,35	-3,82
MH	Mentano	γ -terpineno	0,00	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MH	Mentano	α -terpinoleno	-0,38	-0,78	0,00	0,00	-0,10	0,00	-0,80	0,00	-0,48	0,00	-0,42	-0,46
MH	Mircano	<i>allo</i> -ocimeno	-1,17	-0,72	0,00	-0,26	-0,50	0,00	-1,92	-0,48	-1,25	-0,75	-0,86	-1,14
MO	Mentano	1,8-cineol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MO	Mircano	linalool	0,00	-1,46	0,00	-0,62	-0,15	0,00	-0,69	-0,35	-0,24	-0,42	-0,75	0,00
MO	Pinano	<i>trans</i> -pinocarveol	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MO	Pinano	<i>trans</i> -verbenol	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,23	0,00	0,00	0,00	-0,22	-0,24	0,00	0,00
MO	Pinano	pinocarvona	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,13	0,00	-0,10	0,00	-0,12	-0,07	-0,13	0,00
MO	Canfano	borneol	-0,43	-0,32	0,00	0,00	-1,02	0,00	0,00	-0,73	-0,88	-0,92	-0,94	0,00
MO	Mentano	terpin-4-ol	0,00	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,13	0,00	-0,16	0,00	-0,10	0,00
MO	Mentano	α -terpineol	0,00	-0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MO	Pinano	myrtenol	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MO	Pinano	Verbenona	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,03	-0,06	0,00	0,00
MO	Mentano	<i>trans</i> -carveol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,05	-0,03	0,00	0,00
MO	Mircano	citronelol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MO	Mircano	citronelato de metila	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,11	0,00	0,00	0,00

SH	Aromadendrano	<i>allo</i> -aromadendreno	-6,09	0,00	0,00	-1,17	-1,75	0,00	-1,09	-1,78	-0,14	0,00	0,00	-1,92
SH	Aromadendrano	deidro-aromadendreno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-2,50	0,00
SH	Elemmano	α -elemeno	0,00	0,00	0,00	-0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Aromadendrano	γ -gurjuneno	0,00	0,00	0,00	-4,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Cadinano	γ -muuroleno	0,00	-0,75	0,00	0,00	-1,16	0,00	0,00	0,00	0,00	-2,82	-2,24	-1,86
SH	Germacrano	germacreno D	-0,35	-1,36	0,00	-0,38	-1,66	-1,68	-1,47	-2,58	-2,81	-0,18	0,00	-2,35
SH	Bisabolano	γ -curcumeno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-2,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Eudesmano	β -selineno	0,00	-0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	-1,11
SH	Eudesmano	δ -selineno	0,00	0,00	0,00	-0,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Cadinano	<i>trans</i> -muurola-4(14),5-dieno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-3,07	-2,74	0,00
SH	Aromadendrano	viridifloreno	-1,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Eremofilano	valenceno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-1,16	-0,23	0,00	0,00	-0,32	0,00
SH	Biciclogermacrano	biciclogermacreno	-3,65	0,00	0,00	-12,83	-2,00	-3,69	-3,73	-3,70	-4,22	-6,88	-4,31	-3,75
SH	Cadinano	α -muuroleno	-0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Eudesmano	β -dihidroagarofurano	-5,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Cadinano	δ -amorfenno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,34	0,00
SH	Cadinano	γ -cadineno	-0,26	0,00	0,00	0,00	-0,65	0,00	-0,84	-1,16	-0,63	-1,00	0,00	-0,63
SH	Cadinano	δ -cadineno	-1,86	-1,57	0,00	-5,63	-1,38	-2,09	-2,79	-3,14	-2,67	-4,00	-2,96	-2,79
SH	Cadinano	<i>cis</i> -calameno	-0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SH	Cadinano	cadina-1,4-dieno	0,00	-0,15	0,00	-0,30	-0,09	0,00	-0,26	-0,16	-0,18	-0,26	-0,19	-0,19
SH	Cadinano	α -cadineno	0,00	-0,10	0,00	-0,20	-0,11	0,00	-0,28	-0,21	-0,19	-0,28	-0,21	-0,22

SH	Cadinano	α -calacoreno	-0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,20	0,00	-0,33	0,00	-0,25
SH	Guaiano	guaiazuleno	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,04	0,00	0,00	0,00	-0,04	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	cubebol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,32	0,00	0,00	0,00	-0,35
SO	Eudesmano	cis-diidroagarofurano	0,00	0,00	-66,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Aromadendrano	elemol	-1,99	-4,57	-23,69	0,00	0,00	0,00	-0,10	0,00	0,00	-0,44	0,00	0,00
SO	Farnesano	E-nerolidol	-9,20	-0,72	0,00	-1,27	-0,49	0,00	-0,75	-0,40	-0,78	-0,56	-0,66	-0,62
SO	Aromadendrano	palustrol	-0,93	0,00	0,00	0,00	-0,39	0,00	-0,57	-0,48	-0,63	0,00	0,00	-0,58
SO	Aromadendrano	espatulenol	-1,98	-0,94	-0,84	-9,83	-7,32	-6,47	0,00	-7,61	-7,86	-11,25	-9,83	-9,40
SO	Cariofilano	òxido de cariofileno	0,00	0,00	0,00	-0,43	-0,84	0,00	-0,31	-0,43	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Aromadendrano	globulol	-0,58	-0,32	0,00	0,00	-0,88	0,00	-2,35	-0,53	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Aromadendrano	viridiflorol	-0,18	0,00	0,00	-2,98	-0,34	0,00	-1,30	-0,53	-1,25	-4,12	-0,95	-2,87
SO	Aromadendrano	salvial-4(14)en-1-ona	0,00	-0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Guiano	guaiol	0,00	0,00	0,00	-0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	ledol	-2,98	0,00	0,00	-1,46	0,00	0,00	-2,54	-1,68	-1,72	0,00	-1,92	0,00
SO	Cadinano	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,37	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	-2,53	-0,18	-34,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Copaano	cis- α -copaen-8-ol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-1,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	γ -eudesmol	-0,11	-1,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Aromadendrano	isoespatulenol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-1,03	-0,94
SO	Cadinano	<i>epi</i> - α -cadinol-	-0,37	-0,67	0,00	-1,83	-0,56	0,00	-1,84	-1,19	0,00	-1,58	0,00	-1,10

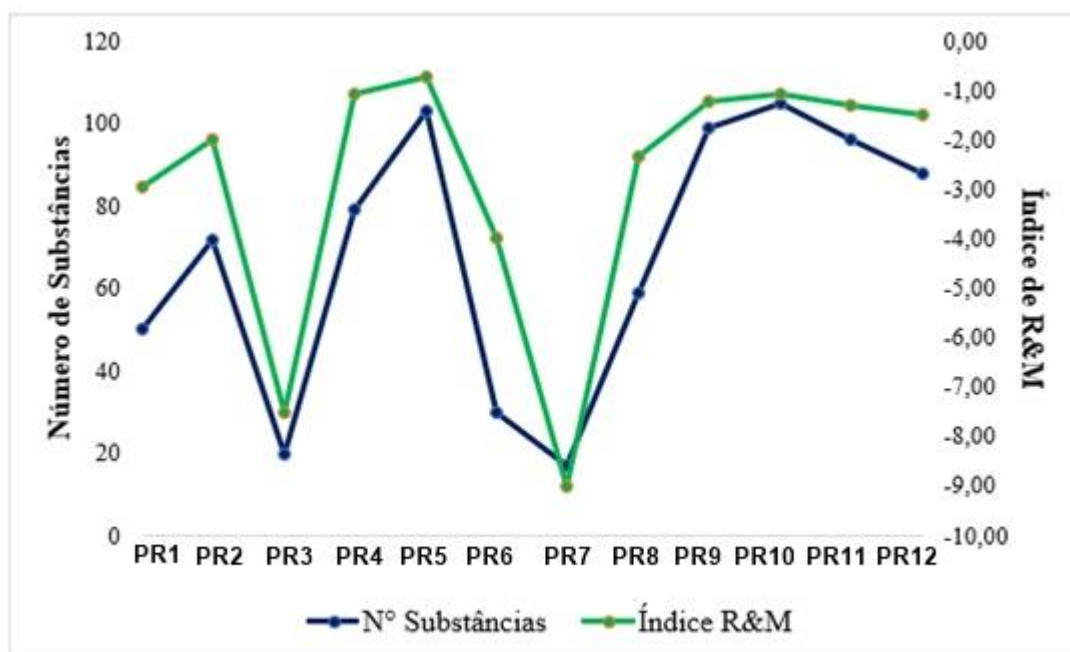
SO	Cariofilano	cario-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,10	0,00	0,00	0,00
SO	Cadinano	<i>epi</i> - α -muurolol	-0,53	-0,35	0,00	-1,04	-0,47	-1,29	-1,52	-1,17	-0,98	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	hinesol	0,00	0,00	-0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Cadinano	α -muurolol	0,00	0,00	0,00	-0,68	0,00	0,00	-0,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	agarospirol	0,00	0,00	-2,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Eudesmano	α -eudesmol	0,00	-3,74	-11,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Cadinano	α -cadinol	-1,76	0,00	0,00	-2,61	0,00	0,00	-3,94	-2,82	-2,66	-1,31	-2,54	-0,90
SO	Eudesmano	7- <i>epi</i> - α -eudesmol	0,00	0,00	-0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Germacrano	germacre-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,55	0,00	0,00
SO	Eudesmano	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Farnesano	<i>Z,Z</i> -farnesol	0,00	0,00	-0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SO	Farnesano	<i>E,Z</i> -farnesol	-1,10	0,00	0,00	-1,70	-0,11	0,00	-0,54	-0,16	-0,18	-0,72	0,00	0,00
SO	Farnesano	<i>Z,E</i> -farnesol	0,00	0,00	0,00	-0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Pentadecanona	pentadecanona-2	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,06	0,00	-0,07	0,00	-0,10	0,00	0,00	0,00
OS	Mentano	sulfóxido de menta	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,07	0,00	-0,04	-0,07	0,00	0,00
OS	Octadecano	octadeceno-1	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Octadecano	<i>n</i> -octadecano	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Farnesano	β -espringeno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,08	-0,19	0,00	0,00

OS	Nonadecano	<i>n</i> -nonadecano	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Farnesano	α -espringeno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,00	0,00	-0,04	0,00	0,00
OS	Mircano	geranil linalool	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,34	0,00	-0,07	0,00	-0,15	-0,16	0,00	0,00
OS	Eicosano	<i>n</i> -eicosano	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Heneicosano	<i>n</i> -heneicosano	0,00	0,00	0,00	-0,02	-0,02	0,00	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Docosano	<i>n</i> -docosano	0,00	0,00	0,00	-0,02	-0,02	-0,02	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OS	Tricosano	<i>n</i> -tricosano	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,00	-0,02		0,00	0,00	0,00	0,00
Soma do N_{OR}			-147,70	-143,15	-149,89	-84,09	-75,54	-119,27	-152,99	-136,49	-122,66	-111,85	-124,68	-131,68
Nº de Substâncias Identificadas			50	72	20	79	103	30	17	59	99	105	96	88
Índice de Ramos & Moreira (GM_{OR})			-2,95	-1,99	-7,49	-1,06	-0,73	-3,98	-9,00	-2,31	-1,24	-1,07	-1,30	-1,50

Fonte: O autor, 2022.

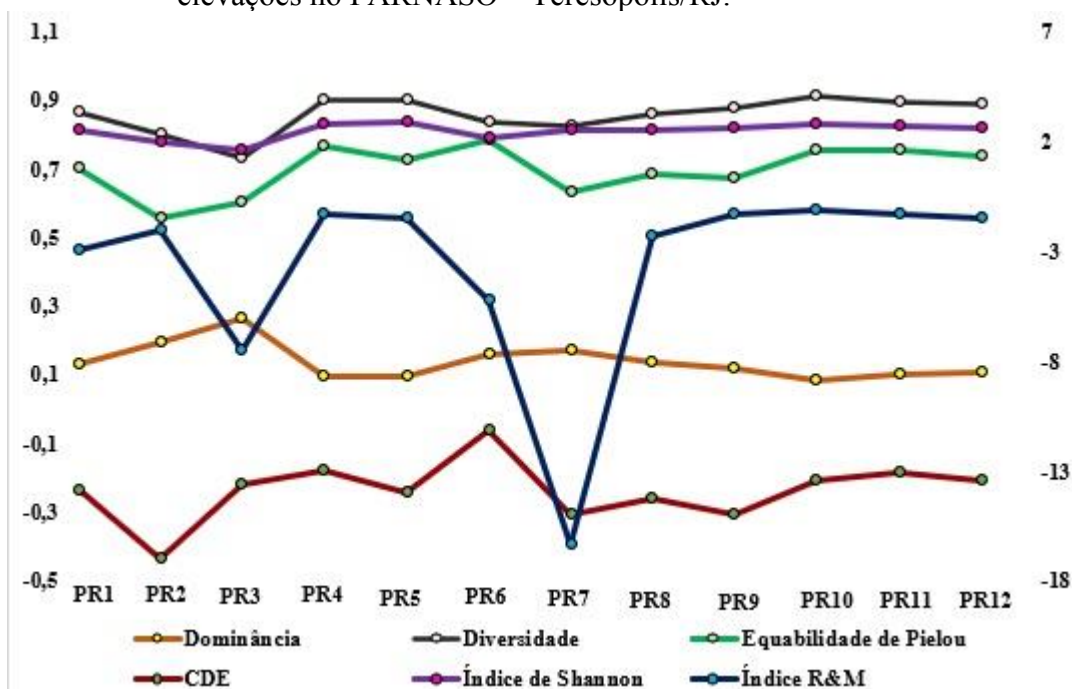
Legenda: MH = Monoterpeno hidrocarboneto; MO = Monoterpeno oxigenado; SH = Sesquiterpeno hidrocarboneto; SO = Sesquiterpeno oxigenado; OS = Outras substâncias

Figura 30 –Variação do índice de Ramos & Moreira e número de substâncias nos óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth em diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.



Fonte: O autor, 2022.

Figura 31 – Resultado dos índices de quimiodiversidade α , índice de Ramos & Moreira (R&M) e Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (C_{DE}) aplicados para o óleo essencial de diferentes espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth de diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

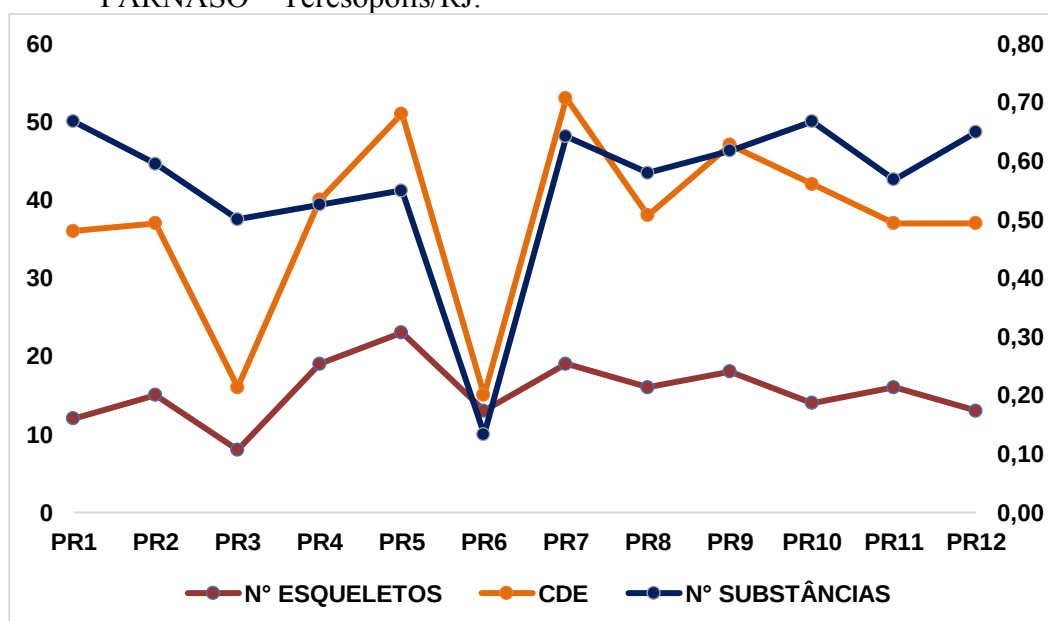


Fonte: O autor, 2022

4.2.3.2. Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (C_{DE})Tabela 23 – Coeficiente de diversificação de esqueletos das substâncias identificadas em óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth.

ESPÉCIME	Nº ESQUELETOS	Nº SUBSTÂNCIAS	CDE
PR1	12	36	0,67
PR2	15	37	0,59
PR3	8	16	0,50
PR4	19	40	0,53
PR5	23	51	0,55
PR6	13	15	0,13
PR7	19	53	0,64
PR8	16	38	0,58
PR9	18	47	0,62
PR10	14	42	0,67
PR11	16	37	0,57
PR12	13	37	0,65

Fonte: O autor, 2022.

Figura 32 – Variação do Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (CDE), número de substâncias e números de esqueletos de carbono dos óleos essenciais de espécimes de *Piper richardiifolium* Kunth de diferentes elevações no PARNASO – Teresópolis/RJ.

Fonte: O autor, 2022.

5. DISCUSSÃO

Os OEs foliares de *P. richardiifolium* apresentaram rendimento comparativamente baixos a outras espécies da família Piperaceae (OLIVEIRA *et al.*, 2013; DA SILVA *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017; RAMOS *et al.*, 2019; SALEHI *et al.*, 2019; RAMOS *et al.*, 2021). Os rendimentos demonstraram variações significativas ($p < 0,001$) ao longo das elevações que, registra pela primeira vez, a composição química dos voláteis dessa espécie. Não é possível realizar uma comparação de rendimento, pois não existem estudos para tal.

A hipótese de equilíbrio de crescimento–diferenciação que estabelece que a aclimação frente às limitações nutricionais, a alocação de estruturas químicas é direcionada para o metabolismo especializado, causando seu acúmulo nas estruturas vegetais, devido à possibilidade desses metabólitos responderem mais eficientemente às variações macro- e microclimáticas (GLYNN *et al.*, 2007). Nesta concepção, o aumento da capacidade de diversificação de estruturas químicas no metabolismo das espécies pode dispor de diferentes possibilidades químico-interativas para uma aclimação homeostática.

Em estudo realizado em espécimes de *Juniperus rigida* Siebold & Zucc. (Cupressaceae) em diferentes elevações (838 – 2.340 m), os espécimes encontrados em médias e grandes elevações (2.112 – 2.280 m) apresentaram maior rendimento de OE. Àqueles de elevação mais baixas (1.073 – 1.203 m) apresentaram menor rendimento (FENG *et al.*, 2021). No entanto, é inviável comparar as respostas intraespecíficas de uma gimnosperma com uma angiosperma, visto que a diferença metabólica entre essas duas classes de organismos pode ser significativa no que tange sua plasticidade fenotípica química.

Evidências apontam que as espécies tendem a apresentar rendimentos dependentes do estágio de ciclo reprodutivo, devido às diferenças de gasto energético necessário para desempenhar seus ritmos fisiológicos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; FIGUEIREDO *et al.*, 2008). Nesta Dissertação foi observada uma fraca correlação positiva do rendimento dos OEs com o período reprodutivo de *P. richardiifolium*. Apesar da química floral ser reconhecida como a grande responsável pela atração de polinizadores, o aumento da quantidade de substâncias voláteis nas folhas também pode auxiliar na interação com outros organismos que favoreçam atividades benéficas para o organismo em questão. Esse fato pode explicar o maior rendimento dos OEs no período reprodutivo da planta estudada (SCHIESTL, 2010; ADDLER *et al.*, 2012).

Podem ocorrer alterações no acúmulo de OEs por mecanismos extrínsecos, como a evaporação induzida pelos aumentos da temperatura; e mecanismos intrínsecos, como

alteração de condutância estomática, fotossíntese e taxa de assimilação de CO₂ (SANGWAN *et al.*, 2001; MATTANA *et al.*, 2010; REHMAN *et al.*, 2016; FAN *et al.*, 2018). Foi observada uma correlação positiva do rendimento dos OEs com a dominância das amostras ($p < 0,05$), demonstrando que, possivelmente, quanto menos substâncias forem produzidas pelo organismo, maior será a disposição energética para concentrar substâncias alvo específicas.

As flutuações de diversidade e dominância das amostras em menor elevação foi constatado até 1330 m. Maior diversidade química foi observada em elevações maiores. Esse efeito da elevação na diversidade química pode ser explicado, em parte, pelo fato de os parâmetros ambientais apresentarem grandes mudanças em maiores elevações, principalmente, em termos de pressão atmosférica (KÖRNER, 2007). Climas rigorosos e que apresentam maior variação de fatores microclimáticos, consequentemente, refletem uma maior produtividade metabólica para garantir a biossíntese de substâncias capazes de favorecer a homeostase e diminuir os impactos da heterogeneidade ambiental do habitat.

Apesar da escassez de informações relacionadas à *P. richardiifolium*, a composição química dos OEs de diferentes espécies pertencentes ao clado *Macrostachys*, de acordo com a classificação adotada por Jaramillo *et al.*, (2008), é descrita em alguns artigos. A espécie *Piper arboreum*, por exemplo, apresenta espécimes com alto teor de β -cariofileno (25,1%), germacreno D (9,6%) e biciclogermacreno (49,5%) na composição dos voláteis foliares, enquanto nas inflorescências há teor percentual maior de β -elemeno (5,3%), β -cariofileno (6,6%) e germacreno D (49,3%) (NAVICKIENE *et al.*, 2006). Já para espécimes avaliados em outras regiões geográficas, é possível observar uma mudança na composição dos voláteis foliares para essa espécie, por exemplo, alto teor de biciclogermacreno (12,1%), espatulenol (8,4%) e óxido de cariofileno (10,2%) na região de Brasília/DF; e β -pineno (6,6%), α -copaeno (7,4%), germacreno D (5,3%) e δ -cadineno (25,8%) para outro espécime analisado em Chepo/PR (BERNUCI *et al.*, 2016).

A plasticidade química das espécies de Piperaceae pertencentes a este clado são evidentes, principalmente com os estudos de *Piper cernuum* em diferentes localidades. Para os OEs de folhas, tem-se os seguintes majoritários:

- **São Paulo/SP** - α -pineno (7,2%), β -pineno (6,2%), β -cariofileno (20,7%), germacreno D (6,7%) e biciclogermacreno (21,9%) (CONSTANTIN *et al.*, 2001);
- **Bahia/Brasil** - β -elemeno (11,6%), β -cariofileno (8,3%), *cis*- β -guaiano (8,2%), γ -muuroleno (7,6%), *epi*-cubebol (13,1%), espatulenol (9,6%) e óxido de cariofileno (7,7%) (ASSIS *et al.*, 2013);

- **Cubatão/SP** β -elemeno (30,0%), β -cariofileno (16,3%), germacreno D (12,7%) e biciclogermacreno (19,9%) (CAPPELO *et al.*, 2015);
- **Rio de Janeiro/RJ** α -pineno (10,2%), canfeno (5,3%), β -pineno (7,4%), *cis*-diidroagarofurano (32,3%) e elemol (6,7%) (TORQUILHO *et al.*, 2000).

Como abordado na introdução desta Dissertação, algumas espécies morfológicamente similares à *P. richardiifolium* possuem a composição química de seus OEs elucidados. Apenas um estudo apresentado por TRINDADE *et al.* (2014) constatou a composição dos OEs das folhas, inflorescências e caules de *P. truncatum*. As **folhas** apresentaram um perfil rico em β -cariofileno (24,2%), germacreno D (11,1%) e *E*-nerolidol (10,5%); **inflorescências** em germacreno D (56,0%), α -farneseno (10,4%), canfeno (10,3%) e α -pineno (5,2%); e **caules** em α -cadinol (9,0%), 1,10-di-*epi*-cubenol (7,2%), *E*-nerolidol (6,2%), germacreno D (5,1%) e γ -cadineno (4,5%) (TORQUILHO *et al.*, 2000).

Análise dos OEs de *P. richardiifolium* demonstra diferenças marcantes em relação às outras espécies do claro *Macrostachys*, principalmente, em relação aos teores percentuais elevados de monoterpenos, notadamente, α -pineno, β -pineno e canfeno (TORQUILHO *et al.*, 2000; CONSTANTIN *et al.*, 2001; ASSIS *et al.*, 2013; TRINDADE *et al.*, 2014; CAPPELO *et al.*, 2015). Portanto, os resultados deste trabalho podem ser úteis para diferenciação taxonômica das espécies morfológicamente similares à *P. richardiifolium*. Porém, deve-se pensar em acumular mais informações acerca da composição química volátil dessa espécie no tempo e no espaço, como por exemplo, ciclos de estudos de tempo curto (24h) e longo (24 meses) e outras regiões do bioma Mata Atlântica, assim como estudos em outros biomas.

De acordo com FERNANDES *et al.*, (2022), as diminuições na riqueza de espécies observadas em elevações acima de 1.500 m são justificadas pela tendência das temperaturas diminuírem em elevações mais altas, que acabam por gerar um ambiente pouco tolerante dependendo da espécie. Mesmo com um sistema vascular, temperaturas muito baixas podem afetar os vasos do xilema e impedir a condução da água, gerando estresse hídrico. As variações de temperatura, precipitação e umidade influenciam na atividade dos estômatos, estruturas responsáveis majoritariamente pelo mecanismo de controle de trocas gasosas e processos fotossintéticos. Como demonstrado por JACINTO *et al.*, (2018) em *Piper aduncum* L., apesar de diversas espécies de Piperaceae serem plásticas e conseguirem se adaptar à diferentes ecossistemas, a variação da disponibilidade e tensão de água no solo, além de alteraram atividade estomática, também alteram a produção das células idioblásticas nas folhas, que refletem na produção de OEs nessa família

Neste estudo não foi encontrada uma correlação da composição dos micronutrientes do solo com a composição química das substâncias identificadas em *P. richardiifolium*, exceto correlação positiva da matéria orgânica com a classe dos monoterpenos oxigenados ($p < 0,05$). Apesar da composição do solo influenciar na composição química das plantas (RAMOS *et al.*, 2020), a ausência de correlação da composição química da espécie com os micronutrientes do solo demonstra que *P. richardiifolium* não sofre influência de variáveis edáficas.

Análises multivariadas por ACP demonstraram uma homogeneidade da química inter-espécimes de *P. richardiifolium* na área estudada do PARNASO. Essa homogeneidade química pode corroborar com uma possível *harmonização sincrônica populacional*. Apesar dos efeitos pleiotrópicos, a diversificação e produção de metabólitos especiais ainda pode ser relativamente livre de limitações, devido aos custos de produção mais baixos, associados aos traços ambientais, estruturais e fenológicos (CAI *et al.*, 2016). Desta forma, os metabólitos secundários de uma população podem conglomerar e criar uma homogeneidade química em um determinado tempo e espaço geográfico, desde que o espécime tenha a possibilidade de ativação da rota biossintética em questão. No caso em estudo, é muito interessante esse registro de sincronia química para 10 dos 12 indivíduos, o que demonstra que *P. richardiifolium* parece não sofrer alterações em sua química devido a fatores climáticos e de elevação. Esse fato não é novidade em resultados prévios descritos pelo grupo. Por exemplo, *Piper rivinoides* Kunth possui química volátil muito similar em 12 meses de estudo em dois fragmentos de Mata Atlântica (FELISBERTO *et al.*, 2022). No entanto, é esperado para espécies de Piperaceae da Mata Atlântica grande diversidade fenotípica química (RAMOS *et al.*, 2018; RAMOS *et al.*, 2021) Uma hipótese reside no fato de possíveis quimiotipos para essa espécie, uma vez que na ACP houve uma separação clara dos espécimes PR3 e PR4, que são ricos em sesquiterpenos. É constatado uma vasta literatura científica acerca dos quimiotipos e a plasticidade fenotípica química de espécies de Piperaceae, tais como *Piper aduncum* e *Piper mollicomum* que apresentam elevada plasticidade (RAMOS, 2018). No entanto, conceitualmente, é necessário que o espécime apresente as mesmas características químicas mesmo quando cultivado em ambientes diferentes de seu habitat natural para ser definido como um quimiotipo, sendo necessário, portanto, mais estudos que visem o cultivo e identificação de voláteis desta espécie.

Outra hipótese reside no fato de padrões associados à presença de herbívoros e polinizadores locais que podem ser diferentes em cada sítio de coleta. Entre as amostras, o espécime PR3 apresentou uma elevação no teor de *E*-nerolidol, que exerce um papel

importante na proteção contra predadores por induzir a formação do 4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno (DMNT), principal substância responsável pela atração de predadores de herbívoros (PINTO-ZEVALLOS *et al.*, 2013). Em estudo conduzido por CHEN *et al.* (2020) foi comprovado um mecanismo molecular de indução de *E*-nerolidol como um sinalizador de resistência à patógenos e herbívoros em *Camellia sinensis* L. (Theaceae). Portanto, a alteração do padrão metabólico direcionado para esqueletos de sesquiterpenos pode estar associado à um padrão de resposta de *P. richardiifolium* à herbívoros locais.

Além disso, sesquiterpenos possuem uma capacidade maior de apresentar centros enantioméricos em suas estruturas quando comparados com os monoterpenos. Pequenas alterações enantioméricas e estruturais, levando à formação de isômeros químicos, pode propiciar uma diferenciação química sutil entre as espécies, mas capaz de assegurar elevado grau de diferenciação (WICKER-THOMAS *et al.*, 2011; HEMBRY & WEBER, 2020). Estudos apontam como formas enantioméricas de um mesmo esqueleto podem dispor diferentes funções e características, inclusive sensoriais, para os organismos (WICKER-THOMAS *et al.*, 2011; BLOUNT & COPPOLA, 2020).

É amplamente descrito como as enzimas terpenos sintases não possuem seletividade para produção de substâncias específicas, a partir de um mesmo esqueleto, apesar da grande diversificação estrutural encontrada nas espécies (SAYURI *et al.*, 2010; VATTEKKATTE & BOLAND, 2020). Foi observada uma correlação positiva ($p < 0,05$) da diversidade das amostras com sesquiterpenos, evidenciando uma possível capacidade de diversificação de estruturas e geração de moléculas enantioméricas suficientes para conduzirem um processo de diversidade molecular robusta em misturas complexas. Concomitantemente à diversidade, foi observada outra correlação positiva ($p < 0,05$) do C_{DE} com sesquiterpenos, evidenciando a importância desta classe de voláteis na capacidade de diversificação de estruturas químicas em misturas complexas.

Os resultados obtidos demonstram uma homeostase redutiva-oxidativa (REDOX), de acordo com o índice de R&M, em maiores elevações do PARNASO (1.450 – 1600 m), enquanto nas mais baixas elevações foi constatado uma maior flutuação REDOX das misturas de OEs. Cabe ressaltar que todos os valores de índice de R&M demonstraram-se negativos, ou seja, as misturas são reduzidas. Estes resultados lançam à luz do conhecimento a Teoria REDOX de GOTTLIEB (1989), que implica que a evolução de micromoléculas está associada à reatividade dos metabólitos em utilizar mecanismos de oxidação. Naturalmente, os dados apresentados compreendem um recorte de espaço-tempo de uma química estática,

enquanto para comprovação desta capacidade metabólica é necessária uma análise e metodologia dinâmica de curto (ciclos de 24h) ou longo prazo (sazonalidade mensal).

Foi possível observar, também, uma associação do número de substâncias com a capacidade REDOX dos espécimes avaliados, ou seja, *quanto maior o número de substâncias produzidas por um espécime, maior será sua capacidade de manter um equilíbrio REDOX*. Dessa forma, a capacidade de diversificação de esqueletos terpênicos é imprescindível para garantir a presença de estruturas químicas minoritárias capazes de realizarem reações de captura de espécies radicalares para manter a homeostasia.

Na perspectiva de as estruturas minoritárias desempenharem uma possível atividade no equilíbrio REDOX, a capacidade de diversificação estrutural deve ser avaliada e pode ser uma das possíveis utilizações do índice desenvolvido nesta Dissertação (CD_E). Avaliar a homogeneidade dos esqueletos terpênicos e compará-los com a diversidade de substâncias presentes (comparação de similaridade química com quimiodiversidade β) é uma possível ferramenta para investigar a complexidade metabólica associada às espécies e as rotas prioritárias traçadas pelos organismos para a definição de cada quimiotipo possível. Naturalmente, a constatação da aplicabilidade e utilização do CD_E para uma definição quantitativa desses conceitos abordados foge apenas do espectro espacial, que foi o principal alvo de estudo desta Dissertação, mas também é englobado na perspectiva temporal para avaliar a sincronicidade metabólica associada a curtos períodos de tempos, tais como análises circadianas (constatação de cronotipos), quanto para análises de longo prazo para avaliação da plasticidade.

Estudo de Abbas *et al.*, (2022), comprovou um mecanismo de adaptação genética às elevações por meio da alteração de sensibilidade ao oxigênio presente no ecossistema. A adaptação de mamíferos a diferentes elevações envolve mutações de componentes associados à indução de hipóxia no sistema de sensibilidade ao oxigênio, enquanto as plantas fazem uso de um mecanismo completamente diferente, que é associado à sensibilidade de captação de oxigênio (BEALL, 2014; LORENZO *et al.*, 2014; HOLDSWORTH & GIBBS, 2020). Desta forma, estudos em plantas avaliam hipóteses de que rotas biossintéticas de plantas que fazem uso do oxigênio estão sob pressão evolutiva em locais de maiores elevações, tais como a formação da clorofila que está relacionada com os anéis tetrapirrólicos, que é dependente do oxigênio para ser formado (ABBAS *et al.*, 2022).

Esse processo de sensibilidade de captação de oxigênio envolve mecanismos químicos complexos, fazendo-se necessária a avaliação dos padrões de oxidação molecular frente à capacidade de diversificação estrutural dos esqueletos associados aos espécimes. É possível

observar que as respostas plotadas no gráfico do C_{DE} para a amostra PR3 são semelhantes às do gráfico do índice de R&M (o índice para PR3 é em torno de -7), o que evidencia uma possível relação entre os dois índices e aponta que, quanto mais substâncias forem produzidas a partir da diversificação, mais reduzidas as substâncias serão nas amostras. Para a amostra PR7 o C_{DE} demonstrou-se elevado, e a mistura dessa amostra encontra-se bastante reduzida, o que corrobora com o especulado C_{DE} vs. R&M. No entanto, deve-se considerar nessas análises sempre o número de substâncias presentes na amostra, e não somente a diversificação de esqueletos *per se*.

Apesar de haver estudos descrevendo que substâncias voláteis como α -tujona, cânfora e isovalerato de geranila apresentam variações frente a diferentes elevações, neste trabalho, para as substâncias identificadas nos OEs de *P. richardiifolium*, não foi encontrada nenhuma correlação significativa em relação à composição química dos espécimes com a elevação. A falta de correlação direta das substâncias com a elevação pode ser devido à uma pequena variação de elevação (~ 600 m). Os estudos que observam variações químicas em função da elevação o fazem em diferenças de elevação de pelo menos 1.000 m (SEVERINO *et al.*, 2007; SUPRASANNA & VARIYAR, 2013; NÉMETH & HUONG THI NGUYEN, 2020; NATARAJ *et al.*, 2022)

O aumento de elevação leva à uma mudança de padrões associados à herbivoria, visto que a riqueza de espécies herbívoras, como os da ordem Orthoptera, tendem a diminuir, como é observado nos alpes centrais (PITTELOUD *et al.*, 2020). Dessa forma, a diminuição da pressão pela herbivoria, teoricamente levaria à uma diminuição da produção de metabólitos especiais vinculados à repelência e defesa contra herbívoros, como é postulado pela Teoria da Defesa Ótima (PELLISSIER *et al.*, 2012). Contudo, há uma série de padrões macro e microclimáticos associados à aclimação das espécies em regiões de alta pressão evolutiva, sendo importante avaliar outros processos estressores ao metabolismo especial de plantas e avaliar sua performance biossintética em diferentes escalas temporais (dias-semanas-meses-anos).

A quantificação da diversidade de espécies em amostras ecológicas em diferentes escalas biogeográficas não é um problema trivial, pois diversidade é uma variável multidimensional e dependente de escala quantitativa que corrobora com múltiplas espécies simultaneamente, e que muda de acordo com o tamanho amostral e escala espacial (CHASE *et al.*, 2018). Nesta perspectiva, é válida a discussão acerca de possíveis comunicações inter-espécies e como a heterogeneidade de espécies associadas em uma escala geográfica pode influenciar na química das demais. Estudos de quimiodiversidade γ são de extrema relevância

para avaliar o papel de comunidades de plantas. A correlação positiva observada para o rendimento dos OEs com a dominância da mistura cria perguntas acerca da aplicabilidade deste índice dos mecanismos metabólicos que os espécimes utilizam para se aclimatar e responder aos fatores estressores no ecossistema em questão. Para uma determinada espécie, o que compreenderia uma maior vantagem evolutiva? Uma diversidade maior de substâncias produzidas, representando um metabolismo sem seletividade, ou uma dominância maior, concentrado as substâncias majoritárias e direcionamento os metabólitos para rotas seletivas específicas? Nesta concepção, ambas as alternativas são viáveis para manutenção das espécies e podem auxiliar na comunicação intra e inter-específica com o ecossistema associado. Como mencionado anteriormente na introdução, o ruído químico oriundo de diversas informações emitidas por espécies pode propiciar uma rede de camuflagem que protege uma população de um padrão associado de herbivoria.

Nesta perspectiva de comunicação populacional, considerando que plantas são organismos não-estáticos, a possibilidade de um espécime poder variar sua composição química e balancear as características de dominância e diversidade de suas misturas em uma escala temporal, a fim de garantir maior adaptabilidade às pressões abióticas no habitat, evidencia o papel importante que comunidades de plantas tem na escala evolutiva (KESSLER & KALSKE, 2018). Uma possível evidência encontrada nesta Dissertação é a sincronicidade química da diversidade e dominância das amostras na região geográfica analisada. Apesar de haver distinção química entre possíveis quimiotipos, os valores desses índices se mantêm homogêneos e balanceados em diferentes microclimas, composições de solo e diferentes elevações.

Acerca da similaridade química observada entre os espécimes avaliados, é possível registrar que há baixa semelhança (maioria < 70%) dos constituintes químicos presentes nos OEs de *P. richardiifolium*. Estes dados corroboram com a perspectiva de que cada espécime terá um processo de aclimação diferente por realizar desvios das rotas biossintéticas, devido às diferentes variáveis heterogêneas presentes em um mesmo espaço geográfico. Quando a similaridade química inter-espécimes é avaliada com os valores de diversidade e dominância entre as mesmas, observa-se que apesar da baixa similaridade química, há uma homogeneidade da diversidade e dominância entre as amostras. Esse fato evidencia que a fisiologia dos espécimes possivelmente tende à homeostase dessas características químicas, independentemente das substâncias produzidas a partir da diversificação dos esqueletos presentes no metabolismo.

A baixa similaridade química entre as amostras é reforçada, principalmente, pelas substâncias minoritárias presentes nas misturas, fazendo com que a interpretação desse índice de quimiodiversidade β possa ser feita de maneira equivocada, quando não utilizado em conjunto com uma análise observacional, ou, ainda, utilizado comparativamente com outro índice aplicado. A aplicabilidade do índice de quimiodiversidade β em misturas complexas levanta a hipótese de qual é a principal característica que uma população tem que possuir para ser considerada similar e homogênea em termos de constituintes químicos: a diversidade (*i.e.* substâncias minoritárias) ou a dominância (*i.e.* substâncias majoritárias)? Para responder a essa pergunta, o mais adequado seria a avaliação do metabolismo, assim como dos esqueletos biossintéticos utilizados para a biossíntese das substâncias minoritárias. Nesse trabalho foi possível observar um padrão micromolecular biossintético associado aos espécimes, sendo possível corroborar com a afirmação que, apesar da baixa similaridade apresentada pelo índice de quimiodiversidade β , em termos de metabolismo, os espécimes se demonstram homogêneos (índices de R&M e CD_E).

Considerando a escassez de informações acerca da espécie e haver poucos estudos que contemplem quimiodiversidade e tendências micromoleculares em diferentes elevações, é válida a discussão das vantagens e desvantagens dos índices utilizados, com o intuito de mensurar a quimiodiversidade intra e inter-espécimes (FENG *et al.*, 2021). Devido à esta escassez de informações, os próximos parágrafos serão uma discussão crítica acerca da utilização conceitual desses índices aplicados à estudos químico-ecológicos.

Nenhuma medida será sempre apropriada e, concomitantemente, respostas isoladas dos índices podem levar à interpretações equivocadas, devido às diferentes formas interpretativas que as medidas exploratórias podem proporcionar (diversidade, riqueza, dominância e diferença de substâncias).

O índice de Simpson investiga a diversidade relativa proporcional à dominância das substâncias presentes em uma mistura complexa, tornando-o interessante de se investigar a quimiodiversidade de uma determinada mistura. Entretanto, em misturas complexas como os OEs, os resultados do índice são fortemente afetados pela presença de substâncias minoritárias ($1 \geq 5\%$) e/ou substâncias traço ($\leq 1\%$), pois estas representarão, naturalmente, alta diversidade intrínseca que resulta na diluição da dominância das substâncias.

O índice de diversidade de Shannon, também conhecido como índice da bagunça, responde sensivelmente a amostras altamente diversas com distribuições irregulares de teores na mistura. Por conseguinte, os teores de substâncias minoritárias e substâncias traços não trarão um impacto significativo na mensuração de diversidade química presente no espécime.

Adicionalmente ao índice de diversidade de Shannon, o índice de Pielou (*i.e.* equitabilidade de Pielou) promove a igualdade em relação ao padrão de distribuição das substâncias na amostra, visto que para o cálculo é necessário considerar o índice de Shannon máximo que é possível de se identificar na amostra e trazer para valores reais comparativos com o índice de Shannon calculado na amostra original.

Os índices de quimiodiversidade α aplicados às misturas complexas como OEs representam uma interface comparativa interessante para se obter respostas distintas acerca de seus constituintes. Apesar do índice de diversidade de Shannon e a equitabilidade de Pielou ajustarem os valores atribuindo escalas diferentes a depender da dominância da substância, amostras com alta riqueza de substâncias e alta diversidade frente a uma dominância desproporcional podem fornecer valores adequados, mas que não contemplam a diversidade real da amostragem.

As variações intra-espécimes mensuradas pelos índices de quimiodiversidade α , podem promover resultados interessantes para avaliar como um espécime varia comparativamente a outra. No entanto, a análise comparativa dos resultados aplicados desses índices não pode ser utilizada para inferir similaridades. Os índices de quimiodiversidade β fornecerão respostas objetivas sobre o nível de semelhança entre duas ou mais comunidades, levando em consideração as substâncias presentes na amostra.

Todos os cálculos de quimiodiversidade β levam em consideração a mesma matriz de dados, avaliando-se o número de substâncias presentes em cada amostra e o número de substância iguais identificadas em ambas. Contudo, apesar de demonstrar similaridades entre os espécimes, o índice de Jaccard não leva em consideração a similaridade referente à dominância das substâncias na amostra, visto que a matriz compreende apenas presença e ausência das substâncias. Esses dados podem levar à indução de interpretações erradas a respeito da composição majoritária das substâncias quando os cálculos de quimiodiversidade β são aplicados sem os índices de quimiodiversidade α . No entanto, apesar de não compreender a composição de majoritários, o índice auxilia na elucidação de rotas biossintéticas semelhantes entre os espécimes, facilitando a segregação de possíveis quimiotipos e genótipos.

Uma desvantagem do índice de Jaccard é a alta sensibilidade ao tamanho dos dados, fazendo com que grandes conjuntos de dados tenham elevado impacto no índice. Entretanto, no índice de Sorensen utilizam-se as mesmas variáveis presentes no índice de Jaccard, no entanto, Sorensen atribui maior peso para a presença das substâncias na amostra do que para os dados de ausência. Essa metodologia é mais conveniente quando aplicada à misturas

complexa como OEs, em que ocorre uma elevada riqueza de constituintes na amostra, fazendo com que os dados de ausência em amostras muito diversas não diminua de maneira significativa o valor do índice. No entanto, a metodologia de Sorensen pode exagerar na importância do conjunto de dados com poucas substâncias similares.

A desvantagem dos índices de quimiodiversidade α e β é inerente à impossibilidade de realizar análises comparativas dos valores absolutos obtidos com os valores encontrados em outros possíveis estudos, mesmo que estes tenham sido realizados com as mesmas espécies ou espécies. A justificativa para essa impossibilidade é a sensibilidade desses índices aos fatores ilicitantes avaliados em estudos químico-ecológicos, inviabilizando a comparação dos índices com diferentes estudos realizados em ecossistemas complexos que não permitem o controle e padronização de fatores bióticos e abióticos.

Devido à impossibilidade de se realizar análises comparativas dos valores obtidos nos índices com outros estudos, os resultados obtidos pelo cálculo dos índices de quimiodiversidade aplicados devem ser comparados apenas entre as espécies e espécimes avaliadas no estudo. A análise comparativa restrita às espécies avaliadas permite a caracterização fidedigna dos resultados obtidos para as espécies em diferentes escalas geográficas e temporais. Dessa forma, é possível minimizar a probabilidade de erro estatístico e de identificação das substâncias que podem ocorrer quando dois operadores distintos realizam as análises, permitindo assim, padronização e maior uniformidade dos resultados obtidos.

Para avaliar os padrões moleculares a partir de esqueletos-C evidenciados nos cálculos de quimiodiversidade α e β , o C_{DE} , índice desenvolvido nesta Dissertação, é útil pois permite avaliar as particularidades biossintéticas ocorridas em indivíduos ou grupos de plantas. Analogamente, o índice não reflete a diversidade em número de substâncias produzidas, mas sim diversificadas. Em contraste, o valor real do C_{DE} é independente da unidade em que a medição foi feita, então é um número adimensional. Para comparação entre conjuntos de dados com diferentes unidades ou médias muito diferentes, este se tornará uma ótima estratégia, principalmente, se usado para analisar os diferentes padrões de quimiodiversidade.

No entanto, para amostras pouco diversificadas, quando o valor da média é próximo de zero, o C_{DE} se aproximará do infinito, sendo, por isso, sensível a pequenas mudanças na média. Seguindo a lógica de desvantagem dos demais índices, caso os valores não se originarem de uma escala de razão de obtenção das amostras sob um mesmo desenho experimental, o índice poderá fornecer resultados errôneos. Concomitantemente, o C_{DE} não pode ser usado diretamente para construir intervalos de confiança para a média, pois reflete

ação enzimática no metabolismo. Este índice desenvolvido compreende um ideal da certeza de uma medição quando o número de replicados varia ao longo de amostras, porque o C_{DE} é invariante ao número de replicados, enquanto a certeza da média melhora com o aumento de replicados.

O índice de Ramos & Moreira é uma abordagem conceitual interessante de se aplicar em estudos químico-ecológicos, devido a possibilidade de investigar padrões biossintéticos nos metabolismos de espécimes, podendo propor diferentes mecanismos homeostáticos redox mesmo em espécimes com elevado grau de similaridade. Em nível de populações e comunidades de plantas, este índice também pode proporcionar a compreensão de padrões micromoleculares associados à aclimação das espécies em determinadas escalas temporais e geográficas pela tendência redox das substâncias presentes na mistura.

A possibilidade da homeostase metabólica das espécies ser realizada pelo balanço oxidativo das substâncias presentes em mistura permite evidenciar parâmetros químico-evolutivos no desvio de metabólitos para suas formas oxidadas. No entanto, métodos de identificação e quantificação padronizados (CG-EM, CG-DIC e CLAE) devem ser utilizados para permitir a comparação entre os resultados fornecidos por esse índice (RAMOS *et al.* 2021).

A fim de explorar o efeito dos fatores ilicitantes nas amostras, o I_{PAP} provém resultados com elevado poder estatístico, permitindo a comparação entre conjuntos de dados com respostas lineares frente aos fatores ambientais (VALLADARES *et al.*, 2006). No entanto, os resultados mantêm-se unitários às variáveis avaliadas, não possibilitando a comparação de plasticidade para diferentes características ou espécies (VALLADARES *et al.*, 2006). Da mesma forma, apesar de ser uma alternativa interessante de avaliação de plasticidade fenotípica padrão, o índice pode ser mal interpretado caso a espécie tenha variabilidade química de acordo com fatores ontogênicos, dificultando a aplicação desse índice em estudos ecológicos com grande variabilidade de indivíduos em diferentes fases ontogênicas e fenológicas.

O desenvolvimento ecológico das espécies em seus processos de aclimação faz com que a plasticidade seja uma chave fundamental na compreensão de como as plantas se desenvolvem (FARNSWORTH, 2004). Espécimes com grande plasticidade, naturalmente, têm capacidade de se tornarem mais quimiodiversas frente às variações ambientais, no entanto, cabe a reflexão: como espécies com baixas capacidades plásticas conseguem se perpetuar e se aclimatar em aspectos químico evolutivos? A lacuna a respeito do grau de influência ecológica em níveis coletivos (*i.e.* quimiodiversidade β e γ) cria tendência em

pesquisas a corroborarem com a lógica naturalística de que espécies plásticas são as mais aclimatadas. No entanto, a evolução pode ser vista pela ótica da capacidade de organização em diferentes escalas de comunidade, as plantas mais adaptadas, provavelmente, não seriam aquelas que respondem melhor à química de sua população/comunidade? Essa hipótese proporciona uma concepção não hegemônica e até então negligenciada para mensurar, quantitativamente, a resposta das espécies em diferentes níveis organizacionais.

CONCLUSÃO

- Este trabalho apresenta o primeiro relato dos constituintes voláteis de *Piper richardiifolium*, sendo possível observar uma considerável diferença das substâncias presentes em seus OEs quando comparado com outras espécies do clado *Macrostachys*. Estes dados podem contribuir para análises quimiotaxonômicas desta espécie com outras morfologicamente semelhantes, do mesmo clado, além de fornecer dados estáticos para possíveis comparações geográficas de composição química;
- As diferentes elevações dos locais de coleta não influenciaram na composição química de *P. richardiifolium* (1.000 – 1.600 m), portanto, há de se considerar uma homogeneidade na composição química, exceto para PR3 e PR4, que são possíveis candidatos à quimiotipos;
- Os índices de quimiodiversidade α demonstraram homogeneidade dos espécimes avaliados nas características de dominância e diversidade ao longo das diferentes elevações, evidenciando uma possível homeostase química. Esses parâmetros são de grande relevância para futuros estudos ecológicos, no sentido de compreender o comportamento e as dinâmicas biossintéticas das espécies associadas ao processo de aclimação em diferentes escalas de tempo e espaço;
- Os índices de quimiodiversidade β demonstraram baixa similaridade química dos espécimes, apesar de haver um agrupamento dos indivíduos avaliados na ACP com base nos seus constituintes químicos. , evidenciando que as substâncias minoritárias tem um grande impacto na determinação de similaridade de espécimes e que, à esse conjunto de dados, análises de aprofundamento do metabolismo dos alvos estudados são imprescindíveis para se obter uma resposta mais consistente;
- O índice de Ramos&Moreira demonstrou que os espécimes em elevações mais baixas possuem maior variabilidade redox, enquanto há aparente estabilidade nas elevações mais altas. As duas amostras que se apresentaram consideravelmente reduzidas, provavelmente estão associadas à resposta de fatores abióticos específicos restrito àquela determinada região geográfica, assim como do número de substâncias que os espécimes são capazes de produzir. Foi possível observar uma possível relação do número de substâncias na mistura com o equilíbrio REDOX das espécies, levando a concepção que substâncias minoritárias tem um impacto considerável no manejo das formas oxidativas e radicalares no metabolismo vegetal;

- Nesta Dissertação foi desenvolvido o Coeficiente de Diversificação de Esqueleto (C_{DE}), um novo índice micromolecular com potencial de ser utilizado em estudos químico-ecológicos estáticos e temporais. O C_{DE} demonstrou ter potencial para avaliar a dinâmica metabólica de espécimes em escalas espaciais e temporais, demonstrando como desvios de rotas biossintéticas podem favorecer um processo de aclimação. Nesta perspectiva, mais estudos utilizando este índice são importantes para validar sua aplicabilidade ecológica no estudo do metabolismo das espécies.

REFERÊNCIAS

ABBAS, F.; KE, Y.; YU, R.; YUE, Y.; AMANULLAH, S.; JAAHNGIR, M. M.; FAN, Y. Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. **Planta**, v. 246, n. 5, p. 803-816, 2017.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**, 4.1ª ed. Allured Publishing Corporation, 2017.

ADLER, L.S. *et al.* Reliance on pollinators predicts defensive chemistry across tobacco species. **Ecology Letters**. v.15, n.10, p.1140–48, 2012.

AGRAWAL, A.A. *et al.* Insect herbivores drive real-time ecological and evolutionary change in plant populations. **Science**. v.338, n.6103, p.113–116, 2012.

ALONSO, C. *et al.* Interspecific variation across angiosperms in global DNA methylation: phylogeny, ecology and plant features in tropical and Mediterranean communities. **New Phytologist**. v.224, p.949-960, 2019.

ALVES, C.C.F. *et al.* atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e Ambiente**. v. 10, n.1, p. 93-97, 2003.

ANDRADE, E. H. de A.; GUIMARÃES, E. F.; MAIA, J. G. S. **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia**. Belém: Editora FEQ/UFPA, p. 447, 2009

Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**. v.46, n.2, p.446-475, 2008.

ASSIS, A. *et al.* Essential oils composition of four Piper species from Brazil. **Journal of Essential Oil Research** v.25, n.203-209, 2013.

BARBOSA, D.R. *et al.* Kava-Kava (*Piper methysticum*): Uma revisão geral. **Revista Científica do ITPAC**, v.6, n.3, 2013.

BAR-EVEN, A. *et al.* The Moderately Efficient Enzyme: Evolutionary and Physicochemical Trends Shaping Enzyme Parameters. **Biochemistry**. v. 50, n.21, p.4402-4410.

BEALL, C. M. Adaptation to high elevation: phenotypes and genotypes. **Annual Review of Anthropology**. v.43, p.251–272, 2014.

BEREMBAUM M.R & ZANGERL, A.R. Acquisition of a native host plant by an introduced oligophagous herbivore. **OIKOS**. v.62, n.2, p.153–159, 1991.

BERNUCI, K.Z. *et al.* Evaluation of chemical composition and antileishmanial and antituberculosis activities of essential oils of *Piper* species. **Molecules**, v.21, n.1698, 2016.

BIZZO, H.R. *et al.* Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**. v. 32, n.3, p. 588-594, 2009.

BOHLMANN, J. *et al.* cDNA cloning, characterization, and functional expression of four new monoterpene synthase members of the Tpsd gene family from grand fir (*Abies grandis*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v.368, p.232–243,1999.

BOHLMANN, J. *et al.* Monoterpene synthases from Grand fir (*Abies grandis*) – cDNA isolation, characterization, and functional expression of myrcene synthase, ()(4S)-limonene synthase, and ()-(1S, 5S)-pinene synthase. **Journal of Biological Chemistry**. v.272, p. 21784–21792, 1997.

BLOUNT, A. & COPPOLA, D.M. The effect of odor enrichment on olfactory acuity: Olfactometric testing in mice using two mirror-molecular pairs. **PLoS One**, v.15, n.7, 2020.

BRANCHIO, E. *et al.* Quantitative Variations in the Essential Oil of *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. in Response to Insects with Different Feeding Habits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, n.17, p.6903-6906, 2005.

BRUCE, T.J.A & PICKETT, J.A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. **Phytochemistry**. v.72, n.13, p.1605–11, 2011.

BURGER, P. *et al.* Extraction of natural fragrance ingredients: history overview and future trends. **Chemistry & Biodiversity**. v.16, n.10, 2019.

BYUN-MCKAY, A. *et al.* Wound-induced terpene synthase gene expression in sitka spruce that exhibit resistance or susceptibility to attack by the white pine weevil. **Plant Physiology**. v. 140, p. 1009–1021, 2006.

CAI J., ZU, P. & SCHIESTL F.P.. The molecular bases of floral scent evolution under artificial selection: insights from a transcriptome analysis in *Brassica rapa*. **Scientific Reports**. v.6, p.36966, 2016.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: Princípios e aplicações**. São Paulo: Editora Artmed S.A, 2003.

CALLEJAS-POSADA, R. (2020) Piperaceae. In: Davidse, G., Ulloa Ulloa, C., Hernández Macías, HM & Knapp, S. (Eds.) *Flora Mesoamericana* 2 (2). Missouri Botanical Garden, St. Louis.

CAPPELO, T.M. *et al.* Chemical composition and in vitro cytotoxic and antileishmanial activities of extract and essential oil from leaves of *Piper cernuum*. **Natural Product Communications**. v.10, p.285-188, 2015.

CARVALHO-SILVA, M. *et al.* FLORA DA SERRA DO CIPÓ, MINAS GERAIS: PIPERACEAE. **Bolem de Botânica da Universidade de São Paulo**. v. 31, n.1, p.27-40, 2013.

CHASE, J. M, *et al.* Embracing scale-dependence to achieve a deeper understanding of biodiversity and its change across communities. **Ecology Letters**, v.21, n.11, p.1737– 1751, 2018

CHEN, F. *et al.* Characterization of a root-specific Arabidopsis terpene synthase responsible for the formation of the volatile monoterpene 1,8-cineole. **Plant Physiology**. v.135, p.1956–1966. 2004.

CHEN, S. *et al.* (E)-Nerolidol is a volatile signal that induces defenses against insects and pathogens in tea plants. **Horticulture Research**, v.7, n.52, 2020.

CHRIST, J.A *et al.* DNA fingerprinting based on SSR amplification profiles for *Piper* species identification (Piperaceae) **Acta Botanica Brasilica**. v.32, n. 4, p. 511-520, 2018.

CLOSE, D. *et al.* Photoinhibition: A link between effects of the environment on eucalypt leaf chemistry and herbivory. **Ecology**. v.84, n.11, p.2952-2966, 2003.

CODY, M.L. Towards a theory of continental species diversities. In Ecology and Evolution of Communities; **Harvard University Press: Cambridge**. p. 214–257, 1975.

CONSTANTIN, M.B. *et al.* Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: Antimicrobial activities and analysis by GC/MS and ¹³C-NMR. **Planta Med.** v.67, p.771-773, 2001.

DAHLGREN, G. An updated angiosperm classification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 100, n. 3, p. 197-203, 1989

DAMANHOURI, Z. A. Review on Therapeutic Potential of *Piper nigrum* L. (Black Pepper): The King of Spices. **Medicinal and Aromatic Plants**. v.3, n.3, 2014.

DA SILVA, A.C.A. *et al.* Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) characterization and evaluation of antibacterial bioactivities of the essential oils from *Piper arboreum* Aubl., *Piper aduncum* L. e *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Zeitschrift für Naturforschung C.**, v.76, p.35–42, 2021.

DA SILVA, J.K. *et al.* Essential Oils from Neotropical *Piper* Species and Their Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**. v.18, n.12, 2017.

DEGENHARDT, J. *et al.* Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**. v.70, n.15-16, p.1621-1637, 2009.

ESTRELA, J.L.V. *et al.* Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.42, n.2, 2006.

FAN, F.; LI, C.; LUO, Z.; TANG, G. UV-B Radiation-Induced Changes in Tea Metabolites and Related Gene Expression. **Stress Physiology of Tea in the Face of Climate Change**, p. 111–133, 2018.

FARNSWORTH, E. Hormones and shifting ecology throughout plant development. **Ecology**, v.85, p.5-15, 2004.

FENG, X. *et al.* Chemical composition and diversity of the essential oils of *Juniperus rigida* along the elevations in Helan and Changbai Mountains and correlation with the soil characteristics. **Industrial Crops and Products**. v.159, 2021.

FERNANDES, N.B.G.; YAZBECK, G.M & MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A. Taxonomic diversity of Passifloraceae sensu stricto along altitudinal gradient and on Serra dos Órgãos mountain slopes in southeastern Brazil. **Rodriguésia**, v.73, 2022.

FERREIRA, R. G. Ação antimicrobiana do óleo essencial de ***Piper aduncum*** e **Dilapiol em infecções de pele** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2015.

FERREIRA, R.G. *et al.* **Ação Antimicrobiana do óleo essencial de *Piper aduncum* e dilapiol em infecções de pele.** Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Pará. Belém, 88f. 2015

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213-226, 2008.

FIGUEIREDO, P. B. **Estudo químico e atividade larvícida do óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* L.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós Graduação em Química, Fortaleza, 2014.

FIGUEIREDO, P.B. *et al.* **Estudo Químico e Atividade Larvícida do Óleo Essencial das Folhas de *Piper aduncum* L.** Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação Em Química - Universidade Federal Do Ceará, Fortaleza, 2014.

FLORA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 16 de Jan. 2022.

FUKUHARA, K. & KUBO, I. Isolation of steroidal glycoalkaloids from *Solanum incanum* by two countercurrent chromatographic methods. **Phytochemistry**, v.30, n.2, p. 685-690, 1991.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, 2007.

GLYNN, C.; HERMS, D. A.; ORIAN, C. M.; HANSEN, R. C.; LARSSON, S. Testing the growth–differentiation balance hypothesis: dynamic responses of willows to nutrient availability. **New Phytologist**, v. 176, n. 3, p. 623-634, 2007.

GOTTLIEB, O.R. & SALANTINO A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**. v.39, n.8, p.707-716.

GOTTLIEB, O.R. Biodiversidade: uma teoria molecular. **Química Nova**. v.15, n.2, p.167-172, 1992.

GOTTLIEB, O.R. *et al.* Biodiversidade: o enfoque interdisciplinar brasileiro. **Ciência & Saúde Coletiva**. v.3, n. 2, p.97-102,1998.

GUERRINI, A. *et al.* Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v. 27, p.39-48, 2009.

GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MEDEIROS, E.V.S.S.; MONTEIRO, D.; QUEIROZ, G.A. Piperaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB190>>. Acesso em: 23 ago. 2022
GUIMARÃES, E.F. & MONTEIRO, D. Piperaceae Na Reserva Biológica De Poço Das Antas, Silva Jardim, Rio De Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**. v.57, n.3, p.567-587, 2006.

GUIMARÃES, E.F. *et al.* 2020. *Piper in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12838>>. Acesso em: 22 jan. 2022.

GUIMARÃES, E.F. Piperaceae organensis. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. p.51-106, 1994.

GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M. Piperaceae. In: WANDERLEY, M.G.L., MARTINS, S.E., ROMANINI, R.P., MELHEM, T.S., SHEPHERD, G.J., GIULIETTI, A.M., PIRANI, J.R., KIRIZAWA, M., MELO, M.M.R.F., CORDEIRO, I., KINOSHITA, L.S. (Ed.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v.7. Instituto de Botânica, São Paulo, p.263-320. 2012.

GUO, L. P. *et al.*. 從表型可塑性, 生態型到藥用植物化學型. **Resources Science**, v. 5, p. 015, 2008.

HASHEMI, S. M. B. *et al.* **Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2018.

HEMBRY, DAVID H.; WEBER, MARJORIE G. Ecological interactions and macroevolution.: a new field with old roots. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 51, p. 215-243, 2020.

IASON, G.R. Does chemical composition of individual scots pine trees determine the biodiversity of their associated ground vegetation? **Ecology Letters**. v.8, p. 364–369, 2005.

INMET. In: “Instituto Nacional de Meteorologia” – Dados climatológicos. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em: 15 Jan. 2022.

ISO. In: “INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION”. **Aromatic natural raw materials** – Vocabulary: ISO 9235. Genebra, 2013. 8p.

JACCARD, P. Distribution de la flore alpine dans le bassin des dranses et dans quelques régions voisines. **Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles**. v.37, p.241–272, 1901.

JACINTO, A. C. P.; SOUZA, L. P.; NAKAMURA, A. T.; CARVALHO, F. J.; SIMÃO, E.; ZOCOLER, J. L.; BERGO, C. L. Formação de idioblastos e produção de óleo essencial em cultivo irrigado de *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, p. 447-452, 2018.

- JARAMILLO, M.A. *et al.* Phylogenetic relationships of the perianthless Piperales: reconstructing the evolution of floral development. **International Journal of Plant Sciences** v.165, p. 403-416, 2004.
- JARAMILLO, A. *et al.* A Phylogeny of the Tropical Genus *Piper* Using ITS and the Chloroplast Intron psbJ-petA. **Systematic Botany**. v.33, n.4, p.647-660, 2008.
- JUSTO, S.C. & SILVA, S.M. *Piper methysticum* G. Forster (Kava-kava): Uma Abordagem Geral. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.5, n.1, p.73-82, 2008.
- KESSELMEIER, J. & STAUDT, M. Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview of emission, physiology and ecology. **Journal of Atmospheric Chemistry**. v.33, p. 23-88, 1999.
- KESSLER, A. & BALDWIN, I.T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Reviews of Plant Biology**. v.53, p.299–328, 2002.
- KHALIL, N. *et al.* Elevação impact on the chemical profile and biological activities of *Satureja thymbra* L. essential oil. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. v. 20, n. 186, 2020.
- KÖRNER, C. The use of elevation in ecological research. **Trends in Ecology and Evolution**, v.22, p.569-574, 2007.
- LAFFEVER, R.E. & CROTEAU, R.,. Hydride shifts in the biosynthesis of the p-menthane monoterpenes alpha-terpinene, gamma-terpinene, and beta-phellandrene. **Archives of Biochemistry and Biophysics**.v. 301, p. 361–366, 1993.
- LIMAL, R.K. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazonica**. v.39, n.2, 2009.
- Lorenzo, F. R. *et al.* A genetic mechanism for Tibetan high-elevation adaptation. **Nature Genetics**. v.46, p.951–956, 2014.
- MACEDO A.L *et al.* Cytotoxicity and selectiveness of Brazilian *Piper* species towards oral carcinoma cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.110, p.342-352, 2019.
- MACHADO, D.B. *et al.* Study of volatile chemical constituents and insect-plant interaction in *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae) from Tijuca Forest, Rio de Janeiro - RJ, Brazil. **Revista Virtual de Química**. v.13, n.5, p.1216-1225, 2021.
- MADURO, C.E.P. *et al.* **Óleos Essenciais de Quatro Espécies Nativas de Piper: *Piper caldense* C. DC., *P. solmsianum* C. DC., *P. umbellatum* L. e *P. xylosteoides* Kunth.** Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Química – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2019
- MAFFEI, M. *et al.* effects on photomorphogenesis and essential-oil composition in *Mentha piperita*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v.52. n. 1-3, p.105-110, 1999.

MANDARINO, A. C. & GOMBERG, E. Água e ancestralidade Jeje-Nagô: possibilidade de existências. Textos de História. **Revista do Programa de Pós-graduação em História da UnB.**, v. 17, n. 1, p. 143-164, 2010.

MARQUES, A.M. *et al.* Aristolactams from roots of *Ottonia anisum* (Piperaceae). **Natural Product Communications.** v.6, n.7, p.939-942, 2011.

MATTANA, R.S.; VIEIRA, M.A.R.; MARCHESI, J.Á.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M. Shade level effects on yield and chemical composition of the leaf essential oil of *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 4, p. 414-418, 2010.

MENDONÇA, J.F. *et al.* **Óleos Essenciais de Piperaceas como Alternativas Para o Controle de Pragas.** Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Ciência Florestal – Universidade Federal do Acre. Rio Branco, 2019.

MONTEIRO, D. & GUIMARÃES, E.F. Flora Do Parque Nacional Do Itatiaia – Brasil: Manekia E Piper (Piperaceae).

MONTEIRO, J.M. *et al.* Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova.** v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOORE, B. *et al.* Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. **New Phytologist.** v.201, p.733–50, 2014.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira.** v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, 2009.

MORANDIM, A.D. *et al.* Composition and screening of antifungal activity against *Cladosporium sphaerospermum* and *Cladosporium cladosporioides* of essential oils of leaves and fruits of *Piper* species. **African Journal of Biotechnology.** v.9, p.6135-6139, 2010.

MORANDIM-GIANNETTI, A.A. *et al.* Composition and antifungal activity against *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans* of essential oils from leaves of *Piper* and *Peperomia* species. **Journal of Medicinal Plants Research.** v.4, p.1810-1814, 2010.

MOREIRA, D.L. *et al.* Bioactive Neolignans from the Leaves of *Piper rivinoides* Kunth (Piperaceae). **Records of Natural Products**, v.10, p. 472-484, 2016.

MUNDINA, M. *et al.* Leaf oils of two Brazilian *Piper* species: *Piper arboreum* Aublet var. *latifolium* (C.DC) Yuncker and *Piper hispidum* Sw. **Journal of Essential Oil Research.** v. 6, p.643–644, 1994.

MUNDINA, M. *et al.* Leaf essential oils of three panamanian *Piper* species. **Phytochemistry.** v.47, n.7, p.1277-1282, 1998.

NASCIMENTO, L.F. *et al.* **Óleo Essencial De *Piper aleyreanum* C.Dc. (Piperaceae) Reduz a Nocicepção Inflamatória e Neuropática em Camundongos: Papel dos Receptores TRPA1.** Tese (Doutorado), Pós-Graduação em Neurociências- Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Florianópolis, 2018.

NATARAJ, N. *et al.* Effect of Elevação on Volatile Organic and Phenolic Compounds of *Artemisia brevifolia* Wall ex Dc. From the Western Himalayas. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v.12, 2022.

NAVICKIENE, H.M. *et al.* Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**. v.29, p.467-470, 2006.

NÉMETH, E. Z. & HUONG THI NGUYEN.. Thujone, a widely debated volatile compound: what do we know about it? **Phytochemistry Reviews**. 19, 405–423, 2020.

OLIVEIRA, G.L. *et al.* Estudo químico e atividade larvídica contra *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 85, n.4, 2013.

PEDROSA, E.C.G.A. *et al.* Neuroprotective profile of *Piper methysticum* (Kava Kava) and its effects on the Central Nervous System: a systematic review. **Journal of Pharmacological, Chemistry and Biological Sciences**, v.2. n.1, 2020.

PENNINGS, S.C. *et al.* Latitudinal differences in plant palatability in atlantic coast salt marshes. **Ecology**. v.82, n.5, 2001.

PERIGO, C.V. *et al.* The chemical composition and antibacterial activity of eleven *Piper* species from distinct rain forest areas in Southeastern Brazil. **Industrial Crops and Products**. v.94, p.528-539, 2016.

PEREIRA, R.C. *et al.* Ecologia química marinha: origem, evolução e perspectivas no brasil. **Oecologia Australis**. v.15, n.2, p.412-435, 2011.

PIELOU, E. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. **Journal of Theoretical Biology** v.10, p.370–383. 1966.

PINTO, A.C. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**. v. 25, Supl. 1, p. 45-61, 2002.

PINTO-ZEVALLOS, D.M. *et al.* Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v.36, n.9, 2013.

PITTELOUD, C., *et al.* Contrasting responses of above- and below-ground herbivore communities along elevation. **Oecologia**, v. 194, p.515–528, 2020

POHLIT, A. M. *et al.* *Piper aduncum* L.: Planta Pluripotente e Fonte de Substâncias Fitoquímicas Importantes. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 2, n. 01, p.7-18, 2013.

POTZERNHEIM, M. *et al.* Chemical characterization of seven *Piper* species (Piperaceae) from Federal District, Brazil, based on volatile oil constituents. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 8, p.10-12, 2006

PRINS, C.L. *et al.* Growth regulators and essential oil production. **Brazilian society of plant physiology**, v.22, n.2, p.91-102, 2010.

PURVIS, A. & HECTOR, A. Getting the measure of biodiversity. **Nature**. v.405, p.212-219, 2000.

QUEIROZ, G.A. & GUIMARÃES, E.F. *Piper* L. (Piperaceae) do Leste Metropolitano, RJ, Brasil. Braz. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p.93597-93634, 2020.

QUEIROZ, G.A. *et al.* *Piper* (Piperaceae) do Parque Estadual da Serra da Tiririca, Niterói / Maricá, RJ, Brasil. **Rodriguésia**. v.71, 2020.

QUEIROZ, T.B. *et al.* Teor e composição química do óleo essencial de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em função dos horários de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.18, n.1, p.356-362, 2016.

QUIJANO-ABRIL, M. A. *et al.* Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 7, p. 1266-1278, 2006.

RAGAGNIN, R.C.G. *et al.* Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta Botânica Brasílica**. v.28, n.3, p.346-351, 2014.

RAIMUNDO, J.M. *et al.* In-vitro vasodilatory activity of the hexanic extract of leaves and stems from *Piper truncatum* Vell. in rats, **Journal of Pharmacy and Pharmacology** v.56, n.11, p.1457-62, 2004.

RAMOS, Y.J. *et al.* Produção e variações químicas de óleos essenciais: uma breve revisão sobre os fatores que afetam a qualidade e a quantidade. In: Avanços Científicos, Tecnológicos e de Inovação na Botânica. Ponta Grossa: Editora Atena, 2020, p. 78-104.

RAMOS, Y.J. *et al.* Advanced Chemophenetic Analysis of Essential Oil from Leaves of *Piper gaudichaudianum* Kunth (Piperaceae) Using a New Reduction-Oxidation Index to Explore Seasonal and Circadian Rhythms. **Plants**. v.10, n.2116, 2021.

RAMOS, Y.J. **Identificação de possíveis quimiotipos de *Piper aduncum* L. e *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae) com base no estudo dos componentes químicos de óleos essenciais**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

RAMOS, Y.J.; *et al.* Chemical composition of the essential oils of circadian rhythm and of different vegetative parts from *Piper mollicomum* Kunth - A medicinal plant from Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**. v.92, p.104-116, 2020.

REHMAN, R.; HANIF, M. A.; MUSHTAQ, Z.; AL-SADI, A. M. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. **Food Reviews International**, v. 32, n. 2, p. 117-160, 2016.

RIBEIRO, S.M.; BONILLA, O.H.; LUCENA, E.M.P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia: Série Botânica**. v.73, n.1, p.31-38, 2018.

RICHARDS, L.A. *et al.* Phytochemical diversity drives plant-insect community diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n.35, p.10973–78, 2015.

SÁ, S. D.; FIUZA, T. S.; BORGES, L. L.; FERREIRA, H. D.; TRESVENZOL, L. M.; FERRI, P. H.; REZENDE, M.H.; PAULA, J. R. Chemical composition and seasonal variability of the essential oils of leaves and morphological analysis of *Hyptis carpinifolia* **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p.688–693, 2016.

SALEHI, B. *et al.* *Piper* Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. **Molecules**. v.24, n. 1364, 2019.

SAMAIN, M.S. *et al.* Verhuellia is a segregate lineage in Piperaceae: more evidence from flower, fruit and pollen morphology, anatomy and development. **Annals of botany**. v. 105, n. 5, p. 677-688, 2010

SANGWAN N.S. *et al.* Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**. v. 34, p. 03-21, 2001

SANTANA, A.I. *et al.* Chemical composition and biological activity of essential oils from different species of *Piper* from Panama. **Planta Medica**. v.82, p.986–991, 2016.

SAYURI, V. A.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; FERREIRA, M. J.; LAGO, J. H.; BUTURI, F. O. Chemical composition, seasonal variation, and biosynthetic considerations of essential oils from *Baccharis microdonta* and *B. elaeagnoides* (Asteraceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n. 11, p. 2771-2782, 2010.

SCHIESTL, F.P. On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. **Naturwissenschaften** v.92, p.6, p.255–64, 2005.

SCHIESTL, F.P. The evolution of floral scent and insect chemical communication. **Ecology Letters**, v.13, n.5, p.643–656, 2010.

SEVERINO, J. F., STICH, K. & SOJA, G. Ozone stress and antioxidant substances in *Trifolium repens* and *Centaurea jacea* leaves. **Environmental Pollution**., v.146, p.707–714, 2007.

SHANNON, C.E. A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**. v.27, p.379–423, 1948

SHARIFI-RAD, J. *et al.* Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. **Molecules**. v.22, n.70, 2017.

SHIMADA, T. *et al.* Molecular cloning and functional characterization of four monoterpene synthase genes from *Citrus unshiu* Marc. **Plant Science**. v. 166, p. 49–58, 2004.

SHUKLA, R. *et al.* A Magical Medicinal Fruit of *Piper nigrum*. **World Journal of Pharmaceutical Research**. v.7, n.8, p.418-425, 2018.

SILVA, J.K. *et al.* Essential Oils from Neotropical *Piper* Species and Their Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**., v.18, n.12, 2017.

SIMÕES, C. M. O., *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2017

SIMPSON, E.H. Measurement of diversity. **Nature**, v.163, n.688, 1949

SIQUEIRA, M.P. *et al.* Atividade larvívora de extratos, frações e substâncias isoladas de espécies de Piperaceae do Estado do Rio de Janeiro. **Boletim Informativo Geum**, v.5, n.2, 2014.

SØRENSEN, T.J. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. **Biologiske Skrifter**. v. 5, p. 1–34, 1948

SOUZA, J.N.P. *et al.* Bioprospecção Das Atividades Antioxidante E Antimicrobiana De Espécies Vegetais Medicinais Coletadas Em Ouro Preto-MG. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.10, n.1, p.1-15, 2013.

SOUZA, L.O.R. *et al.* **Atividade Inseticida, Rendimento e Composição Química do Óleo Essencial de *Piper callosum* Ruiz & Pav.** Monografia (Bacharelado) - Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET) da Universidade Federal do Amazonas, Itacoatiara, 2019.

STICHER O. Ätherische Öle und Drogen, die ätherisches Öl enthalten. In: Sticher O, Heilmann J, Zúndorf I. Hänsel / Sticher **Pharmakognosie Phytopharmazie**. 10. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche, 2015.

SUPRASANNA, P. & VARIYAR, P. S. Coping Abiotic Stress with Plant Volatile Organic Chemicals (PVOCs): A Promising Approach. **Crop Improvement**, p. 295–306, 2013.

TEIXEIRA, I.S. & MILAGRE, C.D.F. Evolução dirigida de enzimas: pequenas modificações, melhores biocatalisadores. **Química Nova**. v.43, n.6, p.773-786, 2020.

TORQUILHO, H.S. *et al.* Essential oil of *Piper cernum* Vell. var. *cernum* Yuncker from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**.v.12, p. 443-444, 2000.

TRINDADE, A.P.F. *et al.* Essential Oil From Organs of *Piper truncatum* Vell. **Journal of Essential Oil Research**. v. 22, n.3, 2010.

TURNER, G. & GERSHENZON, J. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. **Plant Physiology**. v.124, p.655-663, 2000.

VALLADARES, F. *et al.* Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. **Journal of Ecology**. v.94, p.1103-1116, 2006.

VALLADARES, G.R. *et al.* Phytochemical Induction by Herbivores Could Affect Quality of Essential Oils from Aromatic Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.50, n.14, p.4059-4061, 2002.

VATTEKKATTE, A.; BOLAND, W. Biosynthetic Origin of Complex Terpenoid Mixtures by Multiproduct Enzymes, Metal Cofactors, and Substrate Isomers. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 8, p. 372, 2020.

VOLZ, T.J & CLAUSEN, T.P. Tannins in *Puccinellia arctica*: possible deterrents to herbivory by Canada geese. **Journal of Chemical Ecology**. v.27, n.4, p.725-732, 2001.

WEDLER, H.B. *et al.* Carbocations and the Complex Flavor and Bouquet of Wine: Mechanistic Aspects of Terpene Biosynthesis in Wine Grapes. **Molecules**. v.20, p.10781-10792, 2015.

WICKER-THOMAS, C. **Evolution of insect pheromones and their role in reproductive isolation and speciation**. In: Annales de la Société entomologique de France. Taylor & Francis Group, p. 55-62. 2011.

WISE, M.L. *et al.* Monoterpene synthases from common sage (*Salvia officinalis*) – cDNA isolation, characterization, and functional expression of (+)-sabinene synthase, 1, 8-cineole synthase, and (+)-bornyl diphosphate synthase. **Journal of Biological Chemistry**. v.273, p. 14891–14899, 1998.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia. 2^a.ed. Belo Horizonte/Brasil: **Laszlo**, 466p, 2016.

XIE, Z. *et al.* systems biology investigation of the MEP/terpenoid and shikimate/phenylpropanoid pathways points to multiple levels of metabolic control in sweet basil glandular trichomes. **Plant Journal**. v.54, p.349–361, 2008.,

YE, W.C *et al* Steroidal glycoside and glycoalkaloid from *Solanum lyratum*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v.29, n.4, p.421-423, 2001.

ZACARONIL, L.M. *et al.* Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amaz**. v.39, n.1, 2009.