

**HERBIVORIA FOLIAR E PERFIL METABOLÔMICO DE PARES
CONGENÉRICOS DE PLANTAS DE DOIS AMBIENTES
CONTRASTANTES DA MATA ATLÂNTICA: FLORESTA OMBRÓFILA
DENSA E RESTINGA**

Aline Alves do Nascimento

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO-UENF**

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

Junho de 2017

HERBIVORIA FOLIAR E PERFIL METABOLÔMICO DE PARES
CONGENÉRICOS DE PLANTAS DE DOIS AMBIENTES CONTRASTANTES
DA MATA ATLÂNTICA: FLORESTA OMBRÓFILA DENSA E RESTINGA

Aline Alves do Nascimento

“Tese apresentada ao Centro de Biotecnologia e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais”.

Aprovada em 30 de junho de 2017.

Comissão Examinadora:



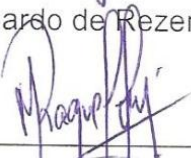
Dra. Helena Regina Pinto Lima (UFRRJ)




Dra. Marina Satika Suzuki (LCA/CBB)



Dr. Carlos Eduardo de Rezende (LCA/CBB)



Dra. Maria Raquel G. Vega (LCQUI/CCT)
Coorientadora



PhD. Marcelo T. Nascimento (LCA/CBB)
Orientador

**CONGENÉRICOS DE PLANTAS DE DOIS AMBIENTES
CONTRASTANTES DA MATA ATLÂNTICA: FLORESTA OMBRÓFILA
DENSA E RESTINGA**

Aline Alves do Nascimento

“Tese apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Recursos Naturais”.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Trindade Nascimento
Coorientadora: Prof. Dra. Maria Raquel Garcia Vega

Campos dos Goytacazes
Junho/2017

*“A felicidade te faz doce
Os problemas te mantêm forte
A dor te mantém humano
As quedas te mantêm humilde
O êxito te mantém brilhante
Mas só Deus te mantém de pé”
(Autor desconhecido)*

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese a Deus. Aos meus queridos pais, Antônio (*in memoriam*) e Geny. Ao meu esposo Kélyson, meus irmãos Adriana e Anderson. À aluna Luana (*in memoriam*). A vitória desta conquista dedico, carinhosamente, a todos vocês por me mostrarem que nada é impossível quando se tem fé, vontade e dedicação!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar forças em todos os momentos difíceis, me fazendo continuar nesta jornada mesmo quando tudo parecia conspirar contra mim.

À minha família, minha fortaleza, que sempre me incentivou a continuar esta longa caminhada, mesmo me ausentando em algumas ocasiões importantes. Mãe, a carreira que estou cultivando é resultado dos seus ensinamentos e também porque sempre se preocupou em me colocar nas melhores escolas públicas, já que não podia pagar uma escola particular. Ao meu querido pai (*in memoriam*), que com orgulho contava para todos que eu era única da família que estava fazendo faculdade e agora aqui finalizando meu doutorado... Sei que está contente! Aos meus queridos irmãos Adriana e Anderson, que sempre me motivaram a continuar estudando.

Ao meu querido esposo, Kélyson, meu amor, amigo e companheiro, pelos anos dedicados de paciência, amor e carinho em todos os momentos difíceis do doutorado. Agradeço-lhe muito pelas inúmeras ajudas e também pela compreensão nas situações em que tive que cancelar ou adiar nossos planos.

Ao meu orientador, meu amigo, Dr. Marcelo Trindade Nascimento, pelos melhores conselhos, ensinamento, motivação e principalmente por estar sempre ao meu lado nos momentos mais difíceis que passei durante o doutorado, me apoiando e compreendendo as minhas limitações. Tenho muito orgulho por tê-lo como orientador por mais de 10 anos!

À minha coorientadora, Dra. Maria Raquel Garcia Vega, que aceitou em me orientar, minha grande motivadora nos desbravamentos dos estudos de metabólica. Agradeço-lhe muito pela orientação, amizade e distração nos momentos difíceis e também por participar da minha banca de qualificação com sugestões e críticas construtivas.

À professora Dra. Maria Cristina Gaglianone, colaboradora do capítulo dos insetos, pela orientação, pelas importantes considerações e correções do capítulo e também por participar da minha banca de qualificação com sugestões e críticas construtivas.

À professora Dra. Dora Maria Villela colaboradora da tese na parte de nutrientes, pela amizade, pelos conselhos, críticas e sugestões visando à melhoria do trabalho.

À professora Dra. Cristina Maria Magalhães de Souza por compor o meu Comitê de Acompanhamento (CA), participar da minha banca de qualificação, com críticas e sugestões importantes, e também pelos conselhos e apoio durante meu doutorado.

Ao professor Dr. Gilberto Soares Albuquerque por ter participado do meu Comitê de Acompanhamento (CA), contribuindo com críticas e sugestões importantes.

Aos professores do Programa de Ecologia e Recursos Naturais pelos ensinamentos durante as disciplinas e esclarecimento de alguns procedimentos de laboratório.

À professora Dra. Magali Hoffmann do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF/CCTA/UENF) pela identificação dos Coleoptera e pelas sugestões importantes.

Ao professor Dr. Rodrigo Rodrigues de Oliveira e demais professores do Laboratório de Ciências Químicas (LCQUI/CCT/UENF), pelas sugestões e críticas construtivas, durante os períodos de rotina de laboratório.

Aos professores Dra. Helena Regina Pinto Lima (UFRRJ), Dra. Marina Satika Suzuki (LCA/CBB) e Dr. Carlos Eduardo de Rezende (LCA/CBB) por participarem da minha banca defesa de tese e pelas importantes contribuições na correção deste trabalho.

Ao Dr. Marcelo Gomes de Almeida, pela ajuda e orientação em atividades de laboratório.

Aos técnicos Helmo Siqueira Carvalho e Gerson Rocha da Purificação, Arizoli Antônio Rosa Gobo e Alcemi Cerqueira Viana, pela ajuda e dedicação nos trabalhos de campo/laboratório.

A todos os meus amigos do HUENF e do grupo de Ecologia Vegetal, em especial a Mariana Alves Faitanin pela ajuda nas excursões de campo, pela amizade e pelos momentos divertidos que passamos juntas, campo divertido, só com você amiga!

Ao Igor Broggio Santiago pela amizade, pelos conselhos, motivação e pelos momentos de distração que passamos juntos.

A aluna Luana Siqueira Passos (*in memoriam*), minha coorientada da graduação, que me ajudou nas atividades de laboratório em várias etapas: na pesagem e moagem de material vegetal, triagem de insetos e também na determinação de fenóis totais.

Aos colegas do Setor de Ecologia Experimental do Laboratório de Ciências Ambientais (LCA/CBB/UENF) e do Laboratório de Ciências químicas (LCQUI/CCT/UENF) pela amizade e pelas inúmeras ajudas, em especial a Isabela de Souza Pinto Pereira, pelos ensinamentos das metodologias relacionadas aos metabólitos de plantas.

À minha amiga Marcelita França Marques, pela grande amizade concretizada durante o doutorado, pela motivação, pelos conselhos, pela ajuda imensurável, seja na triagem, organização de dados e identificação dos insetos, e também em demais contribuições na tese. Inspiro-me em você! Você é nota 10!

À Lívia da Silva Lima pela amizade e pelos importantes ensinamentos no tratamento dos dados metabolômicos.

Aos amigos Lidiany Camila da Silva Carvalho e Marcelo Paixão Reis, pela amizade e pelas ajudas durante o doutorado.

À minha amiga Tatiane Pereira de Souza, pela grande amizade de longos anos, pela identificação das plantas, pelos conselhos e motivação.

Aos amigos Rodrigo Camara de Souza, Ana Paula Silva e Vinícius Duncan Silva, pela amizade, pelos conselhos e pelos importantes ensinamentos sobre as atividades desenvolvidos no Laboratório de Ciências Ambientais (LCA/CBB/UENF).

À minha amiga Maria Carolina Gonçalves Oliveira, pela amizade, motivação e pelas inúmeras ajudas durante o doutorado.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram neste desafio, me motivando e orando por mim. Vocês foram peças fundamentais neste processo. Muito obrigada!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS	xviii
RESUMO	xx
ABSTRACT	xxi
CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Interação entre insetos herbívoros e plantas	1
1.2 Padrões de herbivoria em florestas tropicais	3
1.2.1 Floresta tropical úmida x floresta tropical sazonalmente seca	4
1.2.2 Estádio foliar	5
1.2.3 Grupos funcionais (pioneiras x tardias)	5
1.2.4 Herbivoria em solos argilosos e arenosos.....	6
1.3 Metabólitos especiais em plantas	7
1.4 Qualidade foliar e disponibilidade de recursos no ambiente	11
1.5 Interações entre as características de resistência de plantas à herbivoria	15
1.6 Influência das condições edafoclimática na comunidade de insetos herbívoros.....	17
2.7 Objetivos e hipóteses gerais.....	18
CAPÍTULO II. DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO	20
2.1 A Mata Atlântica.....	20
2.2 Tipos florestais selecionados para o estudo	21
2.2.1 Floresta Ombrófila Densa da Reserva Biológica União	22
2.2.2 Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Caruara	25
CAPÍTULO III. EFEITO DA QUALIDADE FOLIAR NA HERBIVORIA DE PARES CONGENÉRICOS EM DOIS AMBIENTES CONTRASTANTES DE MATA ATLÂNTICA	29
3.1 Introdução	29
3.2. Material e Métodos	32
3.2.1 Área de estudo	32
3.2.2 Seleção das espécies e amostragem de folhas.....	33
3.2.3 Medição da herbivoria, área foliar (AF) e defesas morfológicas/estruturais.....	34

3.2.4	Teor de água e análises químicas das folhas.....	38
3.2.5	Análises de dados	40
3.3	Resultados	42
3.3.1	Herbivoria foliar.....	42
3.3.2	Tricomas foliares	44
3.3.3	Análises quantitativas da qualidade foliar	45
3.3.4	Relação entre os atributos foliares	52
3.3.5	Herbivoria em relação aos atributos foliares.....	56
3.3.6	Variância da herbivoria e atributos foliares explicadas pela filogenia e gênero.....	58
3.4	Discussão	58
3.4.1.	Espécies da FOD apresentam maiores porcentagens de herbivoria devido a maior qualidade foliar?	59
3.4.2.	Existe controle ambiental no investimento em defesas foliares?	60
3.4.3	Plantas de ambientes diferentes desenvolvem diferentes síndromes de defesas?	61
3.4.4.	Diferenças na expressão da herbivoria e qualidade foliar estão relacionadas ao ambiente ou filogenia?	62
3.5	Conclusões	64
CAPÍTULO IV. PERFIL ECOMETABOLÔMICO DE PARES CONGENÉRICOS DE PLANTAS DE DOIS AMBIENTES EDAFICAMENTE DISTINTOS DA MATA ATLÂNTICA		
65		
4.1	Introdução	65
4.2	Material e Métodos	68
4.2.1	Área de estudo	68
4.2.2	Gêneros de plantas estudados e seus perfis químicos.....	69
4.2.3	Amostragem e preparação dos extratos brutos por maceração	72
4.2.4	Análise do perfil químico.....	72
4.2.5	Análises de dados	76
4.3	Resultados	77
4.3.1	Análises fitoquímicas	77
4.3.2	Espectros de Infravermelho	79
4.3.3	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H).....	90
4.4	Discussão	94
4.5	Conclusão	98

CAPÍTULO V. COMUNIDADE DE INSETOS EM DUAS FITOFISIONOMIAS CONTRASTANTES DA MATA ATLÂNTICA	99
5.1 Introdução	99
5.2 Objetivo	102
5.3 Material e Métodos	102
5.3.1 Áreas de Estudo	102
5.3.2 Metodologia de amostragem de insetos	102
5.3.3 Análises de dados	105
5.4 Resultados	106
5.4.1 Estrutura da comunidade da entomofauna	106
5.4.2 Sazonalidade da abundância e riqueza das ordens de insetos	109
5.4.3 Potenciais insetos herbívoros	111
5.4.4 Insetos herbívoros associados aos pares congêneros de plantas ..	112
5.5 Discussão	116
5.6 Conclusão	120
CAPÍTULO VI. DISCUSSÃO GERAL	121
VII. CONCLUSÃO GERAL	124
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
ANEXOS	163

LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1. Mapa de localização da Reserva Biológica União situada entre os municípios de Casimiro de Abreu, Rio das Ostras e Macaé, e da Reserva particular do patrimônio natural (RPPN) Fazenda Caruara em São João da Barra, RJ.	22
Figura 2. 2. Fotografias mostrando o aspecto geral (a) e do sub-bosque (b) da Floresta Ombrófila Densa localizada na Reserva Biológica União em Rio das Ostras, Rio de Janeiro. ..	24
Figura 2. 3. Fotografias destacando o aspecto geral (a) e aproximado (b) da vegetação e solo da Mata de Restinga localizada na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara em São João da Barra, Rio de Janeiro.	26
Figura 2. 4. Precipitação pluviométrica (mm) e temperatura média (°C) mensal de estações meteorológicas mais próximas da Reserva Biológica União (Estação Meteorológica de Macaé) (a) e da Reserva particular do patrimônio natural (RPPN) Fazenda Caruara (Estação Meteorológica de Campos-São Tomé) (b) durante o período de estudo (Janeiro de 2013 a Dezembro de 2015). Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).	28
Figura 3. 1. Relações filogenéticas das espécies amostradas na Floresta Ombrófila Densa (1) e Mata de Restinga (2). Cada gênero pertence a uma família: <i>Guapira</i> (Nyctaginaceae), <i>Miconia</i> (Melastomataceae), <i>Eugenia</i> (Myrtaceae), <i>Tapirira</i> (Anacardiaceae), <i>Cupania</i> (Sapindaceae), <i>Byrsonima</i> (Malpighiaceae), <i>Inga</i> (Fabaceae), <i>Cecropia</i> (Urticaceae), <i>Ficus</i> (Moraceae), <i>Annona</i> (Annona).....	33
Figura 3. 2. Medição da herbivoria foliar por meio do <i>software ImageJ</i> com a imagem original (a) processada a partir da conversão binária (b) e posteriormente o redesenho das folhas utilizando ferramentas de desenho do próprio <i>software</i> (c).	35
Figura 3. 3. Guilda de insetos herbívoros mastigadores (A, D), raspadores (B), galhadores (C) e minadores (D) a partir do registro do dano ou a observação da alimentação do inseto durante o estudo.	36
Figura 3. 4. Exemplos das cinco classes de cobertura de tricomas (glabra, rara, frequente, densa e muito densa) observadas nos tecidos foliares de pares congêneros estudados na Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga.	37
Figura 3. 5. Metodologia para determinação das absorvâncias das amostras.	40
Figura 3. 6. Média geral da herbivoria foliar (%) dos pares congêneros estudados. O asterisco indica diferença entre espécies de um mesmo gênero. Não houve diferenças entre os gêneros. As barras verticais indicam o desvio padrão. A linha tracejada corresponde à média geral das duas áreas igual a 5% (◆= Floresta Ombrófila Densa; ■= Restinga). ANOVA fatorial, $p < 0,05$. N=5.	43
Figura 3. 7. Variação na herbivoria foliar (%) dos tipos funcionais amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST) em maio e setembro de 2013, e janeiro e agosto de 2015. SD= sem de dano. N=50.	43
Figura 3. 8. Concentrações médias de C, N, razão C/N, Ca, P, Mg e razão C/P e N/P para os pares congêneros estudados. O asterisco indica diferença entre espécies de um mesmo	

gênero. Letras diferentes indicam diferenças entre os gêneros. As barras verticais indicam o desvio padrão. (◆= Floresta Ombrófila Densa; ■ = Restinga). ANOVA fatorial, $p \leq 0,05$; N= 5.

..... 48

Figura 3. 9. Valores médios de teor de água, massa seca por unidade de área (MFA) e área foliar total (AF) para os pares congêneros estudados. O símbolo * indica diferença entre espécies de um mesmo gênero ($p < 0,05$). Letras diferentes indicam diferenças entre os gêneros ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão. (◆= Floresta Ombrófila Densa; ■ = Restinga). N= 5. 50

Figura 3. 10. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos pares congêneros amostrados na Floresta Ombrófila Densa (vermelho) e restinga (azul). Projeção das espécies (a) e das variáveis C= carbono; N= nitrogênio; Ca= Cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar TA= teor de água e FT= fenóis totais (b) em relação aos eixos 1 e 2. Ann_dol= *Annona dolabripeta*, Ann_acu= *Annona acutiflora*, Fic_spp= *Ficus* sp., Fic_tom= *Ficus tomentella*, Cec_pac= *Cecropia pachystachya*, Cec_lat= *Cecropia latiloba*, Ing_edu= *Inga edulis*, Ing_lau= *Inga laurina*, Byr_ser= *Byrsonima sericea*, Cup_obl= *Cupania oblongifolia*, Cup_ema= *Cupania emarginata*, Tap_gui= *Tapirira guianensis*, Eug_exc= *Eugenia excelsa*, Eug_ast= *Eugenia astringens*, Mic_spp= *Miconia* sp., Mic_cin= *Miconia cinnamomifolia*, Gua_opp= *Guapira opposita*, Gua_per= *Guapira pernambucensis*. N=20. 53

Figura 3. 11. Correlações significativas dos valores de MFA (g/m^2) e Fenóis totais (mg de EAG/g de extrato) com as concentrações (%) de carbono (C), N e razão C/N (a-f), e das concentrações de MFA com a razão N/P (g) e fenóis totais com MFA (h). Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○). N=20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p < 0,05$ 55

Figura 3. 12. Correlação entre herbivoria foliar média (%) e os escores dos eixos 1 (a) e 2 (b) da análise de componentes principais (ACP) dos pares congêneros de espécies coocorrentes na Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○). N=20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p < 0,05$ 56

Figura 3. 13. Correlação entre herbivoria e atributos foliares dos pares congêneros de espécies coocorrentes na Floresta Ombrófila Densa e Restinga (●= FOD; ○= Restinga). C= carbono; N= nitrogênio; Ca= Cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar TA= teor de água e FT= fenóis totais. N=20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p < 0,05$ 57

Figura 4. 1. Distribuição das classes de metabólitos especiais (%) presentes em folhas dos gêneros utilizados no presente estudo a partir de levantamento bibliográfico realizado até abril de 2017. n= número de espécies com metabólitos químicos isolados. *Dados compilados a partir de trabalhos citados no Anexo 1. 71

Figura 4. 2. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos espectros de RMN ^1H de pares congêneros da Floresta Ombrófila Densa (vermelho) e Mata de Restinga (azul) amostrados na estação chuvosa (maio/2013). Projeção das espécies (a) e das variáveis (b) em relação aos eixos 1 e 2. Ann_dol= *Annona dolabripeta*, Ann_acu= *Annona acutiflora*, Fic_spp= *Ficus* sp., Fic_tom= *Ficus tomentella*, Cec_pac= *Cecropia pachystachya*, Cec_lat= *Cecropia*

latiloba, Ing_edu= *Inga edulis*, Ing_lau= *Inga laurina*, Byr_ser= *Byrsonima sericea*, Cup_obl= *Cupania oblongifolia*, Cup_ema= *Cupania emarginata*, Tap_gui= *Tapirira guianensis*, Eug_exc= *Eugenia excelsa*, Eug_ast= *Eugenia astringens*, Mic_spp= *Miconia* sp., Mic_cin= *Miconia cinnamomifolia*, Gua_opp= *Guapira opposita*, Gua_per= *Guapira pernambucensis*. N=20. 91

Figura 4. 3. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos espectros de pares congêneros da Floresta Ombrófila Densa (vermelho) e Mata de Restinga (azul) amostrados na estação seca (setembro/2013). Projeção das espécies (a) e das variáveis (b) em relação aos eixos 1 e 2. Ann_dol= *Annona dolabripeta*, Ann_acu= *Annona acutiflora*, Fic_spp= *Ficus* sp., Fic_tom= *Ficus tomentella*, Cec_pac= *Cecropia pachystachya*, Cec_lat= *Cecropia latiloba*, Ing_edu= *Inga edulis*, Ing_lau= *Inga laurina*, Byr_ser= *Byrsonima sericea*, Cup_obl= *Cupania oblongifolia*, Cup_ema= *Cupania emarginata*, Tap_gui= *Tapirira guianensis*, Eug_exc= *Eugenia excelsa*, Eug_ast= *Eugenia astringens*, Mic_spp= *Miconia* sp., Mic_cin= *Miconia cinnamomifolia*, Gua_opp= *Guapira opposita*, Gua_per= *Guapira pernambucensis*. N=20..... 93

Figura 5. 1. Armadilha colorida do tipo *pantrap* instalada na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Caruara, São João da Barra, Rio de Janeiro..... 103

Figura 5. 2. Amostragem de insetos utilizando-se guarda-chuva entomológico nas áreas de mata na Floresta Ombrófila Densa da Reserva Biológica União em Rio das Ostras (a) e na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Caruara em São João da Barra (b). 104

Figura 5. 3. Abundância relativa (%) das ordens de insetos amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Caruara (REST) em São João da Barra e o total amostrado na FOD e REST. 107

Figura 5. 4. *Ranking* de abundância para a comparação da composição das comunidades de insetos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra. 108

Figura 5. 5. Curvas de rarefação (vermelho) para riqueza de ordens de insetos em função da abundância de indivíduos na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST), capturados com armadilha colorida e guarda-chuva entomológico (linhas azuis= IC 95%). ... 109

Figura 5. 6. Curvas de rarefação (vermelho) para riqueza de ordens de insetos em função da abundância de indivíduos na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST) nas estações chuvosa (a) e seca (b), capturados com armadilha colorida e guarda-chuva entomológico (linhas azuis= IC 95%)..... 110

Figura 5. 7. Curvas de rarefação (vermelho) para espécies de potenciais herbívoros em função da abundância de indivíduos capturados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST), utilizando armadilha colorida e guarda-chuva entomológico (linhas azuis= IC 95%). 112

Figura 5. 8. Dendograma representativo da similaridade (coeficiente de *Bray Curtis*) entre as comunidades de potenciais herbívoros amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da

Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra.....	116
Figura 6. 1. Relação entre herbivoria foliar média (%) e os escores dos eixos 1 (a) e 2 (b) da análise de componentes principais (ACP) dos dados de RMN dos pares congênericos de plantas coocorrentes na Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○) nas estações chuvosa e seca. Correlação de Pearson, $p>0,05$. $N=20$. Coeficiente de correlação de Pearson (r), $p>0,05$	122
Figura 6. 2. Relação entre herbivoria foliar (%), abundância e riqueza de potenciais herbívoros amostrados nos pares congênericos de plantas estudados. Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○). $N= 20$. $r=$ coeficiente de correlação de Pearson, $p>0,05$	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 3. 1. Porcentagem de recuperação de nutrientes no padrão internacional de folhas de maçã (<i>Apple Leaves Standard Reference Material 1515</i>).	39
Tabela 3. 2. Guilda de herbívoros por meio do registro do tipo de dano foliar por herbivoria provocado por insetos em folhas dos pares congênicos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) em maio e setembro de 2013, e janeiro e agosto de 2015. N=5.	44
Tabela 3. 3. Cobertura de tricomas foliares dos pares congênicos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e restinga (REST). 0= glabra; 1= rara (até 20%), 2= frequente (21-50%), 3= densa (51-70%) e 4= muito densa (> 70%). N=5.....	45
Tabela 3. 4. Valores médios das concentrações de fenóis totais expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato dos pares congênicos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e restinga (REST). Asterisco indica diferença significativa, Teste T, $p \leq 0,05$. N=10. dp= desvio padrão.	51
Tabela 3. 5. Valores dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis relacionadas e os autovetores das análises de componentes principais (ACP) das pares congênicos amostrados na Floresta Ombrófila Densa e Restinga. C= carbono; N= nitrogênio; Ca= Cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar; TA= teor de água e FT= fenóis totais. N=20.	54
Tabela 3. 6. Herbivoria e atributos foliares (média \pm desvio padrão) das espécies amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Restinga (REST), seguidos dos valores de significância (p) e fração da variância explicada (r^2) pelo tipo funcional= áreas estudadas (TF) e pelo gênero (G). Anova fatorial, $p < 0,05$ (destacado em negrito). C= carbono orgânico; N= nitrogênio total; Ca= cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar TA= teor de água, C/N, C/P e N/P (razão por peso). N=10.	58
Tabela 4. 1. Triagem fitoquímica comparativa dos extratos de folhas dos gêneros de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST). Al= alcaloides, ES= esteroides, TR= triterpenoides, SA= saponinas, FL= flavonoides, FT= fenóis totais expresso em mg de EAG/g de extrato, AO= atividade antioxidante. 1ª= Estação chuvosa e 2ª= Estação seca.	79
Tabela 4. 2. Valores de comprimento de onda de bandas de absorção de espectros de infravelho de extratos brutos de folhas de pares congênicos de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) em maio de 2013. Valores destacados em negrito indicam faixas de absorção mais intensas e/ou sublinhados indicam maior quantidade de bandas, respectivamente.	88
Tabela 4. 3. Valores de comprimento de onda de bandas de absorção de espectros de infravelho de extratos brutos de folhas de pares congênicos de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) em setembro de 2013. Valores destacados em negrito indicam faixas de absorção mais intensas e sublinhados indicam maior quantidade de bandas de absorção, respectivamente.	89

Tabela 4. 4. Valores dos coeficientes de correlação entre as variáveis relacionadas e os autovetores das análises de componentes principais (ACP) das pares congênericos amostrados na Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga. N=20.	93
Tabela 5. 1. Número de indivíduos, abundância total e relativa das ordens de insetos coletados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra, utilizando a armadilha colorida e guarda-chuva entomológico. Ausência de diferença estatística entre áreas para cada método e para a abundância total entre as áreas (FOD e REST), Teste Man-Whitney, $p \geq 0,05$, N= 13.....	108
Tabela 5. 2. Abundância e riqueza das ordens de insetos amostradas na armadilha colorida (PT) e no guarda-chuva (GC) na estação seca (SE) e chuvosa (CH) de 2013 e 2015.....	110
Tabela 5. 3. Abundância (e riqueza) de potenciais herbívoros amostrados em armadilha colorida e guarda-chuva na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Rebio União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga (REST) da RPPN Caruara em São João da Barra.	112
Tabela 5. 4. Valores de abundância e riqueza (média \pm desvio padrão) dos potenciais insetos herbívoros mastigadores associados aos pares congênericos de plantas da Floresta Ombrófila Densa (FOD) e da Mata de Restinga (REST). Teste pareado de Wilcoxon (W), $p < 0,05$. N= 10.	114
Tabela 5. 5. Abundância e riqueza total, e índice de diversidade de Shannon (H') dos potenciais insetos herbívoros associados aos pares congênericos de plantas situados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga (REST) da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara em São João da Barra. *Indica diferença significativa entre as áreas. Teste t de diversidade de Shannon, $p < 0,05$	114
Tabela 5. 6. Abundância (riqueza) dos potenciais insetos herbívoros associados aos pares congênericos de plantas situados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra.	115
Tabela 6. 1. <i>Ranking</i> das porcentagens de herbivoria foliar dos pares congênericos de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST) nas estações chuvosa (maio/2013) e seca (setembro/2013). Cada cor representa um gênero de planta. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os gêneros dentro de cada coluna. ANOVA one-way ($p < 0,05$). N= 5.	124

LISTA DE ABREVIATURAS

ACD/Lab – Advanced Chemistry Development
ACP – Análise de Componentes Principais
AF – Área foliar
AL – Alcaloide
ANOVA – Análise de Variância
AO – Atividade antioxidante
Ca – Cálcio
C – Carbono
CNBH – Carbon-Nutrients Balance Hypothesis
Cu – Cobre
DAP – Diâmetro à altura do peito
DAS – Diâmetro à altura do solo
DMSO – solvente deuterado dimetilsulfóxido
DPPH – Difenilpicrilhidrazil
EM – espectroscopia de massa
ES – Esteroide
ESI-MS – Espectrometria de massa de ionização “electrospray”
EtOH – Etanol
FL-Flavonoide
FOD – Floresta Ombrófila Densa
FT – Fenóis totais
FT – Fenóis totais
FTSS – Florestas tropicais sazonalmente secas
FTU – Florestas tropicais úmidas
GC – Guarda-chuva entomológico
GDBH – Growth-differentiation Balance Hypothesis
GLM – General Linear Models
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
INMET – Instituto Nacional de Meteorologia
IV – Infravermelho
K – Potássio

KBr – brometo de potássio
LCA – Laboratório de Ciências Ambientais
LCA – Laboratório de Ciências Ambientais
LCQUI - Laboratório de Ciências Química
LEF – Laboratório de Entomologia e Fitopatologia
MeOH – Metanol
MFA – Massa seca por unidade de área
Mg – Magnésio
Na – Sódio
N – Nitrogênio
P – Fósforo
PT – armadilhas coloridas
r= coeficiente de correlação
RAH – Resource Availability Hypothesis
ReBio – Reserva Biológica União
REST – Mata de Restinga
RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPPN – Reserva Particular do Patrimônio Natural
S- Enxofre
SA – Saponinas
SS fator – soma dos quadrados de um fator
SStotal – soma total dos quadrados
TA – Teor de água
TR – Triterpenoides
UV- ultra-violeta
UV-VIS – Ultravioleta-visível
Zn – Zinco

RESUMO

O presente estudo foi realizado em dois ambientes edafoclimaticamente contrastantes de Mata Atlântica representados pela Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST) no Estado do Rio de Janeiro. Os principais objetivos do estudo foram verificar se: (1) as porcentagens de herbivoria foliar de pares congênicos arbustivo-arbóreos diferem entre duas formações vegetacionais de Mata Atlântica edafoclimaticamente distintas (e.g. FOD e REST); (2) a qualidade foliar como, maiores concentrações de nutrientes e menores concentrações de defesas influenciam na herbivoria entre pares congênicos arbustivo-arbóreos, e (3) a comunidade de insetos herbívoros influenciam os padrões de herbivoria encontrados nos dois ambientes. O estudo testou as seguintes hipóteses: a intensidade da herbivoria foliar das espécies difere entre os ambientes, com as espécies da FOD apresentando maiores porcentagens de herbivoria que as espécies da REST, em função da melhor qualidade foliar (maiores concentrações de nutrientes e menores concentrações de defesas) e também devido à formação de diferentes microclimas na FOD permitirem a maior riqueza e abundância de insetos herbívoros. Os resultados encontrados revelaram que existe diferença na herbivoria foliar entre pares congênicos da FOD e REST, com os gêneros da FOD apresentando maiores valores de herbivoria. A melhor qualidade foliar, como maiores concentrações de nutrientes e menores bioprodução de metabólitos especiais na FOD comparada com a REST parece contribuir para os menores valores de herbivoria nesta área corroborando a hipótese testada. A maior riqueza, porém menor abundância de potenciais herbívoros em pares congênicos na FOD do que na REST corroborou parcialmente a hipótese de que a maior heterogeneidade ambiental na FOD permitiria uma maior riqueza e abundância de insetos herbívoros. Assim, os resultados encontrados sugerem que o ambiente e não a filogenia parece explicar melhor a variação interespecífica da herbivoria e da bioprodução de metabólitos especiais em plantas da Mata Atlântica.

ABSTRACT

The present study was carried out in two contrasting Atlantic Forest edaphoclimatic environments, represented by an Rainforest (RF) and a Restinga Forest (REST) in the State of Rio de Janeiro. The main objectives of the study were to verify if: (1) the foliar herbivory percentages of congeneric shrub-arboreal pairs differ between two edaphoclimatically distinct vegetation Atlantic Forest formations (e.g RF and REST); (2) if leaf quality, such as higher nutrient concentrations and lower defense concentrations, influence herbivory between congeneric shrub-tree pairs, and (3) if the community of herbivorous insects influences the herbivory patterns found in both environments. The study tested the following hypotheses: the intensity of foliar herbivory of the species differs between environments, with RF species presenting higher percentage herbivory rates than REST species, due to better leaf quality (higher nutrient concentrations and lower defense concentrations) and also due to the formation of different RF microclimates that allow for greater richness and abundance of herbivorous insects. The results indicate that there is a difference in foliar herbivory between RF and REST congeneric pairs, with RF genera showing higher herbivory values. The higher foliar quality, such as higher nutrient concentrations and lower bioproduction of special metabolites, in RF compared to REST seem to contribute to the higher herbivory values in this area, corroborating the tested hypothesis. The higher richness but lower abundance of potential insect herbivores in congeneric RF pairs compared to REST partially corroborated the hypothesis that greater RF environmental heterogeneity would allow for greater species richness and abundance of herbivorous insects. Thus, the results suggest that the environment, rather than phylogeny, seems to better explain the interspecific herbivory variations and bioproduction of special metabolites in Atlantic Rainforest plants.

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Interação entre insetos herbívoros e plantas

Os insetos surgiram na Terra por volta de 430 milhões de anos atrás e inicialmente se alimentavam de esporos e polens (Del-Claro, 2012). Hoje, cerca de 50% das espécies de insetos descritas são principalmente herbívoras (Silva-Brandão & Freitas, 2012). Assim, plantas e insetos herbívoros passaram a estabelecer interações antagônicas, podendo a herbivoria ser considerada como predação, quando um animal se alimenta da planta toda, destrói inflorescência ou sementes; ou como parasitismo, quando um animal remove apenas uma parte da planta, sem levá-la a morte (Cornelissen & Fernandes, 2003; Del-Claro, 2012). Entretanto, em alguns casos o ataque por herbívoros pode proporcionar benefícios para a planta, ao promover o crescimento, produção de folhas, floração, frutificação de determinadas espécies vegetais (Nascimento & Hay, 1993, 1994; Cornelissen & Fernandes, 2003; Cozzolino *et al.*, 2015) e também ao torná-las mais resistentes a predadores de sementes (McArt *et al.*, 2013).

Dentro deste contexto, a relação entre plantas e herbívoros é considerada uma das interações entre espécies mais relevantes na natureza, pelo fato dos herbívoros consumirem, em média, mais de 15% da biomassa produzida anualmente de diferentes ecossistemas tropicais e temperados, sendo o principal fornecedor de energia para as teias alimentares (Agrawal, 2011; Johnson, 2011). Tal fato sustenta a hipótese de que a interação de herbivoria impõe uma força seletiva importante, sendo um dos principais fatores que afetam a ecologia e a evolução das plantas (Fine *et al.*, 2004, 2006; Agrawal *et al.*, 2012). Esta ideia foi primeiramente desenvolvida por Ehrlich e Raven (1964), os quais propuseram o modelo de “coevolução”, utilizado para explicar a diversidade de plantas terrestres e insetos herbívoros, por meio de mecanismos de adaptações recíprocas. A coevolução pode ser definida como evolução de uma característica de uma determinada espécie como, por exemplo, a capacidade de um inseto em metabolizar substâncias tóxicas para benefício próprio, em resposta a presença de tais substâncias no seu hospedeiro (Gullan & Cranston, 2007; Aoyama & Labinas, 2012; Bruce, 2014).

Assim, ao longo do tempo evolutivo, a pressão de herbivoria proporcionou o desenvolvimento de vários mecanismos defensivos contra diferentes estratégias de alimentação dos insetos (Coley & Barone, 1996; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013; Gong & Zhang, 2014; Campbell, 2015). As principais estratégias desenvolvidas pelas plantas são constituídas por defesas físicas (e.g. dureza e tricomas), químicas (e.g. alcaloides e taninos), bióticas (e.g. associação com espécies protetoras e emissão de compostos voláteis que atraem inimigos naturais dos herbívoros) (Coley & Barone, 1996; Del-Claro, 2012; Marquis, 2012; Oliveira *et al.*, 2012) e fenológicas (e.g. produção de folhas quando os herbívoros são escassos; sincronismo foliar) (van Asch & Visser, 2007; Lamarre *et al.*, 2014). Em contrapartida, os insetos mais especializados desenvolveram estratégias para superar as barreiras impostas pelas plantas, como desintoxicação de substâncias tóxicas (Agrawal & Konno, 2009; Del-Claro, 2012; Trigo *et al.*, 2012), adaptação às mudanças fenológicas e/ou de desenvolvimento das plantas (Del-Claro, 2012; Lamarre *et al.*, 2014) e mudanças comportamentais para escaparem da ação de predadores mutualistas das plantas (Del-Claro, 2012; Oliveira *et al.*, 2012).

Os herbívoros terrestres são diversos variando desde pequenos invertebrados (como insetos e moluscos), a grandes vertebrados terrestres, principalmente os ungulados (Huntly, 1991; Gong & Zhang, 2014). Embora os grandes herbívoros sejam reconhecidos por influenciarem na biodiversidade de pastagens (Gong & Zhang, 2014), os insetos herbívoros são os consumidores mais importantes por serem responsáveis por mais de 90% da herbivoria foliar em florestas neotropicais (Adams *et al.*, 2009; Moctezuma *et al.*, 2014).

Os insetos herbívoros podem ser classificados de acordo com a sua preferência alimentar, sendo monófagos, aqueles que têm uma relação de alimentação específica com uma só espécie ou gênero de planta; oligófagos, os que são especializados em consumir apenas uma família de planta; e polífagos (também conhecidos como generalistas), aqueles que se alimentam de várias famílias de plantas, não tendo relação específica com nenhuma destas famílias (Gullan & Cranston, 2007; Howe & Jander, 2008; Ali & Agrawal, 2012; Trigo *et al.*, 2012).

Os insetos generalistas geralmente causam menos danos que os especialistas, respondem a uma variedade de compostos químicos diferentes

(Coley & Barone, 1996; Barone, 1998), devendo, portanto apresentar mecanismos “gerais” para tolerar uma série de defesas das plantas (Ali & Agrawal, 2012). Todavia, os insetos especialistas, além de provocarem mais impacto na planta hospedeira (Coley & Barone, 1996; Barone, 1998), evoluíram a capacidade de utilizar determinadas defesas para benefício próprio (Coley & Barone, 1996; Ali & Agrawal, 2012).

Em florestas tropicais a mastigação por insetos é responsável por mais de 90% da herbivoria foliar (Adams *et al.*, 2009; Moctezuma *et al.*, 2014), seguido pelas minas com 4%, e por seguinte, as galhas e esqueletização (“*skeletonization*”), as quais representam juntas apenas 1,3% do dano por herbivoria (Adams *et al.*, 2009). Essa predominância de danos provocados por insetos mastigadores também tem sido observada em vários estudos de fragmentos de Mata Atlântica de diferentes tamanhos (Leal *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2013). Embora os insetos sugadores de seiva ocasionem danos menos visíveis e mais difíceis de quantificar, podem remover uma quantidade substancial da biomassa vegetal como os mastigadores de folhas (Leigh, 1997). Muitas espécies de insetos sugares são consideradas pragas agrícolas importantes, podendo causar retardo no desenvolvimento da planta, transmissão de viroses e introdução de sáliva tóxica nos tecidos vegetais (Gullan & Cranston, 2007).

1.2 Padrões de herbivoria em florestas tropicais

Existem padrões de herbivoria para florestas tropicais que já são bem estabelecidos na literatura, podendo ocorrer devido a diferenças em vários fatores, como tipo florestal, estágio foliar, sazonalidade climática, grupo funcional da espécie, e também da disponibilidade de recursos (qualidade dos solos principalmente).

1.2.1 Floresta tropical úmida x floresta tropical sazonalmente seca

Variações nos padrões de herbivoria ocorrem ao longo de um gradiente de pluviosidade e também devido a variações na fenologia das plantas, diferindo entre florestas tropicais úmidas (FTU) e florestas tropicais sazonalmente secas (FTSS), visto que mudanças nas características das folhas e pluviosidade podem influenciar a alimentação e desenvolvimento dos herbívoros, e por conseguinte, nos níveis tróficos superiores (Coley & Barone, 1996; Dirzo & Boege, 2008). Espécies de FTSS apresentam maiores valores de herbivoria por ano (14%) comparativamente às espécies de crescimento lento de FTU (11%) (Coley & Barone, 1996), havendo um padrão altamente sazonal nos níveis de herbivoria (Coley & Barone, 1996; Basset *et al.*, 2003). Vários estudos têm argumentado que a intensa pressão de seletiva de herbivoria em espécies sempre-verdes de FTU resultou na evolução de plantas com maior resistência química à herbivoria foliar (Dirzo & Dominguez, 1995; Coley & Barone, 1996; Dirzo & Boege, 2008), sugerindo que folhas de espécies caducifólias são mais palatáveis para os insetos herbívoros (Coley *et al.*, 1985; Coley, 1988; Coley & Barone, 1996, Marquis *et al.*, 2002), refletindo em maiores níveis de herbivoria em FTSS.

As plantas geralmente são mais atacadas na estação chuvosa quando comparadas com a estação seca (Aide, 1992; Aide, 1993; Coley & Barone, 1996; Araújo, 2013; Silva & Neves, 2014). Esta maior taxa de herbivoria tem sido associada ao aumento da produção de folhas na estação chuvosa, proporcionando maior quantidade de recursos de melhor qualidade nutricional para os insetos herbívoros (Nascimento & Proctor, 1994; Coley *et al.*, 2006; Kursar *et al.*, 2006; Paul *et al.*, 2012; Araújo, 2013). Ademais, o aumento da umidade relativa do ar na estação chuvosa proporciona também um ambiente mais favorável ao desenvolvimento e sobrevivência dos insetos herbívoros de vida livre, visto que diminui a probabilidade de sofrerem dessecação e desidratação, principalmente em ambientes sazonais (Wolda, 1988; Araújo, 2013).

1.2.2 Estádio foliar

Folhas novas de plantas de florestas tropicais geralmente apresentam altas porcentagens de herbivoria quando comparadas com folhas maduras (Coley, 1983; Coley *et al.*, 2006; Kursar *et al.*, 2006; Gherlenda *et al.*, 2016), com uma taxa de dano diária de 5 a 25 vezes maior em folhas novas do que em folhas maduras (Coley & Barone, 1996). A maior herbivoria em folhas novas está relacionada à maior qualidade foliar (Kursar & Coley, 2003; Kursar *et al.*, 2006; Varanda *et al.*, 2008; Paul *et al.*, 2012), sendo a taxa de crescimento de lagartas criadas em laboratório cerca de 60% maior em folhas novas (Kursar *et al.*, 2006).

1.2.3 Grupos funcionais (pioneiras x tardias)

Estudos têm revelado que espécies pioneiras geralmente são mais atacadas por herbívoros que espécies tardias (Coley *et al.*, 1985; Coley, 1987; Coley & Barone, 1996; Fine *et al.*, 2006; Endara & Coley, 2011; Massad *et al.*, 2011), sendo a herbivoria seis vezes maior em folhas maduras nas espécies de plantas pioneiras (Coley, 1983). Este padrão de herbivoria ocorre porque o custo e o benefício do investimento em defesas anti-herbívoros dependem da taxa intrínseca de crescimento das espécies de plantas (Coley, 1987; Coley & Barone, 1996; Endara & Coley, 2011). Neste sentido, espécies de crescimento rápido (pioneiras e secundárias iniciais), adaptadas para crescer em ambientes com alta disponibilidade de recursos investem mais em crescimento que na produção de defesas, sendo, portanto, mais susceptíveis a herbivoria, diferentemente das espécies de crescimento lento, que investem mais em defesas em detrimento do crescimento, e são adaptadas a ambientes com baixa disponibilidade de recursos (Coley *et al.*, 1985; Coley, 1987; Coley & Barone, 1996; Endara & Coley, 2011). A maior tolerância à herbivoria de plantas presentes em ambientes ricos em recursos tem sido associada a maior capacidade de essas plantas reporem os tecidos perdidos por herbivoria do que aquelas adaptadas a crescerem em ambientes com menor disponibilidade de recursos, pois a reposição de tecidos é altamente custosa para plantas deste ambiente (Coley *et al.*, 1985; Fine *et al.*, 2004; Agrawal, 2006).

1.2.4 Herbivoria em solos argilosos e arenosos

Ao longo do tempo evolutivo, os herbívoros vêm desempenhando um papel significativo na pressão seletiva e na adaptação das plantas a ambientes com diferentes condições abióticas (Coley *et al.*, 1985). Esta adaptação evolutiva está relacionada à disponibilidade de recursos no ambiente, afetando os diferentes tipos e quantidades de defesas de plantas, tornando-as mais ou menos vulneráveis frente à herbivoria (Bryant *et al.*, 1983; Coley *et al.*, 1985).

Um experimento de simulação da herbivoria realizado na Amazônia Peruana, envolvendo transplantes de mudas de seis gêneros com características filogeneticamente independentes, revelou que todas as plantas transplantadas para floresta de solo arenoso (solo infértil) tinham mortalidade significativamente maior do que aquelas transplantadas para floresta de solo argiloso (solo fértil) quando ambas foram desfolhadas artificialmente (Fine *et al.*, 2006). No mesmo experimento de desfolhação foi verificado que espécies especialistas de solos de areia branca sofreram maior mortalidade do que as espécies especialistas de solos argilosos (Fine *et al.*, 2006). Espécies de plantas especialistas de solos argilosos crescem mais rápido do que as espécies especialistas de solos arenosos nos dois tipos de solos (arenoso e argiloso) na ausência de herbívoros (Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006). No habitat de areia branca, as espécies de plantas especialistas de areia branca apresentaram maior taxa de crescimento do que as especialistas de solos argilosos na presença de herbívoros. Além disso, as espécies especialistas de solos argilosos dominaram os ambientes de solos argilosos e o mesmo foi verificado para as espécies especialistas de solos arenosos (Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006). Estes resultados confirmam que espécies de plantas especialistas de areia branca apresentam uma troca na alocação de recursos para crescimento e defesas, onde congêneres especialistas de solos arenosos investiram mais em defesas que seus respectivos congêneres especialistas de solos argilosos (Fine *et al.*, 2006), visto que para espécies de solos arenosos seria difícil substituir tecido perdido por herbivoria (Coley *et al.*, 1985; Coley, 1987). Embora o potencial de ataque de herbívoros tenha sido semelhante nos dois habitats (solos argilosos e arenosos), o impacto da herbivoria sobre o crescimento e sobrevivência das plantas foi muito mais forte na floresta de

areia branca, indicando a existência de uma forte seleção para defesas mais eficazes neste tipo de solo (Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006; Fine & Mesones, 2011).

1.3 Metabólitos especiais em plantas

Os compostos secundários das plantas são conceituados por Gottlieb *et al.* (1996) como metabólitos especiais, dadas as características conspícuas destas substâncias (e.g. polaridade, pequena massa molecular, ocorrência esporádica, potencial antioxidante) e não apenas por terem sido formados a partir dos metabólitos primários. Até meados do século XX, imperou o conceito de que estes compostos eram refugos desprovidos de significado. Hoje, sabe-se que os metabólitos especiais resultam da especialização celular e suas manifestações ao longo do desenvolvimento da planta se devem a expressão diferencial dos genes (Gottlieb *et al.*, 1996). Nos vegetais superiores, tais metabólitos estão geralmente presentes em alta diversidade estrutural (Wink, 2003), provavelmente excedendo os 200.000 compostos distintos em aproximadamente 350.000 espécies de angiospermas (Wink, 2008).

As funções que os metabólitos especiais desempenham nos organismos que os produzem não são todas conhecidas e claras (Castro *et al.*, 2004; Carmona *et al.*, 2011). No entanto, muitas funções destes compostos já têm sido esclarecidas, como por exemplo, o escaleno, um triterpeno que tem a função vital na manutenção da integridade estrutural de membranas celulares e participa da regulação da sua permeabilidade (Castro *et al.*, 2004). De modo geral, tais metabólitos são utilizados também para manter o metabolismo básico, na situação em que os seus substratos normais, pelo empobrecimento de nutrientes, não possam mais ser explorados para o crescimento e replicação normal das células. Podem ser produzidos também nas situações em que a síntese de metabólitos primários seja inibida pelos produtos excedentes (Gottlieb *et al.*, 1996; Castro *et al.*, 2004).

Do ponto de vista ecológico, de modo geral, os compostos especiais de plantas atuam afastando ou intoxicando os herbívoros (Gullan & Cranston, 2007; Trigo *et al.*, 2012). Além disso, determinadas plantas emitem substâncias voláteis, as quais atraem predadores de insetos e assim protegendo-as contra

as ameaças futuras. Essas substâncias são sinalizadas por meio de reconhecimento de secreções orais do inseto e sinais de ferimento de células vegetais. Paralelamente, os insetos mais especializados desenvolveram estratégias para superar as barreiras de plantas, como a desintoxicação de substâncias tóxicas (Agrawal & Konno, 2009; Trigo *et al.*, 2012).

Algumas classes de metabólitos especiais são consideradas importantes no estudo de interações inseto-planta como os alcaloides, terpenoides, compostos fenólicos e derivados de ácidos graxos (Trigo *et al.*, 2012), influenciando nos níveis de herbivoria dentro de espécies ou entre parentes próximos (Agrawal & Weber, 2015). Estes compostos são constituídos basicamente de carbono, hidrogênio e oxigênio, exceto os alcaloides que apresentam também o nitrogênio em sua estrutura química. Os alcaloides de modo geral são tóxicos para os insetos e não tem nenhuma função primária para as plantas (Castro *et al.*, 2004; Agrawal & Konno, 2009). Os terpenoides também podem apresentar toxidez para os insetos e/ou cumprir outras funções, tais como atrativo para polinizadores, além de desempenharem outros papéis na produção primária (ex. carotenoides) (Agrawal & Konno, 2009). Os fenóis, além de funcionarem como compostos de defesas contra herbivoria protegem a planta contra a radiação UV, dentre outras finalidades. Os derivados de ácidos graxos são responsáveis pela liberação de compostos voláteis e são importantes na ativação da expressão gênica de muitos mecanismos de defesas, como o aumento dos terpenoides (Trigo *et al.*, 2012).

Uma nova abordagem para o estudo de metabólitos especiais tem sido a metabolômica, ou seja, o estudo sistemático do metabolismo de organismos e processos celulares que envolvem o conjunto de metabólitos que são produzidos ou modificados em um organismo (Villas-Bôas & Gombert, 2006). Alteração do nível de apenas um metabólito em uma célula proporciona alterações no nível de diversos outros metabólitos que estão ligados direta ou indiretamente a este, funcionando como um sistema em cascata o que pode acarretar uma resposta a qualquer alteração ambiental e/ou genética (Villas-Bôas & Gombert, 2006). Essa interconexão do metabolismo celular dificulta extremamente a interpretação dos dados metabólicos. Portanto, o metaboloma vem sendo estudado por meio da aplicação de métodos eficientes de preparação de amostras associados a uma combinação de diferentes técnicas

analíticas modernas, de modo a se obter a maior quantidade de informação possível.

O metaboloma tem sido cada vez mais utilizado em estudos ecológicos e genéticos, envolvendo o entendimento das respostas dos organismos ao estresse abiótico e biótico (Bundy *et al.*, 2009; Rivas-Ubach *et al.*, 2012; Macel *et al.*, 2014). Os principais fatores que podem alterar ou coordenar a taxa de metabólitos especiais são: sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos e herbívoros (Bundy *et al.*, 2009; Rivas-Ubach *et al.*, 2012; Macel *et al.*, 2014).

Análise da metabolômica das plantas abrange tanto os compostos de defesas quanto a qualidade nutricional das mesmas, podendo ser extremamente útil para obter conhecimento sobre os mecanismos de resistência à herbivoria (Macel *et al.*, 2010). Existem alguns trabalhos recentes de metabolomas de plantas que tem sido aplicado com sucesso no estudo das interações inseto-planta (Widarto *et al.*, 2006; Arany *et al.*, 2008; Jansen *et al.*, 2009; Sardans *et al.*, 2013; Macel *et al.*, 2014), porém, cabe ressaltar que a maioria destes estudos foram realizados em ambientes controlados de laboratório, não havendo estudos realizados em comunidades naturais.

A análise do metaboloma envolve a determinação dos níveis (ou concentrações) de compostos químicos de baixa massa molar (menor que 1000 Dalton). Do ponto de vista analítico há basicamente duas abordagens para analisar o metaboloma (a) análise direcionada e (b) perfil metabólico (Villas-Bôas & Gombert, 2006). A diferença entre estas abordagens consiste, na primeira, que compreende a determinação de um grupo de metabólitos pré-definidos, ignorando outros que porventura sejam detectados ou detectáveis durante a análise. Por outro lado, o perfil metabólico pode ser definido como o conjunto de todos os metabólitos (identificáveis ou não) que sejam detectados numa amostra usando uma técnica analítica particular, acompanhado por uma estimativa de quantidade (absoluta ou relativa). Normalmente, no perfil metabólico, faz-se uso de separações cromatográficas bastante eficientes, mas, muitas vezes uma boa resolução pode ser obtida usando-se poderosos detectores químicos, como RMN (Ressonância Magnética Nuclear), espectroscopia de Infravermelho usando transformação de Fourier ou a

espectrometria de massa de ionização “electrospray” (ESI-MS). Esses detectores são normalmente empregados para classificar rapidamente as amostras por análise de dados multivariados ou quimiometria.

Variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como nas proporções relativas de metabólitos especiais em plantas ocorrem em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter - intraespecífica). Apesar da existência do controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (Meyer *et al.*, 1982; Siqueira *et al.*, 1998). Cada categoria biossintética de metabólitos especiais pode compreender um número fabuloso de derivados. Não se trata de uma variação quantitativa dos metabólitos, mas apenas de uma diversificação qualitativa. Esta diversificação deve desempenhar uma função altamente benéfica, pois confere plasticidade filogenética ao organismo em diferentes ambientes. Sem esta plasticidade as plantas não resistiriam mais facilmente ao ataque por herbívoros e mudanças do ambiente (Darrow & Bowers, 1997). A diversificação metabólica assim possui fundamento ecológico e a biodiversidade afeta o funcionamento coeso de ecossistemas.

A hipótese de conservadorismo filogenético prevê que os caminhos bioquímicos necessários para a produção de defesas são complexos o suficiente que eles provavelmente evoluem apenas uma ou algumas vezes, seguido por modificação posterior dentro de um clado (Agrawal, 2006). Assim, espécies estreitamente relacionadas compartilham mais características defesas do que espécies de maior distância filogenética (Agrawal, 2006). A dominância de classes particulares de defesas químicas em certas famílias de plantas é um exemplo notável de conservadorismo, como por exemplo, os glicosinolatos entre espécies de mostardas da família Brassicaceae e alcaloides de tropanicos dentro das Solanaceae (Agrawal, 2006).

Estudos ecológicos utilizando pares congêneros têm sido extensivamente realizados em comparações de características de plantas de cerrado e mata de galeria (Hoffmann & Franco, 2003; Rossatto *et al.*, 2009; Rossatto *et al.*, 2013), não havendo comparações desta natureza entre Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga. Estes estudos são extremamente importantes para o entendimento das diferentes pressões

seletivas que diferentes fisionomias florestais estão sendo submetidos (Rossatto *et al.*, 2013). Hoffmann e Franco (2003) destacam a importância da consideração da filogenia nestes estudos comparativos, onde a variação de características entre plantas de cerrado e de mata de galeria só foram diferentes entre os ambientes quando analisadas as espécies em gêneros, ou seja, mesmo gênero em diferentes áreas. Por meio destes estudos torna-se possível analisar as diferentes adaptações através de uma perspectiva evolutiva de espécies filogeneticamente relacionadas. Tais informações são importantes para determinar se as espécies são semelhantes por causa da evolução convergente em função da pressão ambiental ou por causa da descendência de um ancestral comum (Hoffmann & Franco, 2008). Se um conjunto de defesas, por exemplo, tem evoluído de forma independente, sugere-se que a seleção natural proporcionou a evolução convergente destas adaptações. Se espécies estreitamente relacionadas compartilham um conjunto de defesas, então a ancestralidade comum é suficiente para explicar tal associação (Agrawal & Fishbein, 2006).

1.4 Qualidade foliar e disponibilidade de recursos no ambiente

Plantas de florestas tropicais são conhecidas por conter um conjunto de defesas nutricionais e estruturais como baixa qualidade nutricional e maior dureza; defesas químicas como uma grande variedade de metabólitos especiais em folhas (Coley & Barone, 1996; Coley, 1998; Marquis *et al.*, 2012), sendo as características estruturais e nutricionais mais eficientes para conter ou minimizar a herbivoria (Marquis *et al.*, 2012; Cárdenas *et al.*, 2014). As plantas de florestas tropicais apresentam também uma grande heterogeneidade na composição elementar das folhas (Townsend *et al.*, 2008; Peñuelas *et al.*, 2013), podendo influenciar o comportamento dos herbívoros e as estratégias de defesas das plantas (Mundim *et al.*, 2009; Peñuelas *et al.*, 2013). Assim, os níveis de herbivoria na comunidade são reflexos da palatabilidade das diferentes espécies de plantas para os insetos herbívoros (Endara & Coley, 2011). A qualidade nutricional das plantas não corresponde somente aos nutrientes disponíveis para os insetos, mas também a presença de defesas (Awmack & Leather, 2002; Marquis, 2012). Tecidos estruturais e

compostos como ligninas e taninos, por exemplo, reduzem a capacidade dos herbívoros consumir e digerir tecidos foliares (Coley, 1983; Kitajima *et al.*, 2012; Marquis, 2012).

As concentrações de nutrientes nas plantas são muito variáveis devido a diferenças genéticas dentro e entre espécies, e também devido às alterações na disponibilidade de recursos no ambiente (Bryant *et al.*, 1983; Coley *et al.*, 1985; Peñuelas & Estiarte, 1998; Endara & Coley, 2011), consequentemente causando diferenças nos níveis de herbivoria. As hipóteses do “balanço carbono-nutrientes” (Bryant *et al.*, 1983); do “balanço diferenciação-crescimento” (Herms and Mattson 1992); e da “disponibilidade de recursos (ou hipótese da taxa de crescimento)” (Coley *et al.*, 1985) predizem que há uma maior produção de compostos baseados em carbono quando há baixa disponibilidade de nutrientes no ambiente.

A hipótese do balanço carbono-nutrientes (CNBH – *Carbon-Nutrients Balance Hypothesis*) propõe que as concentrações de metabólitos especiais baseados em carbono ou em nitrogênio são determinadas pelo balanço carbono/nutrientes da planta, sendo este balanço influenciado pela disponibilidade de luz e de nutrientes no solo (Bryant *et al.*, 1983). Neste sentido, metabólitos especiais baseados em carbono como fenóis totais correlacionam positivamente com a razão carbono/nutrientes (C/N), enquanto os compostos especiais baseados em nitrogênio, como alcaloides apresentam correlação inversa com a razão C/N (Bryant *et al.*, 1983). Em condições de deficiência de nutrientes moderada no solo, o crescimento é mais limitado que a fotossíntese, acarretando em um acúmulo de carboidratos nos tecidos das plantas, aumentando a razão C/N. Padrão inverso ocorre quando há excesso de nutrientes, fazendo com que a fotossíntese seja mais limitada que o crescimento. Assim, o aumento na concentração de nutrientes no solo provoca uma diminuição na razão C/N, pois a alocação de recurso para o crescimento faz com que haja um declínio da produção de compostos secundários baseados em carbono. Quando há excesso de nitrogênio assimilado, este pode ser desviado para a produção de metabólitos especiais baseados em nitrogênio, como alcaloides (Bryant *et al.*, 1983). Uma crítica desta hipótese é que ela não prevê adequadamente as diferenças das defesas entre espécies e genótipos em ambientes com diferentes disponibilidades de recursos, não

levando em consideração a pressão seletiva sobre as plantas e também a expressão gênica destas plantas (Lerdau & Coley, 2002).

A hipótese do Balanço Diferenciação-crescimento (GDBH – *Growth-Differentiation Balance Hypothesis*) não compara metabólitos baseados em C com os baseados em N em diferentes condições de luz e nutrientes no solo, diferindo da CNBH. Todavia, ela assume a CNBH, pois está fundamentada principalmente no *trade-off* fisiológico entre crescimento e processos de diferenciação, o qual inclui processos do metabolismo secundário. Qualquer fator ambiental que diminua o crescimento proporcionalmente mais que a fotossíntese, pode aumentar a disponibilidade de recursos para a alocação no metabolismo secundário (Herms & Mattson, 1992). Assim, o GDBH prevê que em condições de limitação de recursos a concentração de defesas e taxa de crescimento serão correlacionados positivamente, ao passo que quando os recursos são abundantes a correlação entre crescimento e defesas é inversa (Massad *et al.*, 2012).

Nos estudos de Massad *et al.* (2012) foram testadas as hipóteses do balanço carbono-nutrientes e do balanço diferenciação-crescimento, a partir quantificação de saponinas (triterpenoides) e flavanas (compostos fenólicos), bem como a biomassa e fotossíntese de plântulas de *Pentaclethra maculosa* (Fabaceae), uma espécie arbórea comum de floresta tropical da Costa Rica. Os autores verificaram que estas duas hipóteses foram parcialmente corroboradas. O *trade-off* previsto pelo GDBH entre crescimento e produção de metabólitos ocorreu somente entre flavanas e biomassa nas plantas cultivadas no sol, ou seja, sob condições de recursos abundantes, e na sombra o crescimento e a defesa foram correlacionados positivamente. Ao testar a CNBH, foi verificado que a concentração de flavanas declinou com nitrogênio, mas houve um aumento de saponinas, sugerindo que a produção deste metabólito também deve ser considerada neste tipo de estudo, não somente os compostos fenólicos. Outros estudos também observaram a existência de um *trade-off* entre taxa de crescimento e defesas de espécies de florestas tropicais (Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006, Fine & Mesones, 2011).

A hipótese de disponibilidade de recurso (RAH - *Resource Availability Hypothesis*) propõe que o custo e benefício do investimento em defesas anti-herbívoros dependem da taxa intrínseca de crescimento das espécies. Assim,

espécies de crescimento rápido investem mais em crescimento do que em defesas, diferentemente das espécies de crescimento lento, que investem mais em defesas do que em crescimento. Quando há limitação de recursos no ambiente, as plantas de crescimento lento são mais favorecidas do que aquelas de crescimento rápido. As plantas de crescimento lento que crescem em ambientes com baixa disponibilidade de recursos, de modo geral, foram selecionadas para ter um alto investimento em defesas quantitativas incluindo taninos e ligninas, as quais reduzem a digestibilidade dos tecidos da planta (Coley *et al.*, 1985). Essas adaptações são muito importantes, visto que as perdas de tecido por herbivoria causa uma diminuição da aptidão de plantas (Marquis, 1984; Sagers & Coley, 1995). Além disso, seria mais difícil para as plantas de ambientes com limitação de recursos no solo reporem os tecidos perdidos (Fine *et al.*, 2006; Fine *et al.*, 2011). Endara e Coley (2011) revisaram 50 estudos que avaliaram as defesas, taxa de crescimento e herbivoria em relação à disponibilidade de recursos. Os resultados encontrados pelos autores confirmam as previsões propostas inicialmente por Coley *et al.* (1985). Embora as defesas sejam universalmente maiores em espécies de crescimento lento, as diferenças nas defesas entre espécies de crescimento rápido e lento foram significativamente maiores em florestas tropicais do que em florestas temperadas. Tal fato sugere que em florestas tropicais há uma maior variedade e investimento em defesas, bem como uma maior taxa de crescimentos de plantas. Assim, tem sido sugerido que a hipótese de RAH é majoritariamente suportada em florestas tropicais (Endara & Coley, 2011).

Nos estudos de Gonçalves-Alvim *et al.* (2010) realizados ao longo de um gradiente de fertilidade em solos do Cerrado, foram testadas as hipóteses do balanço carbono/nutriente (BCN) e da disponibilidade de recursos (RAH) em *Qualea parviflora* (Vochysiaceae). Os autores verificaram que a disponibilidade de nutrientes para *Qualea parviflora* determina a produção de metabólitos especiais nesta espécie, visto que a porcentagem de taninos foi positivamente correlacionada com a razão C/N, indicando que mais carbono pode ser redirecionado para a produção de compostos fenólicos, como tanino. Todavia, a hipótese RAH, não foi corroborada, pelo fato de não haver correlação entre herbivoria e o teor de taninos, sugerindo que a produção de taninos não seja influenciada fortemente pela pressão de herbívoros em *Q. parviflora*.

Nos estudos sobre defesas químicas e morfológicas, e estequiometria elementar de folhas de espécies de duas florestas tropicais de diferentes idades no Bornéu e Havaí (Peñuelas *et al.*, 2011), foi observado que quantidade de fenóis foi negativamente correlacionada com N, P e K nos tecidos foliares em ambas as florestas, indicando que plantas com maior concentração de nutrientes (N, P e K), possuem menor capacidade de produção de metabólitos especiais ricos em carbono (Peñuelas *et al.*, 2011), corroborando com a hipótese de disponibilidade de recurso (Coley *et al.*, 1985), também conhecida por Peñuelas e Estiarte (1998) como a hipótese do excesso de carbono.

1.5 Interações entre as características de resistência de plantas à herbivoria

Os metabólitos especiais não são os únicos mecanismos de resistência que estão envolvidos na redução do dano foliar por herbivoria, Boege e Marquis (2005) classificaram as características que estão envolvidas neste processo em três tipos: (1) escape, que são aquelas que influenciam na probabilidade de ser encontrado por herbívoros (e.g. tamanho da planta e fenologia da folha); (2) defesas, que são aquelas que reduzem a herbivoria por diminuírem o teor nutricional do alimento (defesas diretas) ou influenciam a abundância dos herbívoros, como os inimigos naturais (defesas indiretas); e (3) tolerância, que são aquelas que após o ataque pelo herbívoro, reduzem o impacto negativo da planta, contribuindo para capacidade da mesma em se manter no ambiente e perpetuar.

Assim, ao serem atacadas por insetos, as plantas dependem de um complexo e variável sistema de defesas, envolvendo diversas barreiras estruturais, metabólitos especiais tóxicos ou anti-nutritivos, e/ou recrutamento de predadores e parasitóides (Rasmann & Agrawal, 2009). Entretanto, existem equívocos nos estudos de resistência de plantas à herbivoria, pelo fato de vários pesquisadores investigarem uma única característica de defesa, como se tal característica agisse isoladamente e também por acreditarem na existência de *trade-off* (supressão/expressão) entre características defensivas (Agrawal, 2006, 2011). Este mesmo autor afirma que é difícil que uma

característica de planta seja a chave para a resistência e que raramente ocorrem *trade-off* entre as características arbitrariamente selecionadas (e.g. *trade-off* entre defesas físicas e químicas).

A presença de determinadas características de defesas nas plantas pode covariar com a presença de outras, formando assim, um conjunto de características que foram estabelecidas por vários autores como “síndromes de defesa” (Kursar & Coley, 2003; Coley *et al.*, 2005; Agrawal & Fishbein, 2006; Agrawal, 2011). Estudos de Coley e colaboradores identificaram duas síndromes divergentes, onde foram verificadas espécies cujas folhas jovens são bem defendidas quimicamente (síndrome “defesa”) e aquelas que apresentam rápida expansão para minimizar o período no qual as folhas são jovens e mais vulneráveis aos herbívoros (síndrome “escape”) (Kursar & Coley, 2003; Coley *et al.*, 2005; Coley & Kursar, 2014). Agrawal e Fishbein (2006) sugerem que plantas filogeneticamente distantes que apresentam um conjunto comum de herbívoros são mais susceptíveis a apresentarem estratégias de defesas semelhantes. Assim, espécies de plantas atacadas por herbívoros vertebrados, por exemplo, devem empregar estratégias de defesas bem diferentes (e.g. espinhos, dureza foliar) do que aquelas que são atacadas por lagartas de insetos (e.g. tricomas, toxinas).

Estudos recentes têm tentado compreender o papel relativo de cada tipo de defesa, bem como a presença de redundâncias e sinergismos entre as características defensivas (Rasmann & Agrawal, 2009; Agrawal, 2011). Para estes autores a redundância pode ser benéfica, principalmente para plantas que apresentam diferentes espécies ou guilda de insetos herbívoros. Assim, a redundância funcionaria com uma “rede de segurança” para os momentos em que houver falhas nas características de resistência, podendo um tipo de defesa ser eficiente para uma espécie ou guilda de herbívoro, mas não para outra (Agrawal, 2011). Em termos de sinergismos, existem evidências de que características de resistência múltipla podem proporcionar uma maior eficiência da defesa da planta do que a ação de cada composto de forma independente (Romeo *et al.*, 1996; Agrawal & Fishbein, 2006; Agrawal, 2011).

1.6 Influência das condições edafoclimática na comunidade de insetos herbívoros

Condições climáticas também podem contribuir como fatores que influenciam nas interações inseto-planta (Edwards & Wratten, 1981; Martinat, 1987; Pizzamiglio, 1991), cujas variações na temperatura, umidade, intensidade luminosa, ventos e chuvas interferem indiretamente na sobrevivência dos insetos (Martinat, 1987; Fernandes & Price, 1988). De acordo com Edwards e Wratten (1981), um dos grandes problemas para os insetos herbívoros é a desidratação devido à exposição a altas temperaturas. Muitas espécies de insetos apresentam menor tolerância a condições de alta intensidade luminosa, altas temperaturas e menor umidade do ar quando presentes em ambientes mais aberto (Maiorana, 1981; Denlinger & Yocum, 1998; Chown & Nicolson, 2004). Assim, estes insetos podem migrar para áreas mais sombreadas (Denlinger & Yocum, 1998). Floresta com dossel fechado, por ser um ambiente complexo (Pereira, 1997), pode proporcionar um microambiente mais favorável a estes organismos, sendo estes menos afetados pela incidência de ventos fortes, temperatura e luz (Fernandes & Price, 1988).

A temperatura pode sofrer pouca variação em florestas tropicais (Leigh, 2004; Grimbacher & Stork, 2009), porém seu aumento pode afetar o crescimento, sobrevivência, fecundidade e abundância de insetos, além de alterar a taxa de consumo de plantas (Laws & Belovsky, 2010; Lemoine *et al.*, 2013, 2014). Muitos estudos verificaram que a taxa de consumo dos insetos aumenta de acordo com o aumento da temperatura, sendo a maioria deles realizados em florestas temperadas e/ou condições de laboratório (Niesenbaum & Kluger, 2006; Garibaldi *et al.*, 2011, Lemoine *et al.*, 2013, 2014). Apesar de tais estudos serem escassos para florestas tropicais (Coley, 1998; Deutsch *et al.*, 2008; Metcalfe *et al.*, 2013), têm sido relatados que aumento de temperatura nestas florestas pode ocasionar consequências deletérias para os insetos, por serem relativamente sensíveis às mudanças de temperatura, visto que já estão em temperaturas ambientais próximas ao seu ótimo fisiológico (Deutsch *et al.*, 2008). Outros estudos sugerem que interações entre temperatura e qualidade nutricional das plantas podem afetar o

desempenho e consumo delas pelos herbívoros, já que os efeitos e/ou concentrações dos metabólitos especiais são geralmente dependentes da temperatura (Coley, 1998; Gobbo-Neto & Lopes, 2007). Além disso, o aumento moderado da temperatura também pode acelerar o desenvolvimento dos herbívoros, tornando-os menos suscetíveis a ataques por parasitoides. Assim, tem sido sugerido que há um aumento das populações de herbívoros com a temperatura, diferentemente das populações de parasitoides que tendem a decrescer com o aumento da temperatura (Coley, 1998).

Os ventos fortes interferem no voo dos insetos e muitas vezes causam uma diminuição na atividade deles (Edwards & Wratten, 1981; Pizzamiglio, 1991). No estudo de Fernandes e Price, (1988) foi verificado uma maior riqueza de insetos herbívoros de vida livre no ambiente méxico do que no ambiente xérico. Assim, a Floresta Ombrófila Densa (ambiente méxico) pode possibilitar maior riqueza e abundância de insetos herbívoros quando comparada com a formação de Mata de Restinga (ambiente xérico) (Edwards & Wratten, 1981; Chown & Nicolson, 2004) e, conseqüentemente maiores porcentagens de herbivoria para as árvores da Floresta Ombrófila Densa.

2.7 Objetivos e hipóteses gerais

O presente estudo objetivou avaliar as porcentagens de herbivoria foliar de pares congênicos arbustivo-arbóreos de duas diferentes formações vegetacionais de Mata Atlântica edaficamente distintas (Floresta Ombrófila Densa e Restinga); e verificar se a qualidade foliar (i.e. maior concentração de nutrientes e menor bioprodução de metabólitos especiais), e a comunidade de potenciais insetos herbívoros influenciam os padrões de herbivoria encontrados nos dois ambientes. É esperado que a intensidade da herbivoria foliar das espécies seja diferente entre os ambientes, com as espécies da Floresta Ombrófila Densa (FOD) apresentando maiores porcentagens de herbivoria que as espécies da restinga (REST), em função da melhor qualidade foliar (maiores concentrações de nutrientes e menores concentrações de defesas) e também da formação de diferentes microclimas na FOD permitirem a maior riqueza e abundância de insetos herbívoros.

Para alcançar os objetivos gerais, a tese foi estruturada em capítulos, onde neste primeiro capítulo foi feita uma breve introdução teórica sobre a interação entre insetos herbívoros e plantas, seguido dos principais fatores que influenciam os padrões de herbivoria, como aspectos nutricionais e defensivos de plantas, e também a comunidade de insetos herbívoros. No capítulo II foi feita a descrição das áreas de estudo. O capítulo III intitulado “Efeito da qualidade foliar na herbivoria de pares congêneros em dois ambientes contrastantes de Mata Atlântica” teve como objetivos específicos: comparar a herbivoria e qualidade foliar (nutrientes e defesas) em pares congêneros arbustivo-arbóreos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST); estabelecer se as diferenças nos atributos foliares estão relacionadas ao tipo ambiental (úmido ou seco) ou filogenia. O capítulo IV intitulado “Perfil ecometabolômico de pares congêneros de plantas de dois ambientes edaficamente distintos de mata atlântica” retrata a diversidade química por meio da análise do perfil metabolômico das espécies amostradas na FOD e REST. O capítulo V intitulado “Comunidade de insetos em diferentes áreas de Mata Atlântica” trata-se de um levantamento da comunidade de insetos na FOD e REST, com destaque para os potenciais herbívoros nas áreas estudadas. No capítulo VI foi feita uma discussão e conclusão geral, visando integrar os principais resultados encontrados ao longo do estudo. Neste capítulo é apresentado também nossas considerações finais.

CAPÍTULO II. DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

2.1 A Mata Atlântica

O bioma Mata Atlântica engloba um conjunto de ecossistemas interligados que ocorriam ao longo da cadeia montanhosa e de terras baixas, os quais originalmente ocupavam toda a costa do Brasil (Tabarelli *et al.*, 2005; Ivanauskas & Assis, 2012). Atualmente, as formações da Mata Atlântica são bem distintas, sendo influenciadas pela distância do oceano, seguida do regime de distribuição de chuvas, da altitude e da duração da estação seca (Oliveira-Filho & Fontes, 2000; Júnior *et al.*, 2012). São representadas pelas florestas Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual e Estacional Decidual, além de ecossistemas associados que são manguezais, restingas, brejos interioranos, campos de altitudes e ilhas costeiras e oceânicas (Scarano, 2009; Ferreira-Jr *et al.*, 2012).

A Mata Atlântica é um dos biomas mais ricos em diversidade biológica, com alto grau de endemismo e também um dos mais ameaçados de extinção do mundo, sendo por isso considerada um *hotspot*. No passado, a Mata Atlântica foi uma das maiores florestas tropicais das Américas, cobrindo 150 milhões de ha (Ribeiro *et al.*, 2009; Júnior *et al.*, 2012), atualmente corresponde a cerca de 7,5% da sua vegetação primária (Myers *et al.*, 2000; Fundação SOS Mata Atlântica, 2010). No caso do Estado do Rio de Janeiro, restam aproximadamente 20% de sua cobertura original, sendo que grande parte destes remanescentes se localizam em áreas montanhosas da Serra do Mar (Fundação SOS Mata Atlântica, 2010). Estudos de Ribeiro *et al.* (2009) revelaram que mais de 80% de remanescentes de Mata Atlântica são menores que 50 ha e que as reservas naturais protegem apenas 9% da floresta remanescente e 1% da floresta original. Somando à perda de habitat, outras ameaças contribuem para a degradação desta floresta tais como, a retirada de lenha, a exploração ilegal de madeira, a caça, o extrativismo vegetal e a invasão por espécies exóticas (Tabarelli *et al.*, 2005). Apesar da intensa destruição deste bioma nas últimas décadas, foi encontrada uma alta diversidade de espécies botânicas lenhosas, com 454 espécies encontradas em apenas um hectare do sul da Bahia, sem considerar as 20 mil espécies de

plantas vasculares existentes, das quais em torno de 6 mil são restritas ao referido bioma (Fundação SOS Mata Atlântica, 2009).

A Floresta Ombrófila Densa geralmente ocorre em climas tropicais de altas temperaturas e precipitação, não havendo estação seca bem definida, visto que a precipitação é bem distribuída durante o ano. Este tipo florestal estendia-se de do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul, sendo restrita a locais com alta pluviosidade e alta umidade (Ivanauskas & Assis, 2012). As florestas de restinga representam uma das faces do Bioma Mata Atlântica (Marques *et al.*, 2015), sendo constituídas de cordões litorâneos e dunas que se distribuem ao longo de todo o litoral, sendo formados pela constante deposição de areia proveniente do mar. Hoje, são pouquíssimos os remanescentes de restingas existentes, sendo a vegetação destes ambientes alterado ou totalmente retirados em função da especulação imobiliária (Medeiros *et al.*, 2007; Sá & Araújo, 2009; Marques *et al.*, 2015), comprometendo a sua biodiversidade única e pouco conhecida (Flinte *et al.*, 2006).

2.2 Tipos florestais selecionados para o estudo

O estudo foi realizado em duas formações vegetacionais de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, com diferentes condições edafoclimáticas, envolvendo um ambiente florestal mais úmido, representado pela Floresta Ombrófila Densa (FOD) na Reserva Biológica (ReBio) União e um ecossistema xérico arbustivo-arbóreo associado a Mata Atlântica, representado pela Mata de restinga (REST) na Reserva Particular do patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara.

A Floresta Ombrófila Densa da ReBio União localiza-se entre os municípios de Casimiro de Abreu, Rio das Ostras e Macaé, estando situada a aproximadamente 160 km ao norte da capital do Rio de Janeiro entre as coordenadas (22°27'30"S e 42°02'15"O). No norte do Rio de Janeiro está situada a Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara (21°45'33"S e 41°02'31"O), que está localizada entre as lagoas de Grussaí e Iquipará, em São João da Barra (Freira *et al.*, 2015) (Fig. 2.1).

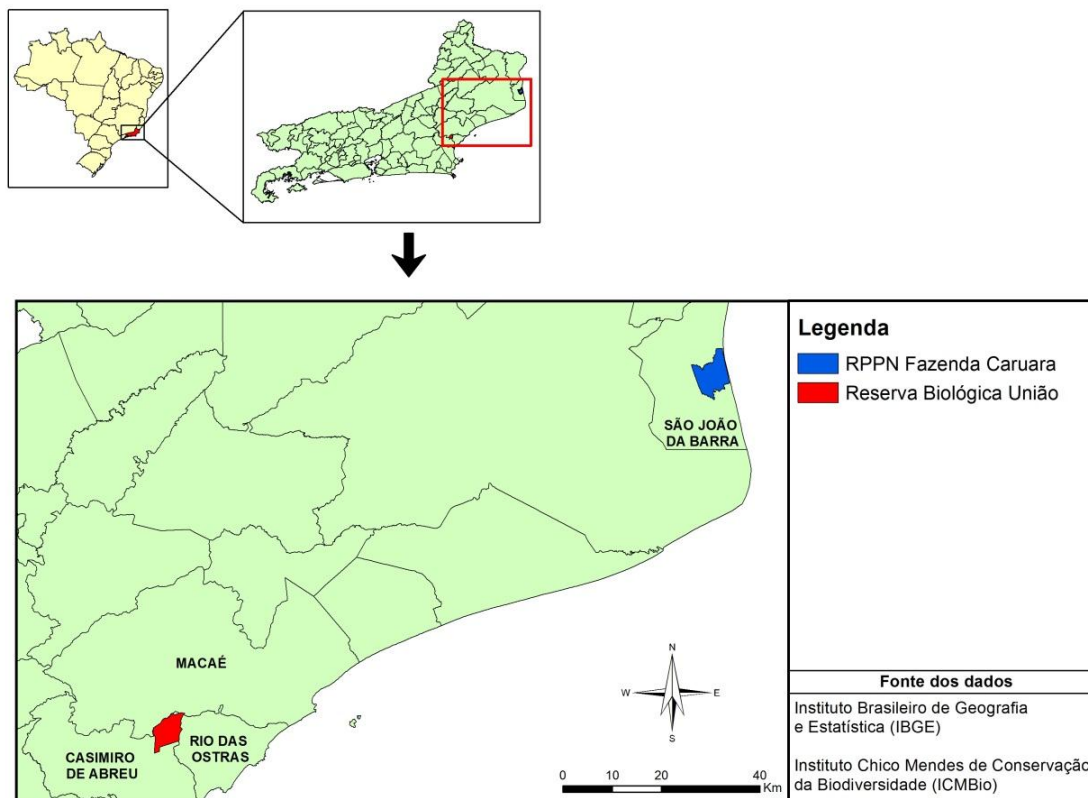


Figura 2. 1. Mapa de localização da Reserva Biológica União situada entre os municípios de Casimiro de Abreu, Rio das Ostras e Macaé, e da Reserva particular do patrimônio natural (RPPN) Fazenda Caruara em São João da Barra, RJ.

2.2.1 Floresta Ombrófila Densa da Reserva Biológica União

A ReBio União é atravessada pela rodovia BR 101, por dutos subterrâneos da PETROBRAS para passagem de materiais combustíveis (gasoduto) e redes de transmissão de alta tensão (rede elétrica) de FURNAS (IBAMA, 2008). Esta reserva totaliza 3.126 ha, sendo cerca de 2.400 ha coberto por Mata Atlântica (Lapenta *et al.*, 2003; IBAMA, 2008). A ReBio União, juntamente com a Reserva Biológica de Poço das Antas, abrange a maior parte das florestas de Mata Atlântica de terras baixas do Estado do Rio de Janeiro, sendo os principais remanescentes desta floresta no Estado (IBAMA, 2008). Esta unidade de conservação é uma área estratégica entre os remanescentes da Região Centro-Norte Fluminense, constituindo-se em um dos elementos

importantes de conexão entre essa região e a Região Serrana Central (IBAMA, 2008).

O estudo foi realizado na Floresta Ombrófila Densa Submontana, sendo que a vegetação nativa é representada principalmente pelas famílias Myrtaceae, Lauraceae, Sapotaceae, Fabaceae, Moraceae e Euphorbiaceae (Carvalho *et al.*, 2008). As árvores do dossel variaram de altura entre 10-20m (Carvalho *et al.*, 2007), com um subbosque bem desenvolvido e sombreado (Fig. 2.2). Estudo de Carvalho *et al.* (2007), realizado em área florestal dentro desta unidade de conservação, revelou uma composição florística rica e diversa, com 117 espécies arbóreas ($DAP \geq 10$ cm) amostradas em 0,4 ha, densidade total de 600 indivíduos por hectare e um índice de diversidade de Shannon-Weaver de 4,4 nats. Em termos de comunidades de insetos herbívoros, as ordens Lepidoptera, Coleoptera e Orthoptera são mais abundantes na região (Franceschinelli *et al.*, 2003).

Na região da ReBio União predomina o clima tropical chuvoso, com estação seca no inverno (abril a setembro) e chuvosa no verão (outubro a março) de acordo com a classificação de Koeppen (1948). A pluviosidade varia de 1.500 a 2.000mm, sendo os meses de novembro a março os mais chuvosos e de maiores temperaturas, e os meses de junho a agosto os menos chuvosos e de menores temperaturas (Primo & Volker, 2003). Dados climáticos da estação meteorológica mais próxima da ReBio União localizada em Macaé ($22^{\circ}23'S$ e $41^{\circ}49'W$), durante o período de estudo (2013 a 2015), revelaram que a pluviosidade anual média foi de 1.067 mm, sendo o ano de 2014 considerado bastante seco, com uma pluviosidade média em torno de 600 mm. Durante o período de 2013 a 2015, a temperatura anual média foi de 23,5, sendo os meses de dezembro a março de temperaturas médias mais altas (26 a $27^{\circ}C$), e os meses de maio a setembro de temperaturas mais baixas (20 a $22^{\circ}C$; Fig. 2.4a).

Os solos da ReBio União são do tipo Latossolo Vermelho Amarelo e Argissolo Vermelho Amarelo (Lima, 2008), sendo as concentrações de macronutrientes encontrados como Ca ($0,5 \pm 0,0005$ mg/kg), Mg ($34,14 \pm 0,27$ mg/kg), K ($0,002 \pm 0,008$ mg/kg), Na ($0,089 \pm 0,19$ mg/kg), C ($2,57 \pm 0,56\%$) e N ($0,19 \pm 0,05\%$), de modo geral, similares aos valores encontrados para outros fragmentos florestais, situados entre os municípios de Casimiro de

Abreu, Silva Jardim e Rio Bonito, com exceção dos valores encontrados para Mg e Ca em alguns desses fragmentos (Procópio-Oliveira *et al.*, 2008; Silva & Villela, 2015).

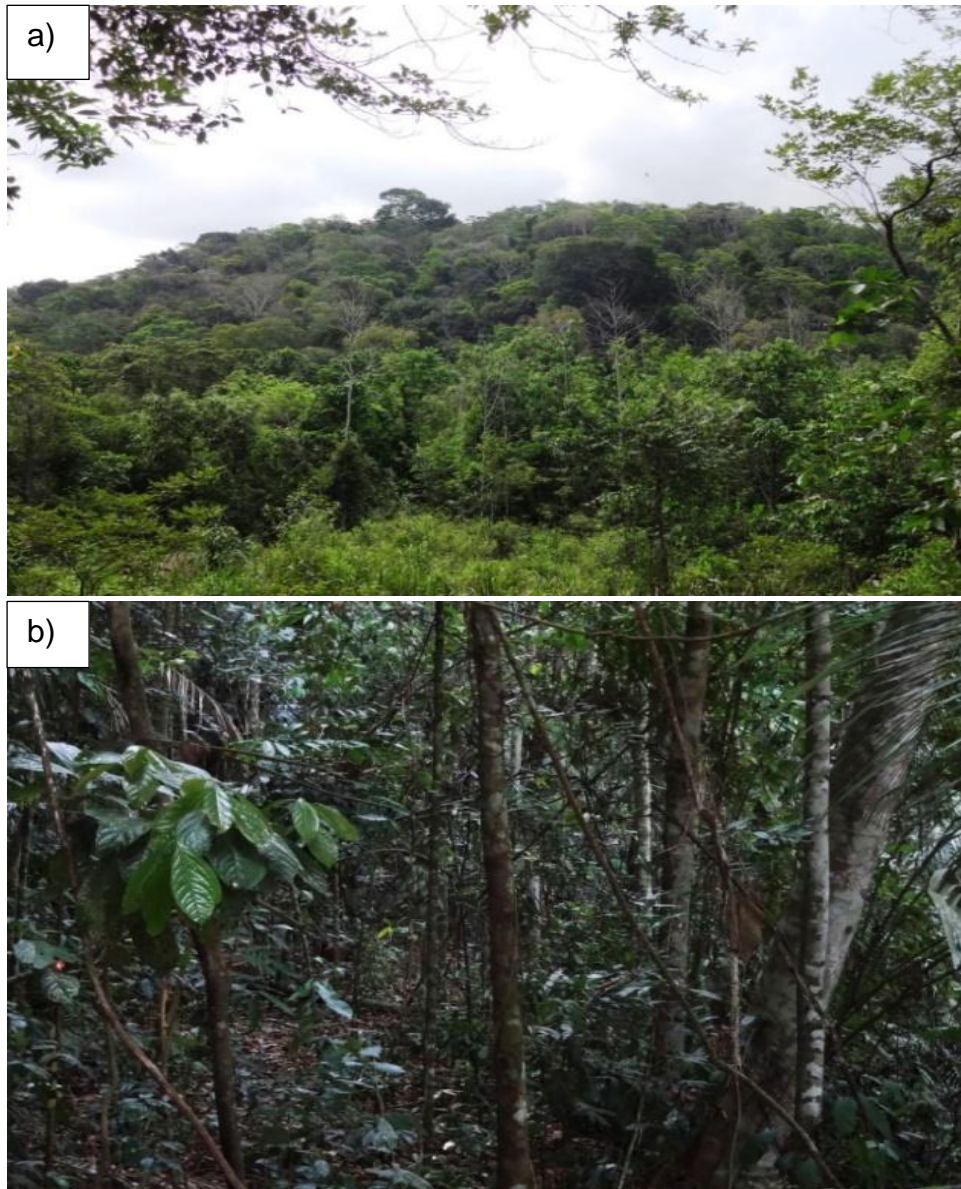


Figura 2. 2. Fotografias mostrando o aspecto geral (a) e do sub-bosque (b) da Floresta Ombrófila Densa localizada na Reserva Biológica União em Rio das ostras, Rio de Janeiro.

2.2.2 Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Caruara

A Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara apresenta um dos melhores remanescentes de restinga do Estado do Rio de Janeiro com diferentes fisionomias de restinga, brejos sazonais e as duas lagoas supracitadas, compreendendo aproximadamente 3.845 hectares de restinga e até 4 mil hectares de área protegida, quando somada à faixa de praia (Assumpção & Nascimento, 2000; Freira *et al.*, 2015). O estudo foi realizado na formação de Mata de Restinga, onde há predominância de indivíduos de baixo porte (2 a 4m), sendo raramente observados indivíduos acima 6m de altura (Assumpção & Nascimento, 2000) (Fig. 2.3). Este tipo fisionômico corresponde ao Tipo arbóreo não inundado (Decreto Estadual nº 41.612, de 23 de dezembro de 2008).

Estudos de Assumpção e Nascimento (2000), realizado em 0,1 ha dentro da Mata de Restinga do presente estudo, amostrou 61 espécies de plantas distribuídas em 30 famílias, sendo Myrtaceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Malpighiaceae e Orchidaceae as principais famílias encontradas. Ao considerar os indivíduos lenhosos, foram amostradas 37 espécies em 21 famílias (DAS \geq 2,5 cm), com *Maytenus obtusifolia* apresentando o maior índice de cobertura, seguida de *Pera glabrata*, *Protium heptaphyllum*, *Coccoloba alnifolia* e *Capparis flexuosa*. A densidade total foi de 42,2 indivíduos em 100m² e um índice de diversidade de Shannon-Weaver de 2,81 nats.



Figura 2. 3. Fotografias destacando o aspecto geral (a) e aproximado (b) da vegetação e solo da Mata de Restinga localizada na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara em São João da Barra, Rio de Janeiro.

O clima da região é tropical subúmido a semiárido, com pluviosidade média anual variando de 800 a 1.200mm, apresentando as maiores precipitações durante os meses de verão (outubro a março), e os menores

valores nos meses de inverno (abril a setembro) (RadamBrasil, 1983). Dados climáticos da estação meteorológica Campos-São Tomé (22°02'S e 41°03'W), mais próxima da RPPN Fazenda Caruara, durante o período de estudo (2013 a 2015), revelaram que a pluviosidade anual média foi de 595,2 mm, sendo o ano de 2015 considerado bastante seco, com uma pluviosidade média em torno de 335,4 mm. Durante o período de estudo, a temperatura anual média foi de 24°C, sendo geralmente os meses de janeiro a março de temperaturas médias mais altas (26 a 27°C), e os meses de maio a setembro de temperaturas mais baixas em torno de 22°C (Fig. 2.4b).

O solo da região é caracterizado como areias quartzosas marinhas associadas à podzol hidromórfico de origem flúvio-marinha (RadamBrasil, 1983). Solos sob vegetação de restinga geralmente apresentam alta acidez, baixas concentrações de nutrientes e altas saturações por alumínio, limitando o crescimento de espécies de plantas (Marques *et al.*, 2015). Além disso, este ecossistema, de modo geral, é caracterizado por apresentar alta radiação solar, altas temperaturas e salinidade, sendo os solos geralmente pobres em água e nutrientes, dificultando a germinação, estabelecimento e crescimento de plantas, onde muitas espécies de plantas desenvolveram mecanismos fisiológicos e anatômicos para sobreviverem nestes ambientes (Scarano, 2009; Marques *et al.*, 2015; Zimmermann *et al.*, 2016).

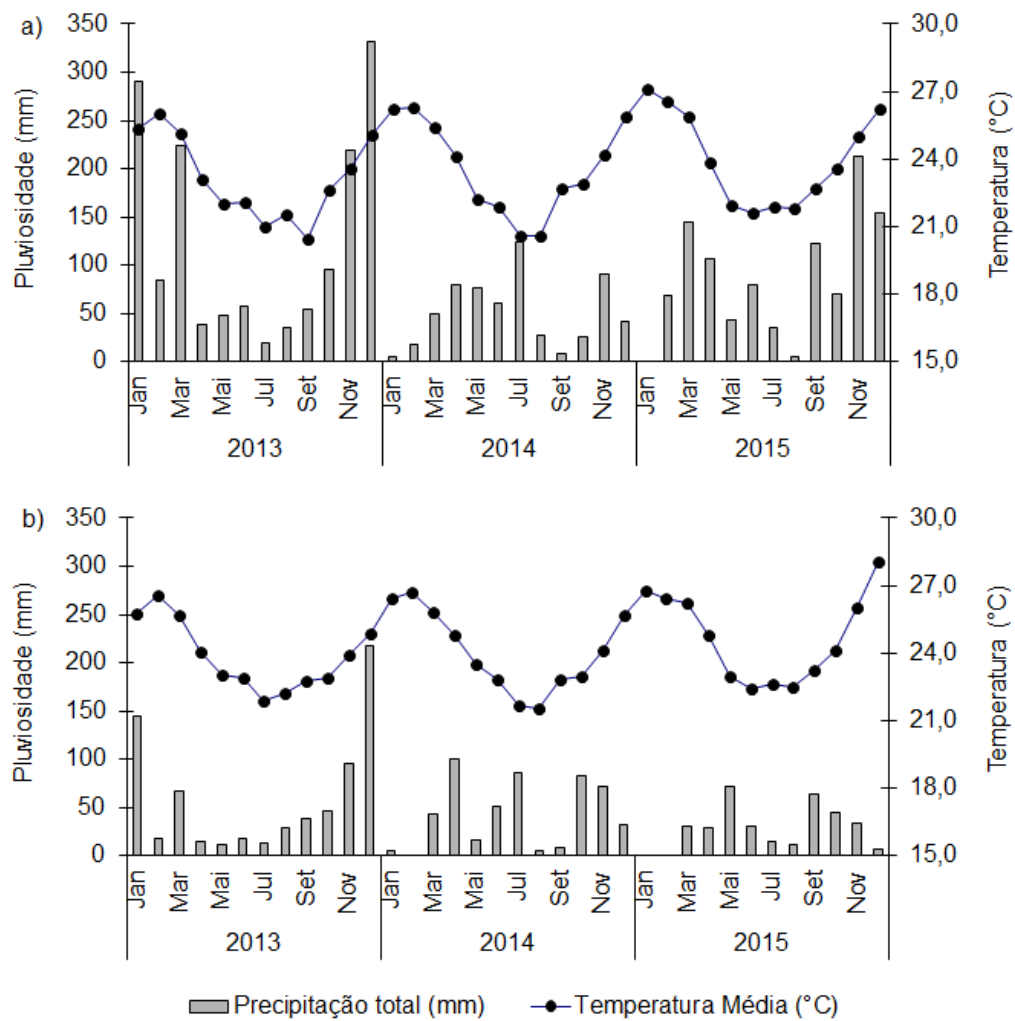


Figura 2. 4. Precipitação pluviométrica (mm) e temperatura média (°C) mensal de estações meteorológicas mais próximas da Reserva Biológica União (Estação Meteorológica de Macaé) (a) e da Reserva particular do patrimônio natural (RPPN) Fazenda Caruara (Estação Meteorológica de Campos-São Tomé) (b) durante o período de estudo (Janeiro de 2013 a Dezembro de 2015). Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

CAPÍTULO III. EFEITO DA QUALIDADE FOLIAR NA HERBIVORIA DE PARES CONGENÉRICOS EM DOIS AMBIENTES CONTRASTANTES DE MATA ATLÂNTICA

3.1 Introdução

A qualidade foliar das plantas geralmente tem fortes efeitos sobre o desempenho dos insetos herbívoros (Kursar *et al.*, 2006; Tao *et al.*, 2014), estando diretamente relacionada não somente com os nutrientes, mas também com suas defesas (Awmack & Leather; 2002; Marquis, 2012). Macronutrientes como fósforo (P) e nitrogênio (N) são conhecidos por limitarem o crescimento e reprodução de organismos de diferentes níveis tróficos em ecossistemas terrestres (Vitousek & Howarth, 1991; Elser *et al.*, 2007), sendo o N, o macronutriente mais limitante para os insetos fitófagos (Huberty & Denno, 2006; Marquis, 2012).

As espécies de plantas com baixa qualidade foliar são menos atrativas para os insetos herbívoros (Poorter *et al.*, 2004). Vários estudos têm encontrado relação positiva entre concentrações de N e/ou P foliar, e herbivoria ou porcentagem de ataques por insetos herbívoros (Cornelissen & Fernandes, 2001; Bisigato *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2015). Em outros estudos estes nutrientes têm sido relacionados com a abundância, sobrevivência e crescimento de herbívoros (Apple *et al.*, 2009; Bishop *et al.*, 2010; Joern *et al.*, 2012). Vários nutrientes também têm sido relacionados à herbivoria, onde nos estudos de Joern *et al.* (2012) os autores verificaram que a abundância de gafanhotos variou com a concentração de Mg, Na, K e Cu, sugerindo um papel importante destes nutrientes na alimentação de gafanhotos. Os estudos de Chen *et al.* (2013) também observaram uma associação positiva entre vários nutrientes e populações de insetos herbívoros, sugerindo que os macronutrientes N, S, P e K e micronutrientes Zn e Cu podem ser os nutrientes de preferência na alimentação de adultos de *Agrilus auroguttatus* (Coleoptera) com folhas de carvalho *Quercus kelloggii*.

Ecossistemas florestais com diferentes disponibilidades de água e nutrientes influenciam nas estratégias adaptativas das plantas. Assim, espécies

de plantas de florestas tropicais sob baixa disponibilidade de nutrientes no solo apresentam geralmente menor qualidade foliar, como baixo conteúdo de N e P, e podem apresentar também menor atividade do metabolismo primário e crescimento comparativamente as espécies sob maior disponibilidade de nutrientes no solo (Coley *et al.*, 1985; Moraes & Domingos, 1997; Peñuelas & Estiarte, 1998; Peñuelas *et al.*, 2011). Em contrapartida, plantas de ambientes com limitação de recursos geralmente possuem maior massa seca por unidade de área (MFA) e maior acúmulo de compostos estruturais ricos em carbono (Coley *et al.*, 1985; Peñuelas & Estiarte, 1998; Peñuelas *et al.*, 2011). Estas plantas de menor qualidade foliar são de difícil digestão para os insetos herbívoros (Cornelissen & Fernandes, 2001; Campo & Dirzo, 2003; Kurokawa & Nakashizuka, 2008), devido às altas concentrações de compostos estruturais e químicos, como celulose e hemicelulose e taninos (Linton & Greenaway, 2007; Kitajima *et al.*, 2012; Peñuelas *et al.*, 2013).

As plantas podem ser protegidas por alguns atributos morfológico/estruturais como tricomas (Barônio, 2012; Glas *et al.*, 2012) e dureza (Coley, 1983; Lucas *et al.*, 2000; Kitajima *et al.*, 2012). Além disso, elas podem conter uma série de metabólitos quimicamente tóxicos para os insetos como alcaloides e glicosídeo cianogênico ou composto redutores de digestão como taninos, fenois e terpenos (Pooter *et al.*, 2004; Marquis, 2012; Trigo *et al.*, 2012). Estudos revelam que as plantas contêm características contra herbívoros que ocorrem conjuntamente aumentando a eficiência na defesa delas (Kursar & Coley, 2003; Coley *et al.*, 2005; Agrawal & Fishbein, 2006; Agrawal, 2011; Silva & Batalha, 2011), sendo definida como “síndrome de defesas” (Agrawal & Fishbein, 2006).

Diferente das plantas de Floresta Ombrófila Densa, plantas de Restinga crescem em solos pobres (Marques *et al.*, 2015), podendo os custos de reposição das folhas ser alto (Coley *et al.* 1985; Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006; Agrawal, 2006). Para minimizar a perda de área foliar por herbivoria as plantas de Restinga podem investir em atributos foliares como dureza, baixos níveis de água e altos níveis de metabólitos especiais baseados em carbono (síndromes de defesas), conforme observado para estudos realizados no Cerrado (Marquis *et al.*, 2002). Assim, é esperado que algumas características

de defesas de plantas contra a herbivoria ocorram em espécies de ambientes distintos.

Atributos funcionais são geralmente conservados em linhagens de plantas e animais (Webb, 2002; Ackerly, 2003), indicando que espécies filogeneticamente relacionadas, tendem a apresentar características similares do que espécies de maior distância filogenética (Agrawal, 2006). Pelo fato de que a tolerância e a resistência são hereditárias e estão submetidas a uma seleção e restrições genéticas, plantas filogeneticamente próximas devem apresentar respostas similares aos processos ambientais (Webb, 2002; Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Silva & Batalha, 2011). Todavia, uma forte pressão seletiva de espécies filogeneticamente distantes pode acarretar em uma convergência adaptativa, respondendo de forma similar a pressão de seleção. Assim, as características de defesas podem convergir ou conservar dependendo da intensidade dos níveis filogenéticos (Webb *et al.*, 2002; Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Silva & Batalha, 2011).

Poucos estudos têm investigado a intensidade da herbivoria foliar em relação às concentrações de nutrientes foliares, estequiometria, e defesas estruturais/morfológicas e químicas em espécies de florestas tropicais (Wu *et al.*, 2007; Peñuelas *et al.*, 2013), e estudos desta natureza ainda não foram realizados em pares congêneros de plantas de comunidades de arbustivo-arbóreas de Mata Atlântica sob diferentes condições edafoclimáticas como Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga.

Assim, os objetivos do estudo foram: (1) comparar a herbivoria e qualidade foliar em pares congêneros arbustivo-arbóreos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST); (2) verificar se existe relação entre herbivoria e qualidade foliar como: teor de carbono (C), de nitrogênio (N), de fósforo (P), de magnésio (Mg), de cálcio (Ca), razões C/N, C/P e N/P, teor de água (TA), área foliar (AF), massa seca por unidade de área (MFA) e fenóis totais (FT); e (3) estabelecer se as diferenças na herbivoria e na qualidade das folhas estão relacionadas ao tipo ambiental (ambiente seco ou úmido) ou filogenia.

Visto que a Mata de Restinga (REST) é um ambiente com maior limitação de recursos que a Floresta Ombrófila Densa (FOD) foram testadas as seguintes hipóteses: (1) a intensidade da herbivoria foliar das espécies varia

entre FOD e REST, com as espécies FOD apresentando maiores porcentagens de herbivoria que as espécies da REST, em função da melhor qualidade foliar das espécies da FOD para os insetos herbívoros; (2) espécies de plantas da REST investem fortemente em defesas estruturais e químicas, incluindo principalmente compostos baseados em carbono, comparativamente as espécies da FOD, indicando a existência de um controle ambiental no investimento em defesas; sendo assim (3) plantas de ambientes distintos desenvolvem diferentes síndromes de defesas; (4) espécies estreitamente relacionadas apresentam diferenças na expressão da herbivoria e dos mecanismos de defesas (estruturais e químicos) entre os ambientes em função de diferenças nos fatores ambientais, fazendo com que as espécies tenham diferentes respostas fisiológicas e metabólicas, indicando maior influência do ambiente que da filogenia.

3.2. Material e Métodos

3.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em duas formações vegetacionais de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro com diferentes condições edafoclimáticas, compreendendo uma floresta de Mata de Atlântica úmida, representada pela Floresta Ombrófila Densa (FOD) na Reserva Biológica (ReBio) União (22°27'30"S e 42°02'15"O) em Rio das Ostras; e uma formação arbustivo-arbóreo xérica associada a Mata Atlântica, representada pela Mata de Restinga (REST) na Reserva Particular do patrimônio Natural (RPPN) Caruara, localizada entre as lagoas de Grussaí e Iquiparí (21°44'S; 41°02'O) em São João da Barra.

Na região da ReBio União predomina o clima tropical úmido, com temperatura média anual de 24°C, pluviosidade em torno de 2200 mm/ano, sendo grande parte das chuvas concentradas entre os meses de outubro e abril (Nascimento *et al.*, 2011). De acordo com RADAMBRASIL (1983), o clima da região da RPPN Caruara é tropical subúmido a semi-árido, com pluviosidade média anual variando de 800 a 1.200mm, apresentando as

maiores precipitações durante os meses de verão, e as menores nos meses de inverno (vide capítulo 2, para maiores detalhes das áreas de estudo).

3.2.2 Seleção das espécies e amostragem de folhas

Para o estudo foram selecionados dez pares congêneros de plantas coocorrentes nas duas comunidades (Fig. 3.1). Cinco indivíduos arbustivo-arbóreo (entre 3 e 10m) de cada espécie foram marcados, totalizando 100 indivíduos amostrados nas duas áreas. A seleção dos pares congêneros foi feita previamente partir da listagem florística existente de Assumpção & Nascimento (2000) para a REST; e de Rodrigues (2004) para a FOD. A sequência dos gêneros em gráficos e tabelas segue de acordo com a ordem filogenética dos pares congêneros estudadas (Fig. 3.1).

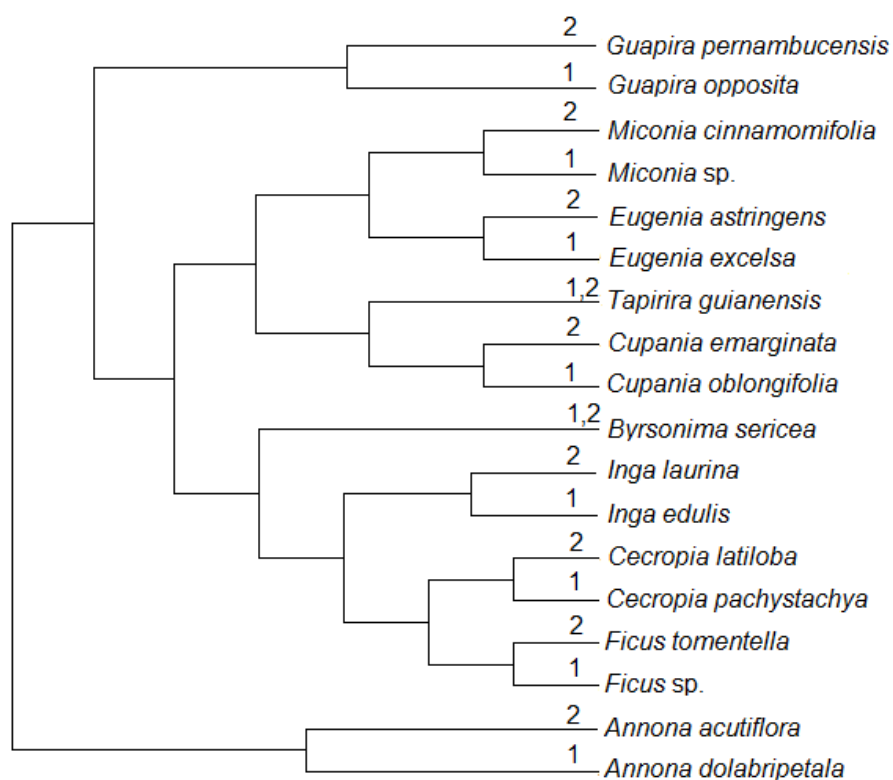


Figura 3. 1. Relações filogenéticas das espécies amostradas na Floresta Ombrófila Densa (1) e Mata de Restinga (2). Cada gênero pertence a uma família: *Guapira* (Nyctaginaceae), *Miconia* (Melastomataceae), *Eugenia* (Myrtaceae), *Tapirira* (Anacardiaceae), *Cupania* (Sapindaceae), *Byrsonima* (Malpighiaceae), *Inga* (Fabaceae), *Cecropia* (Urticaceae), *Ficus* (Moraceae), *Annona* (Annonaceae).

Em torno de 80g de folhas maduras foram coletadas de cada um dos 100 indivíduos marcados na FOD e REST, sendo as coletas realizadas em mai/2013 (final da estação chuvosa), set/ 2013 (final da estação seca) para análise da herbivoria e qualidade foliar, e em jan/ 2015 (meado da estação chuvosa) e agos/2015 (meado da estação seca) somente para análise da herbivoria. Nos casos de espécies com folhas grandes (área foliar > 100cm²) como as do gênero *Crecopia*, foram coletadas somente 10 folhas por planta. Como folhas maduras foram consideradas aquelas totalmente expandidas, de coloração verde escura, dispostas abaixo da quarta folha contando do ápice para a base do ramo (Nascimento & Proctor, 2001; Nascimento *et al.*, 2011). Em caso de folha composta, o folíolo foi considerado como folha (unidade amostral). Para as análises de fenóis totais, extratos brutos foram preparados a partir de coletas de em torno 300g de folhas verdes (peso úmido) não atacadas de cada espécie nos dois tipos florestais (FOD e REST), totalizando 20 extratos.

3.2.3 Medição da herbivoria, área foliar (AF) e defesas morfológicas/estruturais

De cada indivíduo amostrado, 20 folhas foram sorteadas para análise da herbivoria, área foliar, MFA e densidade de tricomas. A área foliar perdida por herbivoria foi medida por meio da obtenção de imagens utilizando uma câmera digital (*Sony Cyber-shot*) com resolução de 1600 x 1200 a uma distância padrão de 30 cm. Foi utilizada uma placa fina de vidro transparente para deixar as superfícies foliares totalmente estendidas, obedecendo aos critérios utilizados por Paul *et al.* (2012). As imagens foram analisadas utilizando-se o programa *ImageJ* (Rasband, 2006), sendo este método considerado preciso (Paul *et al.*, 2012). Cada imagem foi processada a partir da conversão binária (preto/branco), onde para a calibração da distância foi utilizado a escala em centímetros. Assim, foi determinado o número de pixels presentes em cada centímetro (cm), sendo este valor extrapolado para a área total foliar (AF) analisada (cm²) e por seguinte calculada a área foliar perdida por herbivoria (cm²) (Silva *et al.*, 2012). A perda de área foliar por herbivoira foi definida como a porcentagem de dano em um momento no tempo. Os buracos e as partes

foliares em falta foram considerados como sendo devidos à herbivoria. Em casos de danos nas extremidades dos tecidos foliares, contornos das folhas foram redesenhados utilizando ferramentas de desenho do próprio *software* (Fig. 3.2).

A porcentagem de herbivoria para cada folha foi determinada por meio da divisão da área consumida pela área total da folha (cm²) multiplicado por cem, e em seguida foi calculada a média da herbivoria por planta e a média geral para cada espécie (Aide, 1993; Paul *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2015). Nos cálculos de herbivoria foliar foram considerados somente danos provocados por insetos herbívoros mastigadores e raspadores de folhas (e.g. Lepidoptera na forma imatura, Coleoptera, Orthoptera e Phasmatodea).

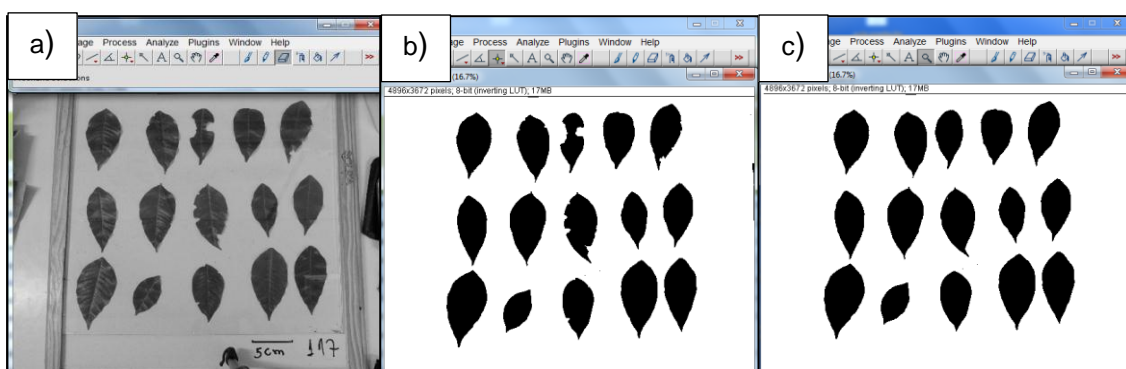


Figura 3. 2. Medição da herbivoria foliar por meio do *software ImageJ* com a imagem original (a) processada a partir da conversão binária (b) e posteriormente o redesenho das folhas utilizando ferramentas de desenho do próprio *software* (c).

A partir das marcas evidentes do consumo do tecido foliar foi possível identificar as guildas de herbívoros associados às espécies estudadas, como mastigador, raspador, galhador e minador. As observações quanto ao hábito alimentar foram feitas por meio de vistorias nas folhas e ramos das plantas coletadas e ainda nas plantas com auxílio de um binóculo quando possível, e também por meio de análises das fotografias das folhas. Para a identificação das guildas de herbívoros nos tecidos foliares a partir dos danos registrados, foram considerados somente danos recentes pelo fato da perda de tecido foliar por herbivoria ser facilmente confundida com outros tipos de danos como doenças por fungos e bactérias, que com o passar o tempo, o tecido foliar danificado também é perdido. Marcas de insetos mastigadores foram

consideradas quando parte da área foliar foi perdida, seja na borda ou interior da folha (Fig. 3.3a). Marcas de insetos raspadores foram consideradas quando foi removida apenas a parte superior da epiderme foliar (Fig. 3.3b). Galhas foram consideradas quando verificada a presença de tumores de diferentes formas, sendo estes geralmente provocados por insetos (Fig. 3.3c). Marcas de minadores foram consideradas quando verificada a presença de túneis, manchas ou vesículas, mas a epiderme permaneceu intacta (Fig. 3.3d).

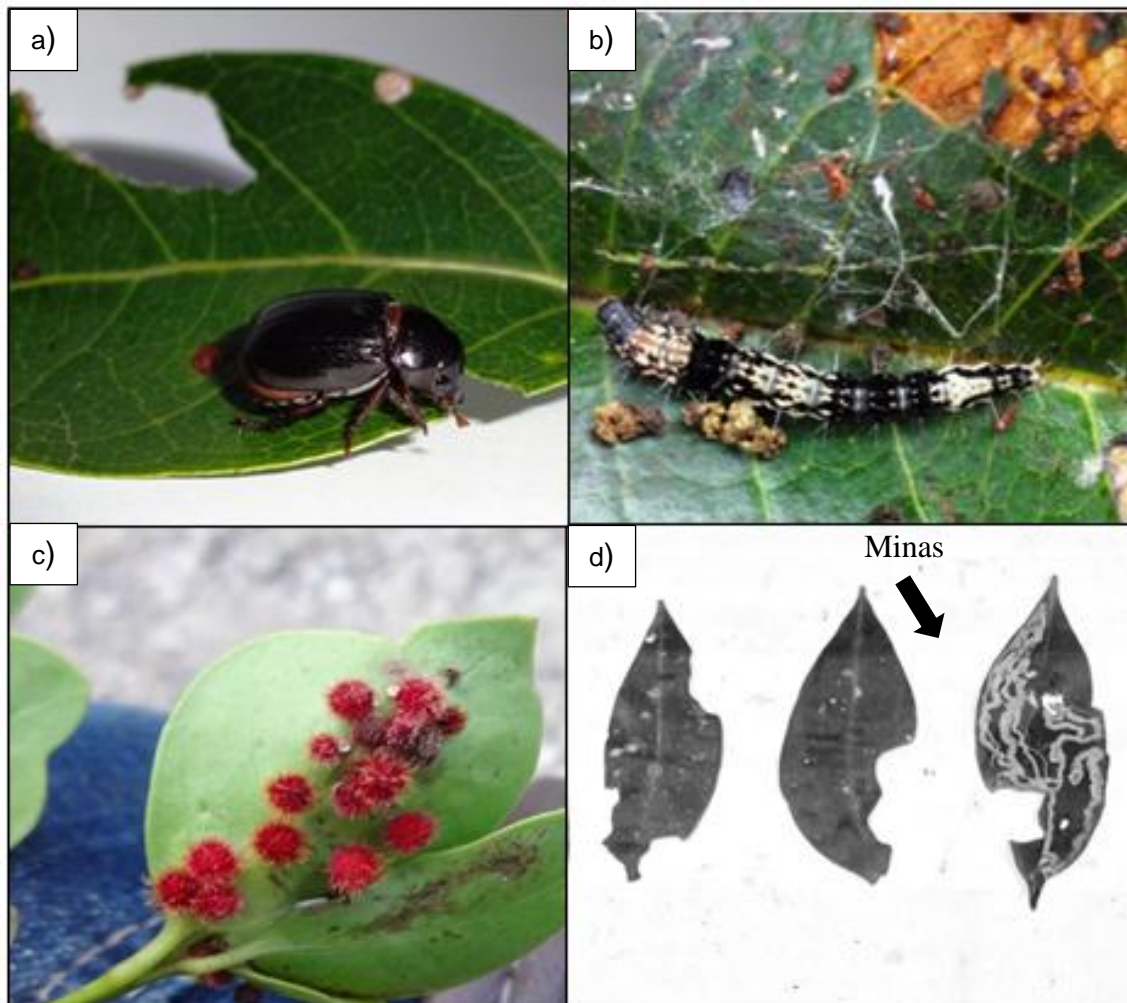


Figura 3. 3. Guilda de insetos herbívoros mastigadores (A, D), raspadores (B), galhadores (C) e minadores (D) a partir do registro do dano ou a observação da alimentação do inseto durante o estudo.

As folhas depois de secas foram pesadas para obtenção da massa seca em uma balança de 03 casas decimais. A massa seca por unidade de área (MFA) foi calculada por meio da razão entre a massa seca e a área foliar (g m^{-2}).

²), obtida a partir da fotografia das folhas (Witkowski & Lamont, 1991), sendo uma medida indireta da esclerofilia foliar (Gonçalves-Alvim *et al.*, 2010).

A cobertura de tricomas na superfície adaxial e abaxial da folha foi determinada com o auxílio de uma lupa (40x) em quatro campos tomados ao acaso (Gilardón *et al.*, 2001). Foi considerada a estimativa visual da área foliar ocupada pelos tricomas, sendo categorizadas em cinco classes de porcentagem de cobertura: glabra (0%; Fig. 3.4a), rara (1-10%; Fig. 3.4b), frequente (11-50%; Fig. 3.4c), densa (51-70%; Fig. 3.4d), muito densa (> 70%; Fig. 3.4e).

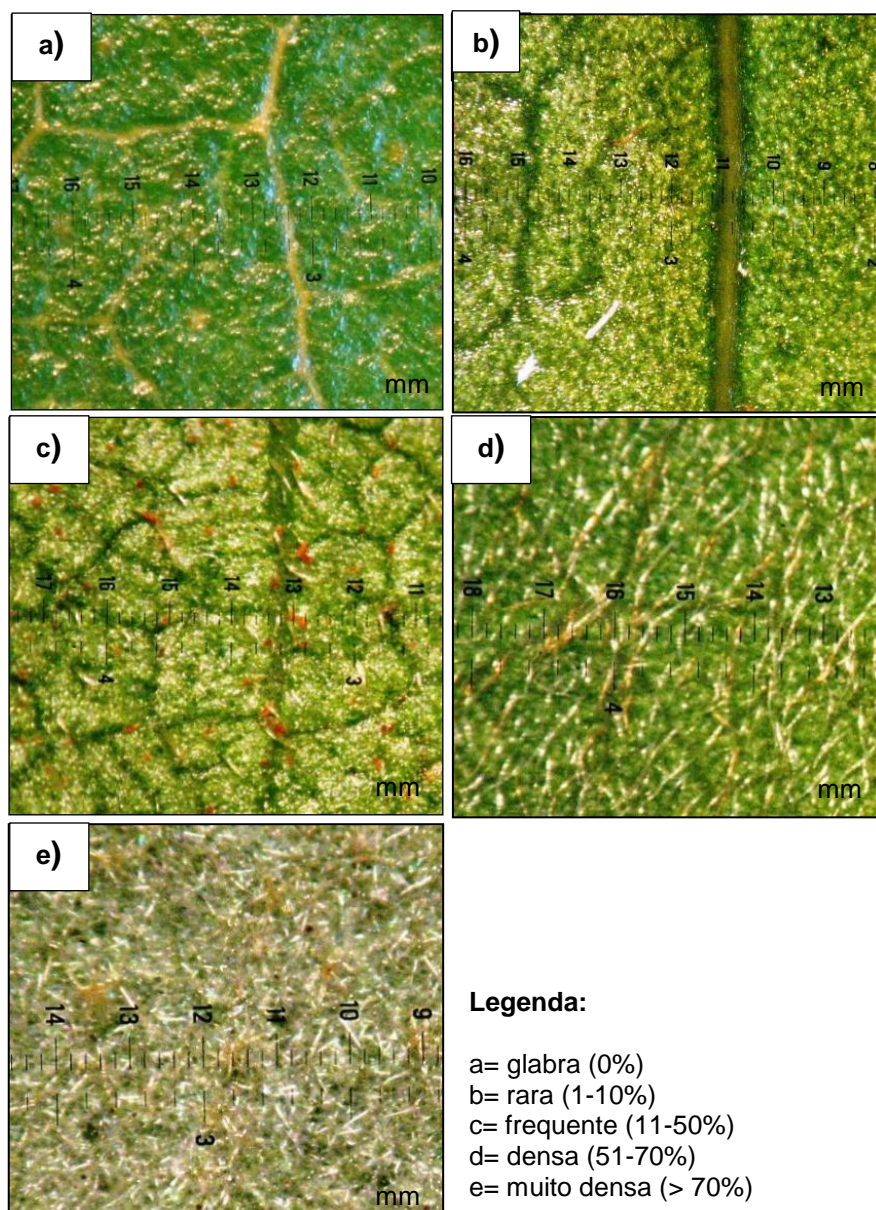


Figura 3. 4. Exemplos das cinco classes de cobertura de tricomas (glabra, rara, frequente, densa e muito densa) observadas nos tecidos foliares de pares congênericos estudados na Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga.

3.2.4 Teor de água e análises químicas das folhas

As folhas coletadas de cada indivíduo foram separadas dos ramos, acondicionadas em um isopor com gelo e pesadas ainda no campo com auxílio de uma balança semi-analítica com precisão de três casas decimais. Depois de pesadas, as folhas foram levadas para o laboratório e deixadas em estufa de circulação a 40°C até atingir o peso constante. A porcentagem do teor de água (TA) foi obtida pela diferença entre o peso seco e o peso inicial (úmido) multiplicado por 100 (Allen, 1989).

Para as análises químicas de nutrientes foram utilizadas somente folhas intactas. As folhas depois de secas foram trituradas em moinho de facas e homogeneizadas no graal e pistilo. As determinações de carbono orgânico (C) e nitrogênio total (N) foram realizadas por meio de um auto-analisador de CHNS/O (Perkin Elmer 2400) utilizando-se alíquotas de 2 a 4 mg de sub-amostras do material vegetal, sendo pesadas em uma balança com precisão de 6 casas decimais. Para a extração dos macronutrientes fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), sub-amostras de 0,20 g (massa seca) foram transferidas para tubos de digestão e receberam, cada uma, 4,4 mL de uma solução digestora preparada com a mistura de ácido sulfúrico concentrado (350 mL), água oxigenada 100 volumes (420 mL), selênio metálico (0,42 g) e sulfato de lítio monohidratado (14 g) (Allen, 1989). Posteriormente, as amostras foram digeridas em blocos digestores à 320° C, por cerca de 5 h. Os extratos assim obtidos foram filtrados em filtro Whatman nº 44 e diluídos com água destilada até atingirem o volume de 100 mL. Nestes extratos, os elementos foram determinados em espectrofotometria de emissão por plasma induzido (ICP/AES-Varian).

As porcentagens de recuperação de nutrientes no padrão internacional de folhas de maçã (*Apple Leaves Standard Reference Material 1515*), do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia do Departamento de Comércio dos EUA, foram calculadas para validar os procedimentos analíticos. As porcentagens de recuperação de nutrientes no padrão internacional de maçã foram de: N (96%), P (84%), Ca (86%) e Mg (87%), validando as análises de nutrientes das amostras (Tab. 3.1). As análises de nutrientes foram realizadas no Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) do Centro de Biociências e

Biotecnologia (CBB) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

Tabela 3. 1. Porcentagem de recuperação de nutrientes no padrão internacional de folhas de maçã (*Apple Leaves Standard Reference Material 1515*).

Nutrientes	Concentração	Concentração	Recuperação de nutrientes
	certificada	recuperada	
	(% de massa seca)		(%)
N	2,25	2,15	96
P	0,16	0,13	84
Ca	1,53	1,31	86
Mg	0,27	0,24	87

Para as análises de fenóis totais, os extratos brutos (n=20) foram preparados da seguinte forma: as folhas por espécie foram secas, moídas e posteriormente foi submetidas à maceração a frio, em temperatura ambiente, utilizando o sistema MeOH / H₂O (9:1) como solvente, por quatro semanas. A solução obtida foi destilada a pressão reduzida em evaporador rotativo para concentração da mesma, obtendo-se assim os extratos brutos. Os extratos foram transferidos para frascos previamente pesados, e mantidos em capela de exaustão por, no mínimo, 48h para a eliminação do solvente restante. Esse procedimento forneceu o extrato bruto de cada espécie.

A determinação de fenóis totais presentes nos extratos foi obtida a partir da espectroscopia no ultravioleta (UV), utilizando-se o reagente *Folin-Ciocalteu*. Uma massa de 20 mg de cada extrato, pesadas em balança com precisão de 6 casas decimais, foram colocados em balão volumétrico de 10 mL e dissolvidos em MeOH até o volume constante, constituída assim, a “solução-mãe” estoque. A partir desta, uma alíquota de 100µL foi transferida para outro balão volumétrico e agitada com 500 µL do reagente de *Folin-Ciocalteu* e 6 mL de água destilada. Depois de 2 min, 2 mL de Na₂CO₃ a 15% foram adicionados a cada mistura e agitados por 30 segundos. Por seguinte, as soluções tiveram seus volumes acertados com água destiladas para 10 mL. Após 2h de reação, as absorbâncias das amostras foram medidas em triplicatas a 750 nm (Fig. 3.5), tendo como “branco” de metanol e os demais reagentes utilizados nas amostras.

A determinação do teor de fenóis totais foi feita por interpolação da absorbância das amostras contra a curva de calibração, obtida por meio da curva padrão do ácido gálico em concentrações de 2,5 a 60 µg/mL (Anexo 1), sendo os resultados expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. Na preparação dos padrões foram utilizados os mesmos reagentes. O reativo de *Folin-Ciocalteu*, quando na presença de compostos fenólicos, muda sua coloração de amarela para azul e a intensidade da coloração azul é maior quanto maior a quantidade de compostos fenólicos na solução. As análises de fenóis totais foram realizadas no Laboratório de Ciências Químicas (LCQUI) do Centro de Ciência e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

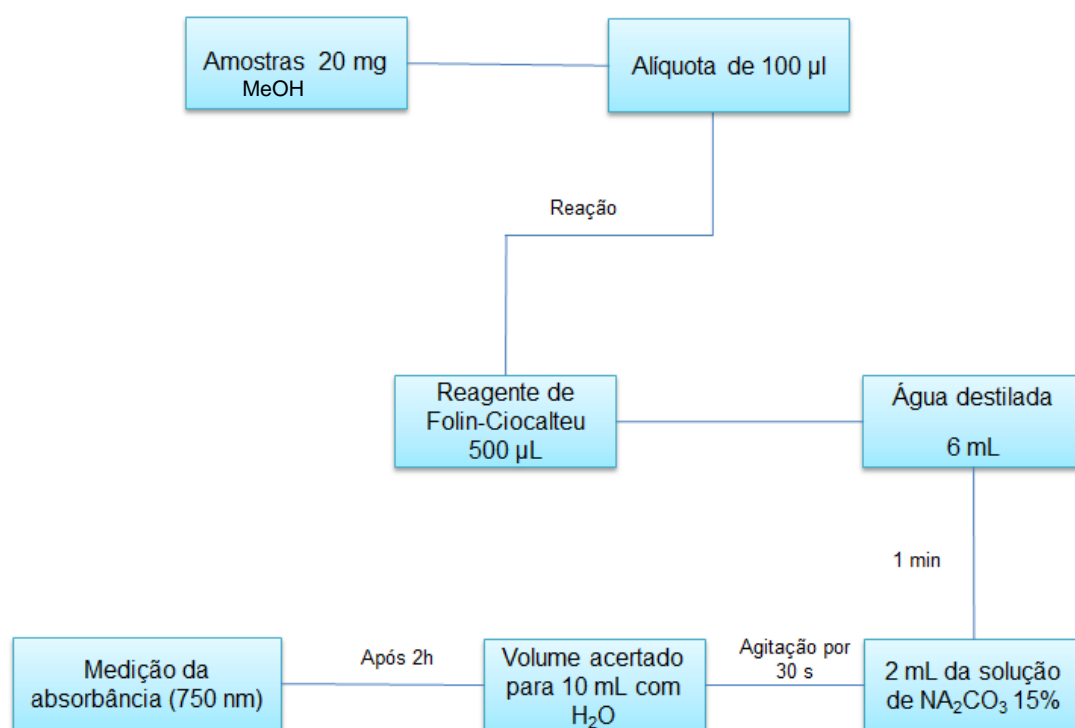


Figura 3. 5. Metodologia para determinação das absorbâncias das amostras.

3.2.5 Análises de dados

As variáveis que na análise de resíduos foram detectados problemas de normalidade e homocedasticidade de variâncias sofreram transformações em arco seno (herbivoria, N, TA) e logarítmica (AF, Ca, P, Mg, C/N, C/P, N/P e FT).

Somente os valores de C e MFA não foram transformados por terem atendido as premissas de normalidade e homogeneidade das variâncias. Anova fatorial, a partir do modelo GLM (*general linear models*), foi utilizada para as análises de herbivoria e atributos foliares, visando testar os efeitos dos gêneros e do tipo ambiental (espécie da FOD x espécies da REST). Nesta análise, o gênero é tratado como fator aleatório e o tipo ambiental como fator fixo, garantindo que as espécies e não os indivíduos fossem tratados como unidade amostral. Este tipo de análise tem sido muito utilizado em outros estudos de pares congêneros (Hoffmann & Franco 2003; Hoffmann *et al.*, 2005; Rossatto *et al.*, 2009; Rossatto *et al.*, 2013), possibilitando uma visão filogenética dos dados. Quando ocorre um efeito apenas do tipo ambiental há um indicativo de que os fatores ambientais estão atuando nas diferenças observadas dos pares congêneros entre as áreas. Todavia, quando há um efeito apenas de gênero indica uma maior relação filogenética. Quando há interação entre tipo ambiental e gênero indica a existência de efeito dos dois fatores nas diferenças observadas e esta comparação é realizada par a par como se fosse um teste t pareado (Hoffmann *et al.*, 2004; Rossatto *et al.*, 2009; Rossatto *et al.*, 2013). Para verificar se a variação dos dados pode ser atribuída a diferenças entre gêneros ou diferenças entre os tipos ambientais, foram calculados os valores de r^2 parciais para cada variável a partir da ANOVA fatorial, onde $r^2 = SS_{\text{fator}} / SS_{\text{total}}$. O SS_{fator} é a soma dos quadrados de um fator (tipo ambiental ou gênero) e SS_{total} é a soma total dos quadrados (Rosenthal & Rosnow, 1985; Rossatto *et al.*, 2013).

As relações entre os valores de herbivoria e demais atributos foliares foram realizadas por meio de uma regressão linear simples e do coeficiente de correlação de Pearson, utilizando a média dos valores para cada espécie amostrada em maio e setembro de 2013. Com exceção da herbivoria, as demais variáveis foram submetidas à Análise de Componentes Principais (ACP). Posteriormente, as escores das espécies nos eixos 1 e 2 da ACP, os quais representaram seu “nicho biogeoquímico” (Peñuelas *et al.*, 2010; Peñuelas *et al.*, 2013) foram correlacionadas com os valores de herbivoria de cada espécie. Todas as análises supracitadas foram feitas no *software Statistica 7.0* (STATSOFT, 2004), sendo adotado o nível de significância a 5%. Nas análises dos dados da ACP foram utilizadas somente as variáveis de

nutrientes e não detectados altas colinearidades entre as variáveis independentes. Os dados de fenóis totais não foram utilizados na ANOVA fatorial, visto que as análises foram feitas por espécie, não havendo réplicas por indivíduo. Assim, para as comparações de fenóis totais entre as áreas, o teste T de Student foi empregado. O programa Phylocom foi utilizado para a construção da árvore filogenética, a qual incluiu os 10 pares congêneros amostrados nos dois ambientes (FOD e REST) (Fig. 3.1).

3.3 Resultados

3.3.1 Herbivoria foliar

A herbivoria foliar foi variável nos dois ambientes (FOD e REST), havendo efeito do tipo de ambiente, sendo a média geral das espécies da FOD ($7,2 \% \pm 0,24$) significativamente maior (Anova fatorial, $p= 0,04$) do que a média geral das espécies da REST ($3,2 \pm 0,87$) (Tab. 3.6). Cerca de 60% das espécies da FOD e apenas 20 % das espécies da REST apresentaram herbivoria $\geq 5\%$, sendo o valor de 5% referente à média geral de herbivoria observada no presente estudo (Fig. 3.6). Não houve efeito do gênero ($p= 0,36$), mas houve efeito da interação tipo ambiental x gênero ($p<0,0001$), sendo os valores de herbivoria dos pares congêneros coocorrentes nas duas áreas similares ($n=3$) ou maiores ($n= 6$) para os gêneros amostrados na FOD, exceto para *Eugenia*, que apresentou maiores porcentagens de herbivoria na REST que na FOD (Fig. 3.6; Tab. 3.6).). Casos de indivíduos com valores extremos de perda de área foliar por herbivoria ($> 25\%$) foram raros (menos de 5% dos indivíduos) em todas as amostragens realizadas nos dois tipos ambientais (Fig. 3.7), indicando que os valores de herbivoria não foram subestimados pelo método pontual utilizado.

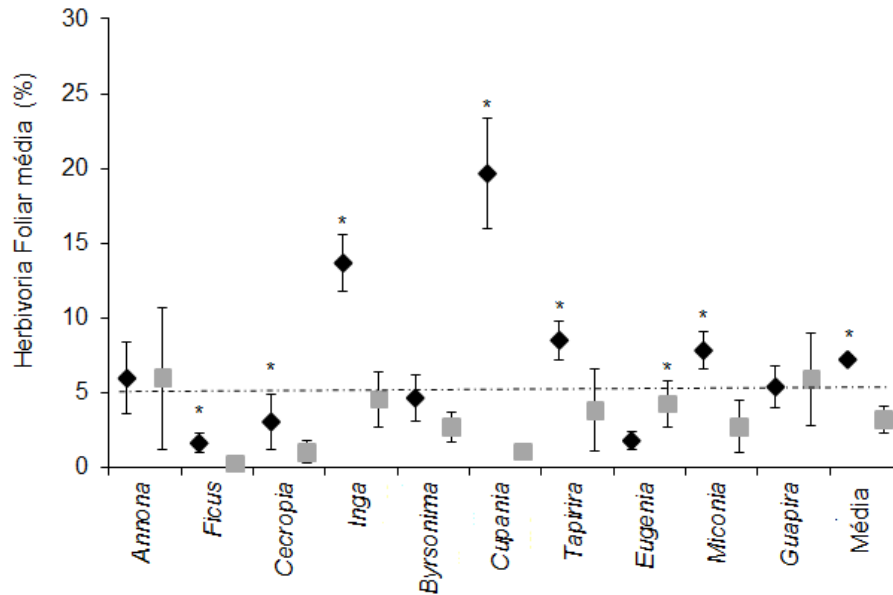


Figura 3. 6. Média geral da herbivoria foliar (%) dos pares congêneros estudados. O asterisco indica diferença entre espécies de um mesmo gênero. Não houve diferenças entre os gêneros. As barras verticais indicam o desvio padrão. A linha tracejada corresponde à média geral das duas áreas igual a 5% (◆= Floresta Ombrófila Densa; ■= Restinga). ANOVA fatorial, $p < 0,05$. N=5.

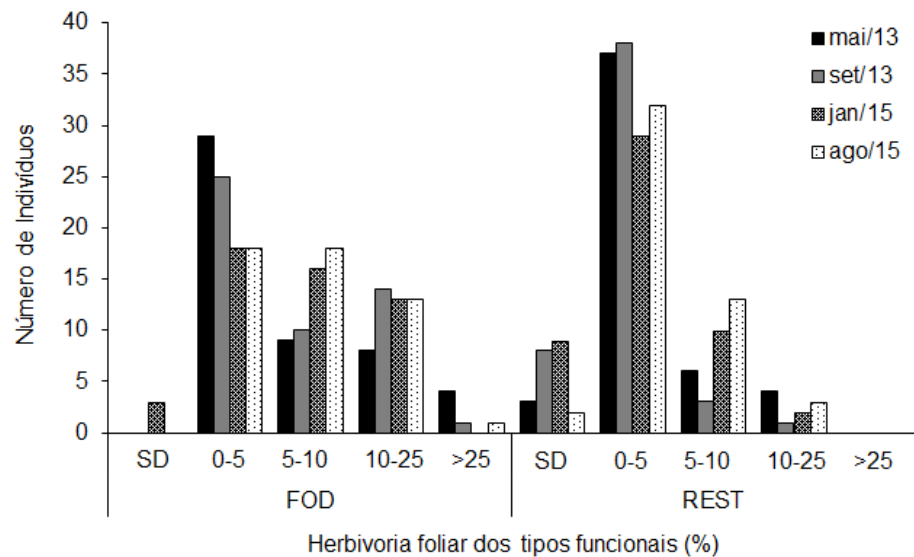


Figura 3. 7. Variação na herbivoria foliar (%) dos tipos funcionais amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST) em maio e setembro de 2013, e janeiro e agosto de 2015. SD= sem de dano. N=50.

A partir de registros dos tipos de danos por herbivoria, verificou-se que danos por insetos mastigadores de folhas foram observados em todos os pares congêneros da FOD e REST. Danos provocados por insetos raspadores e minadores foram mais observados na FOD, enquanto na REST foram os galhadores (Tab. 3.2). De modo geral, os gêneros da FOD apresentaram maior quantidade de registros de diferentes tipos de herbivoria (Tab. 3.2) do que seus respectivos pares congêneros da REST. Todavia, os gêneros *Annona* e *Cecropia* apresentaram os mesmos tipos de dano por herbívoros em ambos os ambientes.

Tabela 3. 2. Guilda de herbívoros por meio do registro do tipo de dano foliar por herbivoria provocado por insetos em folhas dos pares congêneros amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) em maio e setembro de 2013, e janeiro e agosto de 2015. N=5.

Gêneros	FOD	REST
<i>Annona</i>	mastigadores e raspadores	mastigadores e raspadores
<i>Ficus</i>	mastigadores, minadores e raspadores	mastigadores, raspadores
<i>Cecropia</i>	galhadores, mastigadores, minadores e raspadores	galhadores, mastigadores, minadores e raspadores
<i>Inga</i>	mastigadores e raspadores	galhadores, mastigadores e raspadores
<i>Byrsonima</i>	mastigadores, minadores e raspadores	mastigadores
<i>Cupania</i>	mastigadores, minadores e raspadores	mastigadores
<i>Tapirira</i>	mastigadores, raspadores	mastigadores
<i>Eugenia</i>	mastigadores e raspadores	galhadores, mastigadores,
<i>Miconia</i>	mastigadores, minadores e raspadores	mastigadores
<i>Guapira</i>	galhadores, mastigadores e minadores	galhadores e mastigadores

3.3.2 Tricomas foliares

A cobertura de tricomas nos tecidos foliares variou entre os gêneros do mesmo ambiente. Cerca de 70% das espécies da FOD e 60% das espécies da REST apresentaram tricomas foliares, sendo observados em maior quantidade na face abaxial do limbo. Com relação aos pares congêneros amostrados nos dois tipos ambientais (FOD e REST), houve a presença ou maior cobertura de tricomas para os gêneros *Annona*, *Inga* e *Miconia* da FOD do que seus respectivos pares congêneros da REST. Entretanto, só foi observado tricomas para *Ficus* da REST e *Cecropia* desta mesma área apresentou tecidos foliares mais densamente recobertos por tricomas comparativamente a *Cecropia* da FOD. Os demais pares congêneros não apresentaram tricomas

foliares ou a cobertura deles foi similar em ambos os tipos ambientais (Tab. 3.3).

Tabela 3. 3. Cobertura de tricomas foliares dos pares congêneros amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e restinga (REST). 0= glabra; 1= rara (até 20%), 2= frequente (21-50%), 3= densa (51-70%) e 4= muito densa (> 70%). N=5.

Gêneros	FOD		REST	
	AD	AB	AD	AB
<i>Annona</i>	1	3	0	0
<i>Ficus</i>	0	0	1	1
<i>Cecropia</i>	0	1	2	3
<i>Inga</i>	1	2	0	0
<i>Byrsonima</i>	1	4	1	4
<i>Cupania</i>	0	1	0	1
<i>Tapirira</i>	0	1	0	1
<i>Eugenia</i>	0	0	0	0
<i>Miconia</i>	0	4	0	1
<i>Guapira</i>	0	0	0	0

3.3.3 Análises quantitativas da qualidade foliar

No geral, houve efeito do tipo ambiental para a maioria dos parâmetros foliares analisados, onde folhas das espécies da FOD apresentaram maior concentração de N, razões C/P, N/P, AF e TA do que as espécies da REST. Espécies da REST tiveram folhas com maiores valores médios de C/N, P e MFA do que as espécies da FOD. Atributos como C, Ca e Mg, apresentaram valores médios similares entre FOD e REST, visto que não houve efeito do tipo ambiental (Tab. 3.6). Houve efeito do gênero somente para as variáveis N, Mg, C/P e AF (Tab. 3.6), e em todos os atributos estudados houve efeito da interação tipo ambiental x gênero ($p < 0,01$).

Para a variável C, foi observado efeito apenas para a interação tipo ambiental x gênero e revelou que não houve um padrão definido, com quatro gêneros da FOD apresentando maiores concentrações de C do que seus respectivos pares congêneros da REST, dois gêneros não diferindo estatisticamente entre FOD e REST, e quatro gêneros com maiores valores de C para a REST (Fig. 3.8a).

Para a concentração de N, *Cecropia* e *Inga* foram os gêneros que apresentaram maiores concentrações deste elemento, enquanto que *Eugenia*, *Tapirira* e *Byrsonima*, e apresentaram os menores valores. Sete gêneros da FOD (*Ficus*, *Inga*, *Cupania*, *Tapirira*, *Eugenia*, *Miconia* e *Guapira*) apresentaram maiores concentrações de N do que seus respectivos pares congêneros da REST, dois apresentaram valores similares entre FOD e REST e apenas *Annona* apresentou maiores valores de N para os indivíduos da REST (Fig. 3.8b).

Nas análises da razão C/N, os gêneros *Eugenia* e *Tapirira* apresentaram os maiores valores, diferindo estatisticamente entre si, e *Cecropia*, *Inga* e *Guapira* apresentaram os menores. Com relação aos pares congêneros, sete gêneros da REST (*Ficus*, *Inga*, *Cupania*, *Tapirira*, *Eugenia*, *Miconia* e *Guapira*) apresentaram maior razão C/N do que seus respectivos pares congêneros da FOD, dois gêneros apresentaram valores similares entre FOD e REST e apenas *Annona* apresentou maiores valores de C/N para os indivíduos da FOD (Fig. 3.8c).

A partir de comparações dos valores de Ca, o efeito observado apenas para a interação tipo ambiental x gênero apontou que seis gêneros da REST (*Annona*, *Inga*, *Byrsonima*, *Tapirira*, *Eugenia* e *Guapira*) apresentaram maiores concentrações de Ca do que os seus respectivos pares congêneros da FOD, três gêneros da FOD (*Ficus*, *Cupania* e *Miconia*) apresentaram os maiores valores de Ca do que os seus respectivos pares congêneros da REST e apenas um gênero não diferiu entre FOD e REST (Fig. 3.8d).

Os valores de P tiveram efeito apenas para a interação tipo ambiental x gênero, revelando que as concentrações de P dos pares congêneros foram similares (*Cecropia*, *Inga*, *Byrsonima*, *Tapirira*, *Miconia*) ou maiores para os gêneros da REST (*Annona*, *Ficus*, *Cupania*, *Eugenia* e *Guapira*) (Fig. 3.8e).

Ao comparar as concentrações de Mg entre os gêneros, foi observado que *Guapira* apresentou maiores concentrações Mg, enquanto que *Inga* apresentou a menor concentração deste elemento. Quatro gêneros da FOD apresentaram maiores concentrações de Mg do que seus respectivos pares congêneros da REST, quatro apresentaram valores similares entre FOD e REST, exceto para *Eugenia* e *Guapira* que apresentaram maiores valores de Mg na REST que na FOD (Fig. 3.8f).

As análises comparativas das razões C/P entre gêneros revelaram que *Byrsonima*, *Tapirira* e *Miconia* apresentaram os maiores valores, enquanto que *Cecropia* e *Cupania* apresentaram os menores valores. Dos 10 pares congêneros amostrados, quatro gêneros da FOD apresentaram maiores concentrações de C/P do que seus respectivos pares congêneros da REST, os demais gêneros coocorrentes não diferiram significativamente entre FOD e REST (Fig. 3.8g).

Com relação à razão N/P, o efeito observado apenas para a interação tipo ambiental x gênero apontou que sete gêneros coocorrentes nos dois tipos funcionais apresentaram maior razão N/P para os gêneros da FOD e os demais gêneros não diferiram significativamente entre FOD e REST (Fig 3.8h).

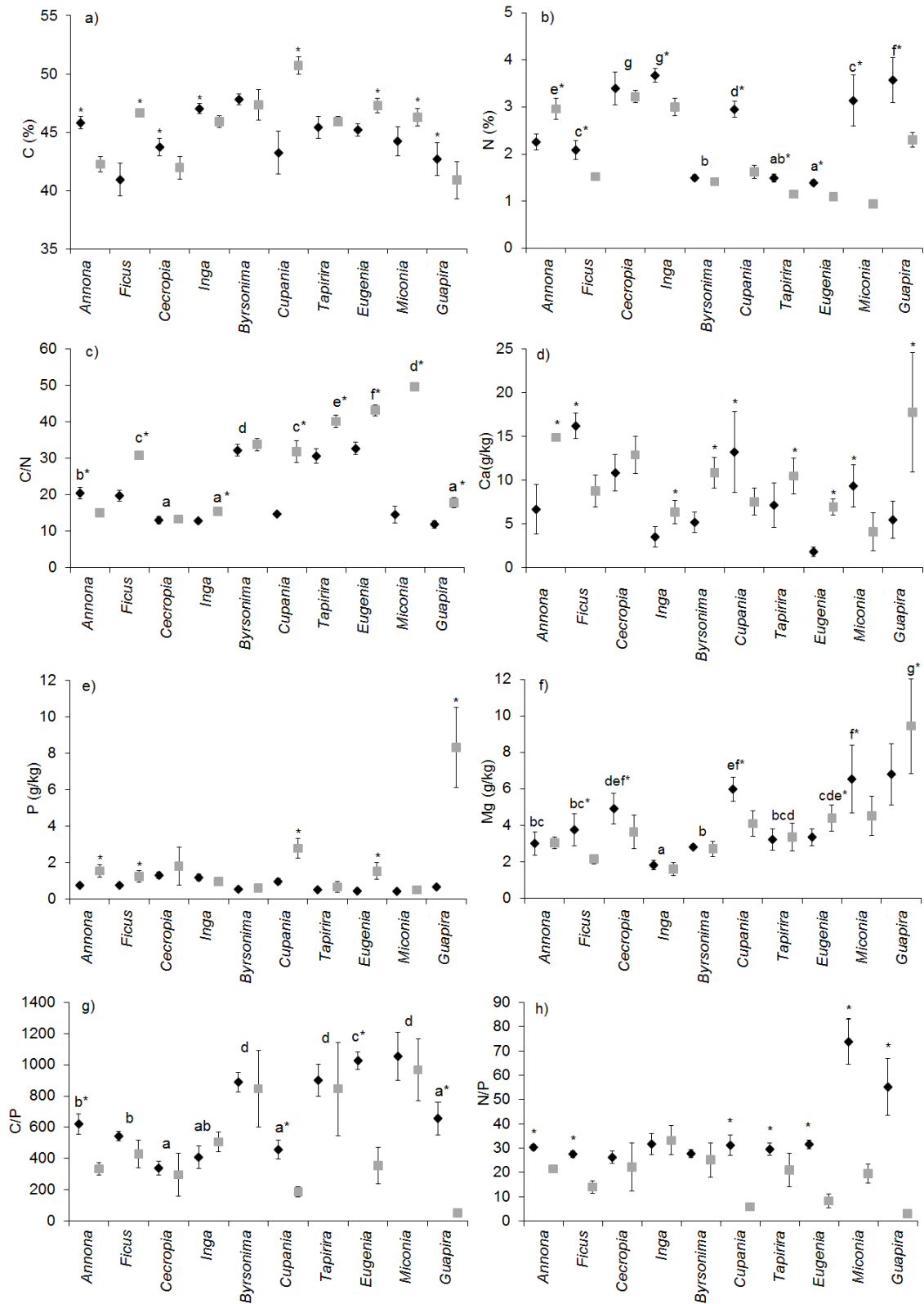


Figura 3. 8. Concentrações médias de C, N, razão C/N, Ca, P, Mg e razão C/P e N/P para os pares congenéricos estudados. O asterisco indica diferença entre espécies de um mesmo gênero. Letras diferentes indicam diferenças entre os gêneros. As barras verticais indicam o desvio padrão. (◆ = Floresta Ombrófila Densa; ■ = Restinga). ANOVA fatorial, $p \leq 0,05$; N= 5.

A partir de comparações dos teores de água dos gêneros foi verificado que *Guapira* apresentou maiores teores de água, enquanto que *Inga*, *Byrsonima*, *Tapirira* e *Eugenia* apresentaram os menores valores. Dos 10 pares congêneros estudados, oito apresentaram maiores teores de água para os gêneros da FOD, e os gêneros *Tapirira* e *Annona*, com valores de água similares (entre FOD e REST) e maiores valores para os indivíduos da REST, respectivamente (Fig. 3.9a).

Para a variável MFA, o efeito observado apenas para a interação tipo ambiental x gênero indicou que, dos 10 pares congêneros estudados, nove apresentaram maiores valores de MFA para os gêneros da REST, não havendo diferenças nos valores de MFA para *Annona* amostrada FOD e REST (Fig. 3.9b).

Nas análises de AF, *Cecropia* foi o gênero que apresentou maiores valores, enquanto que *Eugenia* apresentou os menores valores. Oito gêneros amostrados na FOD apresentaram maior AF do que seus respectivos pares congêneros amostrados na REST e apenas dois gêneros não diferiram significativamente entre FOD e REST (*Cecropia* e *Eugenia*) (Fig. 3.9c).

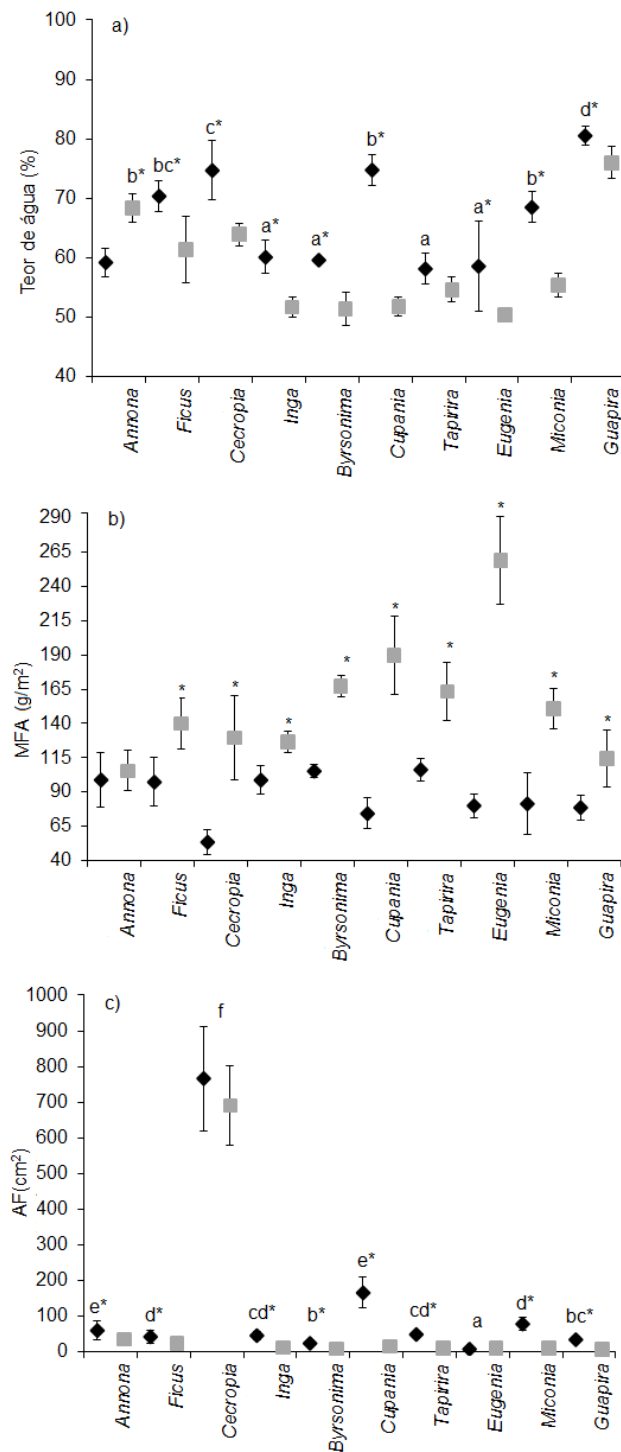


Figura 3. 9. Valores médios de teor de água, massa seca por unidade de área (MFA) e área foliar total (AF) para os pares congêneros estudados. O símbolo * indica diferença entre espécies de um mesmo gênero ($p < 0,05$). Letras diferentes indicam diferenças entre os gêneros ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão. (♦ = Floresta Ombrófila Densa; ■ = Restinga). N= 5.

A concentração de fenóis totais diferiu significativamente entre as áreas (teste T, $p= 0,01$) com os gêneros da REST, geralmente apresentando maiores valores que seus respectivos pares da FOD, principalmente para *Ficus*, *Inga*, *Byrsonima*, *Cupania*, *Eugenia* e *Miconia*, os quais apresentaram em torno de 2 a 8 vezes mais FT para os seus respectivos pares congêneros da REST. A partir de comparações entre os gêneros de cada área foi observado que, *Annona*, *Byrsonima* e *Tapirira* da FOD apresentaram os maiores valores de FT ($\geq 18,9$ mg de ácido gálico/g de extrato), enquanto que na REST, além de *Byrsonima* e *Tapirira*, *Ficus* e *Miconia* também apresentaram altos valores de FT ($\geq 28,2$ mg de ácido gálico/g de extrato). *Ficus*, *Cupania*, *Miconia* e *Guapira* apresentaram os menores valores de FT na FOD ($\leq 4,9$ mg de ácido gálico/g de extrato), ao passo que *Guapira* foi gênero que apresentou o menor na REST (4,2 mg de ácido gálico/g de extrato) (Tab. 3.4).

Tabela 3. 4. Valores médios das concentrações de fenóis totais expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato dos pares congêneros amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e restinga (REST). Asterisco indica diferença significativa, Teste T, $p \leq 0,05$. N=10. dp= desvio padrão.

Gêneros	Áreas estudadas	
	FOD	REST
<i>Annona</i>	19,25	13,56
<i>Ficus</i>	3,41	28,16
<i>Cecropia</i>	8,76	13,40
<i>Inga</i>	9,08	19,16
<i>Byrsonima</i>	22,93	40,83
<i>Cupania</i>	3,46	13,81
<i>Tapirira</i>	18,92	27,04
<i>Eugenia</i>	7,09	24,54
<i>Miconia</i>	4,87	29,13
<i>Guapira</i>	4,84	4,21
Média ± dp	10,26 ± 7,32	21,38 ± 10,58*

3.3.4 Relação entre os atributos foliares

Os resultados do diagrama de ordenação da ACP (Fig. 3.10a e b) mostraram que para os dados dos atributos foliares dos pares congêneros coocorrentes na FOD e REST, o primeiro eixo representou 49,9% da variação, seguido do segundo eixo com 18,8%, sendo responsáveis por 68,7% da variância total dos dados. Os autovalores produzidos pela ACP (eixo 1= 4,5; eixo 2= 1,7) foram mais elevados que os autovalores para o terceiro e quarto eixo ($\leq 1,0$), os quais foram considerados menos prováveis de terem algum significado ecológico.

As variáveis FT ($r= 0,85$), C ($r= 0,84$) e MFA ($r= 0,74$) apresentaram uma forte correlação positiva e significativa com o primeiro eixo da ordenação, enquanto que TA ($r= -0,94$) e N ($r= -0,76$) foram mais forte e negativamente correlacionados com o mesmo eixo, seguido de AF ($r= -0,63$), Mg ($r= -0,60$) e Ca ($r= -0,47$). Para o segundo eixo, a variável P ($r= 0,78$) foi a que apresentou significativamente o maior coeficiente de correlação, sendo negativamente correlacionada com o referido eixo, seguida de Ca ($r= 0,57$), MFA ($r= 0,56$) e Mg ($r= 0,45$) (Fig. 3.10b; Tab. 3.5).

A ACP revelou que as espécies estão distribuídas ao longo de gradientes, denotando a discriminação interespecífica. No primeiro eixo da ACP houve a formação de dois grupos distintos, onde o primeiro grupo contém espécies da FOD e *Annona* e *Cecropia* da REST, estando agrupadas na parte negativa deste eixo, principalmente devido às maiores concentrações de N e TA. O segundo grupo compreende principalmente as espécies da REST mais algumas espécies da FOD, devido principalmente às maiores concentrações de FT e C, seguido de MFA. *Guapira* da REST ficou localizada na parte extrema negativa do eixo devido às maiores concentrações de Mg e Ca (Fig. 3.10a). No segundo eixo da ACP houve uma nítida separação em dois grupos, com a maioria das espécies da REST situadas na parte positiva do eixo, devido às maiores concentrações de P, Ca e MFA e a maioria das espécies da FOD situadas na parte negativa deste mesmo eixo, estando agrupadas principalmente devido às menores concentrações desses nutrientes. Assim, de modo geral, as espécies da FOD apresentaram principalmente maiores concentrações de N, TA e espécies da REST apresentaram maiores concentrações de C, FT, C/N e P (Fig. 3.10b; Tab. 3.5).

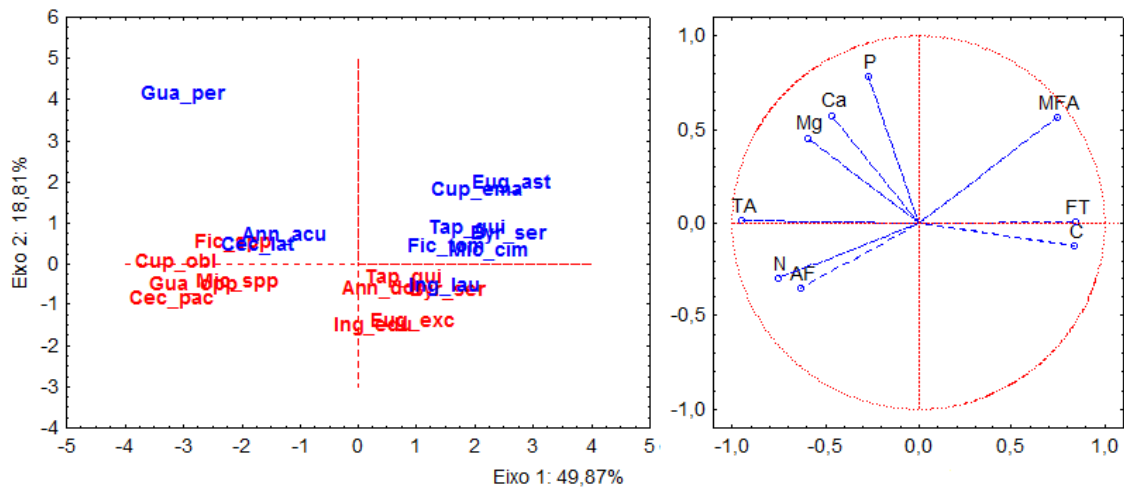


Figura 3. 10. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos pares congênericos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (vermelho) e restinga (azul). Projeção das espécies (a) e das variáveis C= carbono; N= nitrogênio; Ca= Cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar TA= teor de água e FT= fenóis totais (b) em relação aos eixos 1 e 2. Ann_dol= *Annona dolabripeta*, Ann_acu= *Annona acutiflora*, Fic_spp= *Ficus* sp., Fic_tom= *Ficus tomentella*, Cec_pac= *Cecropia pachystachya*, Cec_lat= *Cecropia latiloba*, Ing_edu= *Inga edulis*, Ing_lau= *Inga laurina*, Byr_ser= *Byrsonima sericea*, Cup_obl= *Cupania oblongifolia*, Cup_ema= *Cupania emarginata*, Tap_gui= *Tapirira guianensis*, Eug_exc= *Eugenia excelsa*, Eug_ast= *Eugenia astringens*, Mic_spp= *Miconia* sp., Mic_cin= *Miconia cinnamomifolia*, Gua_opp= *Guapira opposita*, Gua_per= *Guapira pernambucensis*. N=20.

Tabela 3. 5. Valores dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis relacionadas e os autovetores das análises de componentes principais (ACP) das pares congêneros amostrados na Floresta Ombrófila Densa e Restinga. C= carbono; N= nitrogênio; Ca= Cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar; TA= teor de água e FT= fenóis totais. N=20.

Atributos	Auto-vetores	
	1	2
C	0,84***	-0,12
N	-0,76***	-0,30
Ca	-0,47*	0,57**
P	-0,27	0,78***
Mg	-0,60**	0,45*
FT	0,85***	0,01
MFA	0,74***	0,56*
AF	-0,63**	-0,35
TA	-0,94***	-0,01
Total da variância explicada (%)	49,9	18,8

Dados transformados. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

A partir da correlação de Pearson foi verificado que nutrientes foliares como C e N, influenciaram nos atributos de defesas das espécies estudadas, onde as concentrações de C foram correlacionadas positivamente com MFA ($r= 0,53$; $p= 0,016$) e fenóis totais ($r= 0,66$; $p= 0,001$). O N apresentou uma correlação negativa com MFA ($r= -0,63$; $p= 0,003$) e FT ($r= -0,60$; $p= 0,006$). A razão C/N foi positivamente correlacionada com MFA ($r= 0,66$; $p= 0,002$) e FT ($r= 0,65$; $p= 0,002$). FT e MFA foram positivamente correlacionados entre si ($r= 0,65$; $p= 0,002$) (Fig. 3.11).

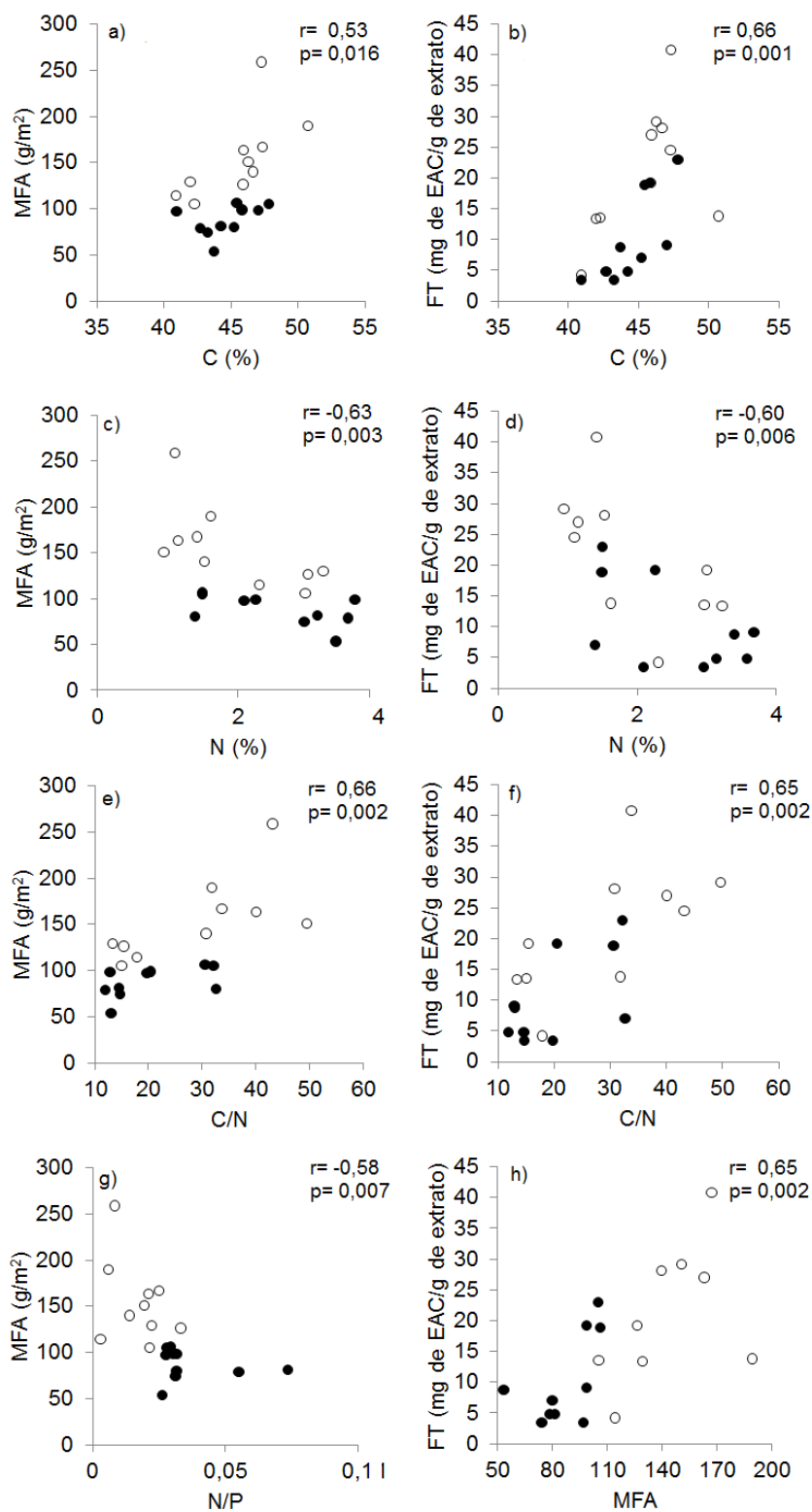


Figura 3. 11. Correlações significativas dos valores de MFA (g/m²) e Fenóis totais (mg de EAG/g de extrato) com as concentrações (%) de carbono (C), N e razão C/N (a-f), e das concentrações de MFA com a razão N/P (g) e fenóis totais com MFA (h). Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○). N=20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p < 0,05$.

3.3.5 Herbivoria em relação aos atributos foliares

Ao relacionar os valores dos autovetores das espécies estudadas do primeiro e segundo eixo da ACP com os valores de herbivoria destas espécies foi verificado que não houve correlação significativa tanto para o primeiro eixo ($r = -0,40$; $p = 0,08$) quanto para o segundo eixo ($r = 0,14$; $p = 0,56$) (Fig. 3.12). Entretanto, quando os valores de herbivoria foram relacionados com cada atributo foliar separadamente, foi verificado que apenas os atributos N e C/N foram correlacionados significativamente com a herbivoria, sendo positiva para N ($r = 0,46$; $p = 0,04$) e negativa para C/N ($r = -0,45$; $p = 0,05$) (Fig. 3.13) e um tendência dos valores de herbivoria serem negativamente correlacionados com a concentração de fenóis totais ($r = -0,42$; $p = 0,06$).

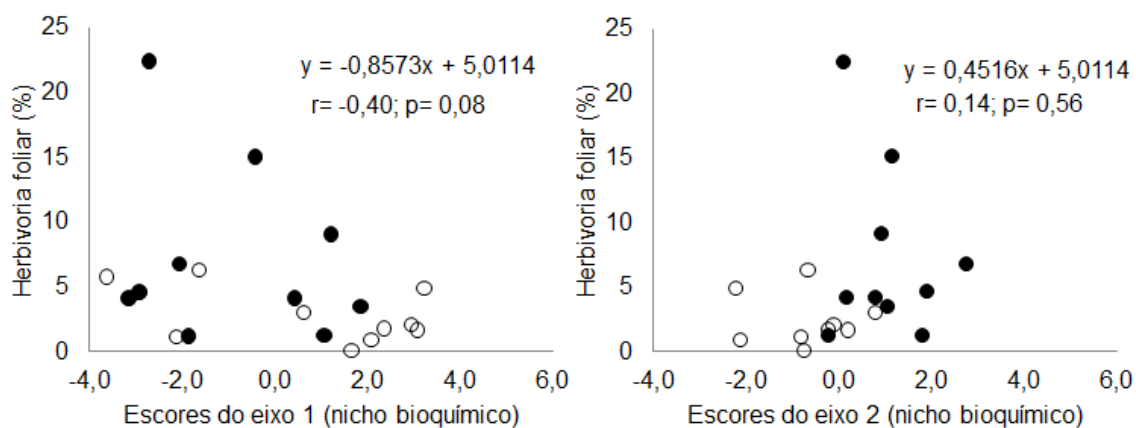


Figura 3. 12. Regressão linear entre herbivoria foliar média (%) e os escores dos eixos 1 (a) e 2 (b) da análise de componentes principais (ACP) dos pares congênericos de espécies coocorrentes na Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○). N=20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p > 0,05$.

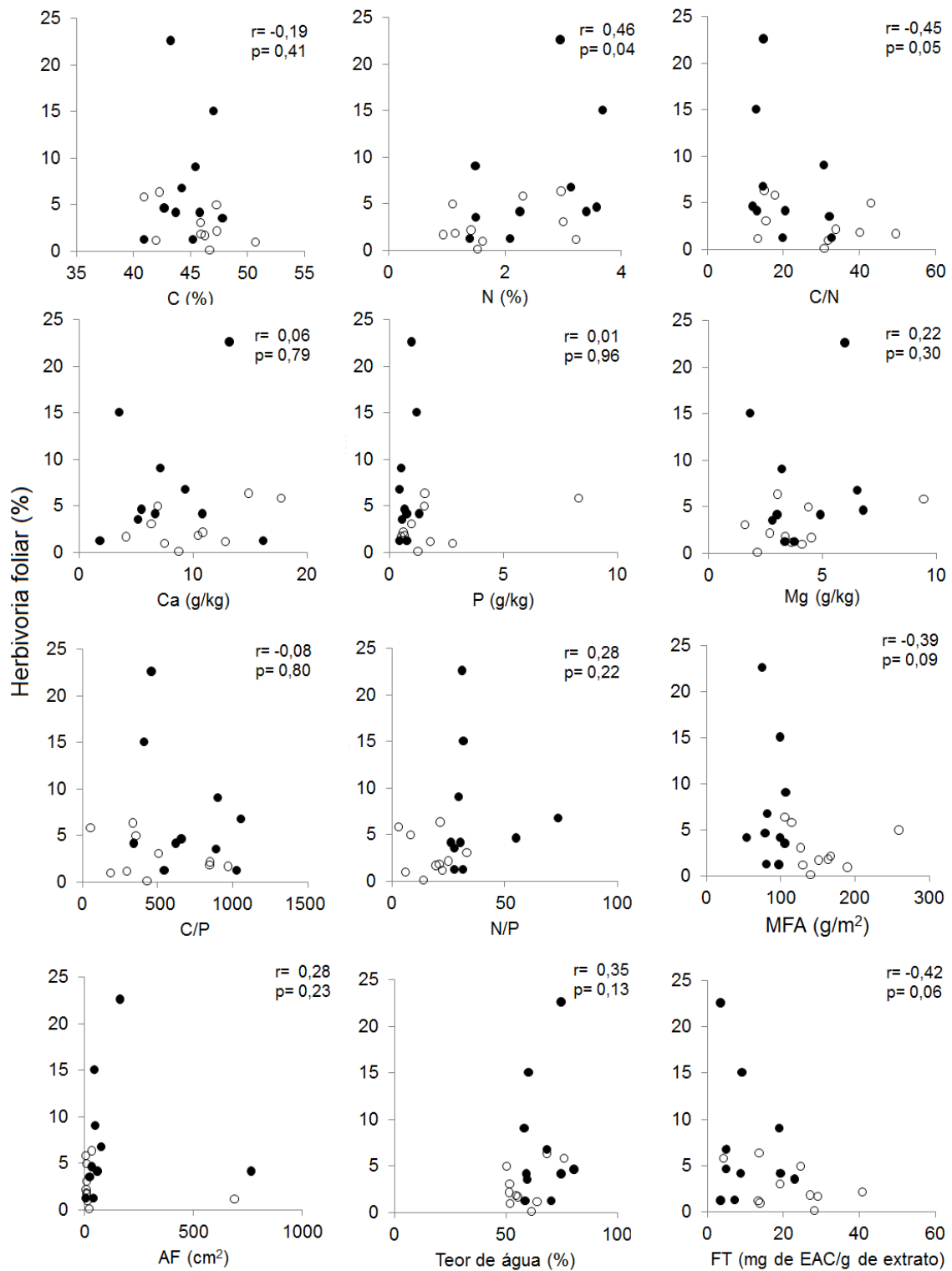


Figura 3. 13. Correlação entre herbivoria e atributos foliares dos pares congêneros de espécies coocorrentes na Floresta Ombrófila Densa e Restinga (●= FOD; ○= Restinga). C= carbono; N= nitrogênio; Ca= Cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar TA= teor de água e FT= fenóis totais. N=20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p < 0,05$.

3.3.6 Variância da herbivoria e atributos foliares explicadas pela filogenia e gênero

As variâncias interespecíficas das variáveis herbivoria, C/N, P, N/P e MFA foram significativamente explicadas (r^2) devido às diferenças observadas entre os ambientes amostrados (FOD e REST), enquanto que diferenças observadas na variância para o Mg foram explicadas apenas pelos gêneros. Para as variáveis N, razão C/P, AF e TA, embora tenham ocorrido diferenças significativas tanto para o tipo ambiental quanto para o gênero, as variâncias destes atributos foram mais explicadas pelas diferenças observadas entre gêneros (Tab. 3.6).

Tabela 3. 6. Herbivoria e atributos foliares (média \pm desvio padrão) das espécies amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Restinga (REST), seguidos dos valores de significância (p) e fração da variância explicada (r^2) pelo tipo ambiental= áreas estudadas (TA) e pelo gênero (G). Anova fatorial, $p < 0,05$ (destacado em negrito). C= carbono orgânico; N= nitrogênio total; Ca= cálcio; P= fósforo, Mg= magnésio, MFA= massa seca por unidade de área; AF= área foliar TA= teor de água, C/N, C/P e N/P (razão por peso). N=10.

Variável	FOD	REST	P TF	P G	r^2 TF	r^2 G
Herbivoria (%)	7,2 \pm 0,24	3,2 \pm 0,87	0,04	0,36	0,19	0,36
C (%)	44,6 \pm 2,0	45,5 \pm 2,3	0,43	0,41	0,03	0,46
N (%)	2,55 \pm 0,9	1,9 \pm 0,9	0,04	0,03	0,12	0,67
C/N	20,25 \pm 8,4	29,1 \pm 13,05	0,04	0,07	0,15	0,62
Ca (g/kg)	7,9 \pm 4,5	10,4 \pm 4,2	0,22	0,48	0,07	0,38
P(g/kg)	0,76 \pm 0,3	2,0 \pm 2,3	0,05	0,36	0,18	0,42
Mg(g/kg)	4,23 \pm 1,7	3,9 \pm 2,2	0,27	<0,01	0,01	0,74
C/P	690,0 \pm 247,8	482,4 \pm 291,3	0,03	0,04	0,13	0,59
N/P	36,5 \pm 14,7	17,4 \pm 8,96	<0,01	0,73	0,35	0,22
MFA(g/m ²)	87,49 \pm 16,7	154,6 \pm 44,7	<0,01	0,57	0,47	0,20
AF(cm ²)	127,4 \pm 228,7	8,25 \pm 213,7	<0,01	<0,01	0,15	0,74
TA (%)	66,45 \pm 5,18	58,5 \pm 8,7	<0,01	0,04	0,17	0,58

3.4 Discussão

Os valores médios de herbivoria foliar encontrados para as espécies estudadas na FOD e REST variaram entre 0,2 e 20% e estão dentro da variação observada para espécies de florestas tropicais (0,09 a 30%), usando o método pontual (Nascimento *et al.*, 2011; Peñuelas *et al.*, 2013; Cárdenas *et*

al., 2014). Entretanto, a FOD apresentou maior herbivoria foliar média que a REST e quando considerados os pares congêneros coocorrentes entre as áreas, os valores de herbivoria foliar foram em geral maiores nos gêneros da FOD. Silva e Medeiros (2005), ao analisarem a herbivoria foliar em *Psidium cattleianum* Sab. (Myrtaceae) coocorrente em FOD e REST também encontraram maiores valores de herbivoria para os indivíduos da FOD comparativamente aos da REST. Outros estudos também encontraram diferenças nos valores de herbivoria em ambientes distintos, como por exemplo, fitofisionomias de Cerrado, como Mata de Galeria e Cerrado Típico, com maiores valores de herbivoria para a Mata de Galeria (Neves *et al.*, 2010; Françoso *et al.*, 2013).

Estudos afirmam que a mastigação é responsável por mais de 90% da herbivoria foliar em florestas tropicais (Adams *et al.*, 2009; Leal *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2013; Moctezuma *et al.*, 2014). Apesar dos diferentes tipos de danos por herbivoria não terem sido quantificados no presente estudo, danos provocados por insetos mastigadores foram observados em folhas de todas as espécies amostradas de ambos os tipos funcionais (FOD e REST), seguido de danos provocados por insetos raspadores (65%), minadores (35%) e galhadores (30%), sugerindo que os insetos mastigadores de folhas sejam realmente os principais herbívoros das espécies estudadas em ambos ambientes.

3.4.1. Espécies da FOD apresentam maiores porcentagens de herbivoria devido a maior qualidade foliar?

A maioria das espécies da FOD apresentaram maiores concentrações de N, TA, AF e razão N/P, e menores valores de MFA, fenóis totais e razão C/N do que suas espécies congêneras da REST, indicando maior qualidade foliar para as espécies da FOD. Estas espécies apresentaram também maiores porcentagens de herbivoria. O fato das espécies com maiores valores de herbivoria apresentarem significativamente folhas com maiores concentrações de N, e menor razão C/N corrobora estudos de Cornelissen e Fernandes (2001), Meloni *et al.* (2012), Silva *et al.* (2012), Bisigato *et al.* (2015), Caldwell *et al.* (2016) e Silva *et al.* (2015). É sabido que plantas com baixos valores de N

e altos valores de C/N apresentam baixa qualidade nutricional (Lemoine *et al.*, 2014) e altas concentrações de metabólitos baseados em carbono (Awmack & Leather, 2002; Royer *et al.*, 2013). Tais características podem afetar o desempenho dos insetos herbívoros (Awmack & Leather, 2002), sendo em geral, a herbivoria relacionada negativamente à razão C/N (Meloni *et al.*, 2012).

3.4.2. Existe controle ambiental no investimento em defesas foliares?

Vários estudos têm proposto que plantas adaptadas a ambientes com baixa disponibilidade de recursos investem mais fortemente em defesas estruturais ricas em C que espécies de ambientes com maior disponibilidade de recursos (Coley *et al.*, 1985; Fine *et al.*, 2004; Agrawal, 2006; Endara & Coley, 2011). Este padrão foi corroborado pelo presente estudo, visto que pares congêneros da REST, ambiente com menor disponibilidade de recursos, apresentaram significativamente maiores concentrações de defesas estruturais e químicas como C/N, FT e MFA comparativamente aos seus respectivos pares congêneros da FOD, ambiente com maior disponibilidade de recursos. Asner *et al.* (2014) também verificaram que florestas de terras baixas com menor fertilidade contêm elevadas concentrações de compostos de defesas baseados em carbono como fenóis, taninos, lignina e MFA, sendo os solos de areia branca distróficas, os que apresentaram altos níveis de defesas e menores investimentos em nutrientes. Estudos sobre herbivoria e defesas, a partir de transplantes recíprocos de mudas em solos argilosos e arenosos, revelaram que o impacto da herbivoria sobre o crescimento e sobrevivência das mudas foi muito mais forte na floresta de areia branca (Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006; Fine & Mesones, 2011). Além disso, espécies adaptadas a solos arenosos apresentaram significativamente maior investimento em defesas totais comparativamente as espécies adaptadas a solos argilosos (Fine *et al.*, 2006; Fine *et al.*, 2013). Assim, os resultados encontrados por Fine e colaboradores indicam a existência de uma forte seleção para defesas mais eficazes na floresta de areia branca (Fine *et al.*, 2004; Fine *et al.*, 2006; Fine & Mesones, 2011; Fine *et al.*, 2013), conforme observado no presente estudo.

Espécies com menores concentrações de N alocaram significativamente mais C para a produção de compostos estruturais e químicos ricos em carbono

do que aquelas com maiores concentrações de nitrogênio, visto que a razão C/N foi positivamente correlacionada com MFA e fenóis totais. Padrão similar foi observado no estudo realizado ao longo de um gradiente de fertilidade em solos do cerrado, onde foi verificado que a disponibilidade de nutrientes para *Qualea parviflora* Mart. (Vochysiaceae) determinou a produção de metabólitos especiais nesta espécie, pelo fato de que a porcentagem de taninos foi positivamente correlacionada com a razão C/N, indicando que mais C pode ser redirecionado para a produção de compostos fenólicos, como tanino (Gonçalves-Alvim *et al.*, 2010).

Plantas de restinga crescem em solos mais pobres em nutrientes comparativamente as plantas que crescem em solos mais ricos de Florestas Ombrófila Densa (Moraes & Domingos, 1997; Assis *et al.*, 2011), sendo portanto, as plantas de restingas conhecidas por apresentarem baixa qualidade nutricional do que plantas da FOD (Moraes & Domingos, 1997). Assim, o investimento na reposição de tecidos perdidos por herbivoria deve ser altamente custoso para as plantas que crescem em solos pobres em nutrientes, indicando a evolução de estratégias de eficiência de uso de nutrientes (Funk & Vitousek, 2007) e defesas mais eficaz neste tipo de solo (Fine *et al.*, 2006, Fine *et al.*, 2011; Silva & Batalha, 2011).

3.4.3 Plantas de ambientes diferentes desenvolvem diferentes síndromes de defesas?

A existência de síndromes de defesas tem sido abordada em vários estudos (Kursar & Coley 2003; Boege & Marquis, 2005; Agrawal & Fishbein, 2006; Silva & Batalha, 2011), onde a associação com interações ecológicas específicas pode resultar em convergência em conjuntos de características defensivas que covariam (Agrawal, 2006; Agrawal & Fishbein, 2006). Algumas plantas são muito atacadas por apresentarem mecanismos de escape ou defesa imperfeitos. Todavia, as plantas são capazes de recuperarem os tecidos perdidos por herbivoria, sendo estas características conhecidas como “síndrome de tolerância” (Marquis, 2012). Apesar das características de escape não terem sido mensuradas no presente estudo, o primeiro grupo de plantas da ACP1 apresentou características que sugerem a “síndrome de tolerância” por

apresentarem altas concentrações de N e teor de água, e baixas concentrações de defesas (Agrawal & Fishbein, 2006; Silva & Batalha, 2011), sendo este grupo composto majoritariamente por espécies da FOD, ambiente com maior disponibilidade de recursos, conforme proposto por Agrawal & Fishbein (2006). Cabe ressaltar que a herbivoria foi positivamente correlacionada com a concentração de N e negativamente correlacionada com C/N, sugerindo que o primeiro grupo apresenta maior tolerância a herbivoria que os demais grupos. A síndrome de tolerância também foi observada para o quarto grupo, por apresentar maior concentração de Mg e Ca e menores concentrações de defesas, sendo representada apenas por *Guapira* da REST. O terceiro grupo correspondeu à síndrome de “baixa qualidade nutricional”, com plantas apresentando alta razão C/N, juntamente com altas concentrações de defesas e baixo teor de água e nutrientes, sendo representadas principalmente pelas espécies da REST. Tais características são pouco atrativas para os insetos herbívoros devido às barreiras mecânicas, químicas e com pouca recompensa para eles (Agrawal e Fishbein, 2006; Silva & Batalha, 2011). Vale ressaltar que espécies com alta razão C/N foram menos atacadas por insetos herbívoros. O segundo grupo apresentou concentrações intermediárias de características nutricionais e defensivas, sugerindo uma combinação equilibrada de qualidade nutricional com defesas.

3.4.4. Diferenças na expressão da herbivoria e qualidade foliar estão relacionadas ao ambiente ou filogenia?

A variação interespecífica dos valores de herbivoria, C/N, N/P e MFA pode ser atribuída significativamente as diferenças observadas entre os tipos funcionais. Tais resultados sugerem que as diferenças nos parâmetros mencionados entre FOD e REST evoluíram em resposta as diferentes pressões seletivas as quais as espécies foram submetidas em seus respectivos ambientes. Os parâmetros de qualidade foliar podem ter sido selecionados por fatores abióticos, os quais incluem luz, nutrientes e água que diferem entre FOD e REST, conforme observado em outros estudos (Rossatto *et al.*, 2009, Silva & Batalha, 2011; Rossatto *et al.*, 2013). Estes parâmetros de qualidade foliar podem ter contribuído também como uma vantagem adaptativa

das espécies da FOD e da REST na pressão por herbivoria, onde espécies da FOD, que apresentaram maiores porcentagens de herbivoria e N/P, estão mais adaptadas a tolerar a herbivoria, enquanto que as espécies da REST, que apresentaram menores valores de herbivoria e maiores valores de MFA, razão C/N e FT, estão mais adaptadas a se defenderem dos insetos herbívoros, conforme sugerido em vários estudos (Coley *et al.*, 1985; Fine *et al.*, 2004; Agrawal, 2006; Fine *et al.*, 2006; Endara & Coley, 2011; Fine & Mesones, 2011; Fine *et al.*, 2013). Vale destacar que foram observados diferentes síndromes de defesas nas FOD e REST.

Nos estudos de Silva e Batalha (2011) não foram encontrados sinal filogenéticos nos atributos foliares analisados e a filogenia não determinou o conjunto de características entre as espécies no cerrado. Apesar das análises de sinal filogenético não terem sido medidas no presente estudo, os resultados observados para Mg sugerem um efeito apenas da filogenia, com a filogenia explicando as diferenças interespecíficas observadas, indicando um forte conservadorismo filogenético. O efeito do sinal filogenético para Mg também foi observado nos estudos de Marquis *et al.* (2012), ao testar a hipótese de que as espécies arbóreas de baixas latitudes são mais defendidas do que em alta das latitudes. Outros estudos também verificaram que filogenia teve um efeito mais forte do que o tipo ambiental na determinação do intervalo de variação em várias características relacionadas ao equilíbrio de água e nutrientes foliar, sugerindo que tais características operam independentemente das respostas das comunidades aos filtros ambientais como características dos solos, grau de elevação do relevo e clima (Rossatto *et al.*, 2009; Rossatto *et al.*, 2013; Asner *et al.*, (2014). Neste sentido, a variação nos valores de Mg entre as espécies da FOD e REST parece ser um produto da história evolutiva de cada gênero e não o resultado de uma especialização ambiental, como também sugerido Rossatto *et al.*, (2009) ao estudar características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria.

Gênero e tipo ambiental explicaram as variações interespecíficas para N, C/P, AF e TA, sugerindo que embora possa haver um forte conservadorismo filogenético, os ambientes (FOD e REST) impõem diferentes pressões seletivas sobre as características que influenciam os parâmetros analisados. Entre as espécies coocorrentes nas duas áreas (FOD e REST), *Byrsonima sericea* e

Tapirira guianensis, foi observado que a herbivoria foi semelhante (*B. sericea*) ou diferiu significativamente entre as áreas (*T. guianensis*), sendo maior para os indivíduos da FOD. O ambiente de REST pode impor forte pressão para a seleção de espécies com um conjunto de atributos foliares que contribuem para uma economia de água em relação ao C por exemplo, devido a menor disponibilidade de água e nutrientes no solo (Moraes & Domingos, 1997; Assis *et al.*, 2011; Thomazi *et al.*, 2013). Todavia, a FOD pode permitir menor número de espécies que usam a água de maneira eficiente, devido as melhores condições climática, de nutrientes e água no solo, conforme também já mencionado por Rossatto *et al.* (2013) ao analisarem a variação do $\delta^{13}\text{C}$ entre espécies de floresta e cerrado.

3.5 Conclusões

Em síntese, os resultados indicam que as médias de herbivoria foliar encontradas para as espécies da FOD e REST estão dentro da variação observada para espécies arbóreas de florestas tropicais. A partir das hipóteses formuladas, foram observados: 1) ocorrência de diferença na herbivoria entre FOD e REST, com as espécies da FOD apresentando maiores valores de herbivoria em função da melhor qualidade foliar comparativamente as espécies da REST, corroborando a hipótese testada; 2) espécies da REST investem fortemente em defesas estruturais e químicas, corroborando a hipótese de que o ambiente influencia na expressão das defesas; 3) plantas de ambientes distintos desenvolveram diferentes síndromes de defesas (“síndrome de tolerância” e “síndrome de baixa qualidade nutricional”), corroborando parcialmente a hipótese, visto que um grupo da FOD apresentou características intermediárias entre “síndrome de tolerância” e “síndrome de baixa qualidade nutricional”; e 4) que o ambiente e não a filogenia explicou mais a variação interespecífica entre pares congêneros de espécies, corroborando a hipótese formulada, visto que para maioria dos traços funcionais mais variância foi explicada pelo ambiente do que pela filogenia.

CAPÍTULO IV. PERFIL ECOMETABOLÔMICO DE PARES CONGENÉRICOS DE PLANTAS DE DOIS AMBIENTES EDAFICAMENTE DISTINTOS DA MATA ATLÂNTICA

4.1 Introdução

A metabolômica é um termo empregado para designar um conjunto de dados qualitativos e/ou quantitativos sobre todos os metabólitos produzidos ou modificados (metaboloma ou perfil bioquímico) de uma determinada matriz de origem biológica (Villas Bôas & Gombert, 2006; Funari *et al.*, 2013). Esta técnica fornece resposta em nível metabólico em circunstâncias ambientais particulares (Sardans *et al.*, 2011), sendo muito utilizada em estudos ecológicos e genéticos, envolvendo o entendimento das respostas dos organismos ao estresse induzidos por agentes abióticos (luz, temperatura, umidade, etc.), bióticos (patógenos, herbívoros, etc.) e químicos (fármacos e agroquímicos) (Bundy *et al.*, 2009; Sardans *et al.*, 2011; 2013; Brunetti *et al.*, 2013; Rivas-Ubach *et al.*, 2016). Neste sentido, a possibilidade da utilização de técnicas metabolômicas em estudos ecológicos e ecofisiológicos (também conhecido como Ecometabolômica) têm contribuído para o avanço do conhecimento sobre a estrutura e função dos organismos e dos ecossistemas (Peñuelas & Sardans, 2009; Sardans *et al.*, 2011, 2013; Rivas-Ubach *et al.*, 2016).

Os estudos metabolômicos são feitos a partir de comparações dos perfis metabólicos obtidos de diferentes amostras. O termo “perfil metabólico” refere-se a um conjunto de sinais cromatográficos e/ou espectroscópicos provenientes de uma amostra de qualquer organismo ou fluidos dele (urina, sangue, plasma entre outros). Este perfil é obtido por meio de métodos analíticos, os quais evidenciam todas as características químicas específicas a determinados padrões funcionais e estruturais das classes de substâncias químicas estudadas. Tais informações são interpretadas e devem representar todos os metabólitos detectáveis e presentes na amostra em estudo. Assim, o perfil metabólico característico de uma amostra é chamado também de impressão digital (Villas-Bôas & Gombert, 2006; Brunetti *et al.*, 2013; Funari *et al.*, 2013). As técnicas de “*fingerprint*” visam à identificação de padrões gerais

no metabolismo de qualquer organismo e compreende principalmente a análise de metabólitos em uma mistura complexa (Brunetti *et al.*, 2013).

Estima-se que a quantidade de metabólitos em plantas varia entre 100.000 e 200.000. Assim sendo, nenhum método analítico ou combinação de métodos, como por exemplo, cromatografia combinada com espectroscopia, podem detectar todos os metabólitos em uma determinada amostra biológica (Sardans *et al.*, 2011). As espectroscopias de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia na região do ultravioleta–visível (UV-VIS) e espectrometria de massas (EM) são consideradas as principais metodologias para a identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas (Lopes & Fascio, 2004).

A espectroscopia na região do infravermelho, por exemplo, fornece informações sobre a presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular (Canellas & Rumjanek, 2005; Barbosa, 2007). O método analítico RMN é um dos procedimentos com melhor capacidade para determinar um conjunto mais abrangente de metabólitos (Sardans *et al.*, 2011), onde a RMN H^1 gera impressões digitais metabólicas com boa especificidade química para compostos contendo elementos com um momento magnético diferente de zero (Sumner *et al.*, 2003).

A partir de estudos do perfil metabólico ou perfil químico de uma dada família botânica, é possível verificar que espécies taxonomicamente próximas tendem a produzir metabólitos pertencentes a uma mesma classe ou com características químicas semelhantes (Gottlieb *et al.*, 1998; Agrawal, 2006). Dentro deste contexto, um dos principais desafios nos estudos de interações entre insetos e plantas, atualmente, é verificar se a diversidade de compostos defensivos de plantas é influenciada principalmente por interações coevolutivas entre estes organismos ou por processos macroevolutivos (Marquis *et al.*, 2012; Carrillo-Gavilán *et al.*, 2015; Endara *et al.*, 2015; Rivas-Ubach *et al.*, 2016).

Como exemplo, podem ser citadas espécies de *Pinus* do Neártico (América do Norte) e do Paleártico (Norte da Eurásia), cujas concentrações de defesas constitutivas estavam mais relacionadas à história macroevolutiva das

plantas que à coevolução entre insetos herbívoros e plantas, sugerindo a convergência evolutiva destas características de plantas estreitamente relacionadas filogeneticamente (Carrillo-Gavilán *et al.*, 2015). Todavia, a coevolução entre plantas e seus herbívoros associados tem produzido um arsenal de defesas de plantas, e cada combinação de defesas é susceptível a um pequeno subconjunto de herbívoros especializados e adaptados (Trigo *et al.*, 2012; Coley & Kursar, 2014).

Neste sentido, os insetos herbívoros são reconhecidos por desempenharem um papel importante na diversificação de características defesas e na especiação em plantas, podendo influenciar na evolução divergente de metabólitos de defesas de plantas estreitamente relacionadas, conforme verificado em vários estudos como os de Kursar *et al.* (2009), Fine *et al.* (2013), Coley e Kursar (2014) e Endara *et al.* (2015). Porém, Rivas-Ubach *et al.* (2016), ao estudar a estequiometria e metaboloma total de três espécies filogeneticamente relacionadas (*Pinus pinaster*, *P. nigra* e *P. sylvestris*), verificaram que variações metabólicas entre as espécies de pinheiros e as respostas ao ataque por *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera) refletiram suas relações macroevolucionárias, com *P. pinaster* apresentando o metaboloma mais divergente. Os referidos autores verificaram também uma tendência de maiores concentrações de terpenos em árvores não atacadas, apoiando a hipótese de que os herbívoros evitam plantas com maiores concentrações desde composto. Assim, estes autores sugerem que combinações de diferentes fatores evolutivos e alocação de recurso para defesas ou para crescimento podem ser responsáveis pelas diferentes respostas de cada espécie a herbivoria, não estando exclusivamente ligada à coevolução entre planta e inseto.

Mudanças no metabolismo de plantas podem ocorrer também devido a fatores ambientais, afetando muito mais que variações genéticas (Robinson *et al.*, 2007; Brunetti *et al.*, 2013). Estas diferenças metabólicas podem ocorrer de acordo com produtividade do ambiente, sazonalidade climática, estresse ambiental (temperatura, radiação solar e seca) entre outros (Castro *et al.*, 2004; Gobbo-Neto & Lopes, 2007; Robinson *et al.*, 2007; Rivas-Ubach *et al.*, 2013; Rivas-Ubach *et al.*, 2012; Sampaio *et al.*, 2016). Estudo de experimentação com populações de *Polygonum minus* (Polygonaceae) de diferentes ambientes

(montanhosos e de planície) revelou que o tratamento com temperatura mais alta resultou em sinais de carboidratos, terpenos, amida e flavonoides mais aparente em populações de montanhas (Khairudin *et al.*, 2014). Estudos realizados em populações de *Protium subserratum* (Burseraceae) de dois tipos de solos (arenosos e argilosos) da Amazônia revelaram que as populações de solos arenosos apresentaram maior quantidade de metabólitos especiais totais (e.g. flavonoides e terpenos) enquanto que as populações de terra firme (solo argiloso) produziram um derivado de ácido quínico, o qual estava ausente nas populações de areia branca (Fine *et al.*, 2013). Nas análises de perfil químico de *Tithonia diversifolia* (Helms.), amostradas em dois ambientes tropicais distintos do Brasil, foi encontrado um padrão sazonal para a ocorrência de metabólitos que incluíram açúcares, sesquiterpenos lactonas e fenólicos nas partes foliares e de caule, relacionada com a quantidade de chuvas e mudanças de temperatura (Sampaio *et al.*, 2016).

Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi descrever e comparar a diversidade química, por meio da análise do perfil metabolômico de pares congênicos de plantas estudadas, em dois ambientes contrastantes de Mata Atlântica, representados pela Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST). Neste sentido foi testada a seguinte hipótese: uma forte variação no perfil químico dos pares congênicos estudados é esperada entre os ambientes contrastantes, visto que vários fatores que influenciam na produção de metabólitos especiais como: temperatura, radiação, disponibilidade de recursos diferem entre estes ambientes.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em duas formações florestais de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, sob diferentes condições edafoclimáticas: Floresta Ombrófila Densa (FOD) na Reserva Biológica (ReBio) União em Rio das Ostras (22°27'30"S e 42°02'15"O), e restinga (REST) na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara em São João da Barra (21°44'S; 41°02'O) (vide capítulo 2 para maiores detalhes das áreas de estudo).

4.2.2 Gêneros de plantas estudados e seus perfis químicos

Neste estudo foram amostrados folhas de 10 pares congenéricos de plantas coocorrentes na FOD e REST pertencentes a diferentes famílias (vide capítulo 3 para maiores detalhes das espécies estudadas e suas relações filogenéticas).

A partir de um levantamento de dados disponíveis na literatura atualizado até abril de 2017, foi verificada a presença de várias classes de substâncias isoladas de folhas de espécies dos gêneros aqui incluídos, indicando as tendências em termos biossintéticos de produção de classes de metabólitos característicos para cada gênero (Fig. 4.1; Anexo 1). Gêneros como *Eugenia*, *Inga*, *Annona* e *Ficus* são os que apresentam maior quantidade de espécies com estudos dos metabólitos foliares isolados. O gênero *Eugenia* é bem diverso, contendo mais de 500 espécies de plantas (The Plant List, 2017), com cerca de 370 ocorrendo no Brasil (Flora do Brasil, 2017). Estudos sobre a composição química de folhas de espécies de *Eugenia* evidenciam o isolamento de vários flavonoides, taninos, além de compostos como terpenos e óleos essenciais (Mohammed *et al.*, 2015; Zatelli, 2015; Costa *et al.*, 2016). O gênero *Inga* contém cerca de 390 espécies descritas no mundo (The Plant List, 2017), com 131 espécies ocorrendo no Brasil (Flora do Brasil, 2017). Compostos fenólicos como flavonoides, taninos, aminoácidos não proteicos e terpenos foram isoladas de espécies de *Inga* (Coley *et al.*, 2005, Souza *et al.*, 2007; Tchienmogne *et al.*, 2013; Furtado, 2014), sendo compostos fenólicos isolados de várias espécies deste gênero por Kursar *et al.* (2009). O gênero *Annona* apresenta cerca de 170 espécies no mundo (The Plant List, 2017) e 80 para o Brasil (Flora do Brasil, 2017). A composição química para a *Annona* é bem conhecida, revelando a presença de compostos isolados de principalmente, terpenos, alcaloides, acetogeninas e flavonoides (Vega *et al.*, 2007; Rabelo, 2014). O gênero *Ficus* é altamente diverso, compreendendo cerca de 500 espécies na região entre Ásia e Austrália. Este número é diferente dos números observados para África e Neotrópicos, os quais apresentam em torno de 110 e 130 espécies, respectivamente (Badgujar *et al.*, 2014). No Brasil ocorrem 80 espécies de *Ficus* (Flora do Brasil, 2017), sendo *Ficus carica* a espécie mais estudada quimicamente (Badgujar *et al.*, 2014).

Nos estudos de isolamento de substâncias químicas foliares de espécies de *Ficus* foram relatadas a presença de compostos fenólicos como cumarinas e flavonoides, e terpenos como metabólitos majoritários (Greenham *et al.*, 2007; Omar *et al.*, 2011; Choo *et al.*, 2012, Badgujar *et al.*, 2014).

Gêneros como *Byrsonima*, *Miconia* e *Cecropia*, são poucos estudados, com o número de espécies de plantas, cujas folhas foram estudadas fitoquimicamente, variando de 5 a 10 espécies (Fig. 4.1). O gênero *Byrsonima* compreende 157 espécies no mundo (The Plant List, 2017), sendo 94 espécies distribuídas em ecossistemas brasileiros (Flora do Brasil, 2017). Espécies de *Byrsonima* apresentam principalmente compostos fenólicos em seus tecidos foliares, seguido de terpenos e aminoácidos não proteico (Guilhon-Simplicio & Pereira, 2011; Rodrigues *et al.*, 2012; Verdam *et al.*, 2017). Dentro dos 10 gêneros do presente estudo, *Miconia* é considerada a mais diversa, compreendendo em torno de 900 espécies descrita no mundo e 282 espécies para o Brasil. Embora haja pouco estudos, compostos fenólicos têm sido majoritários (Rodrigues *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2011) neste gênero, seguido de terpenos (Chan *et al.*, 1992; Diniz *et al.*, 2006). O gênero *Cecropia* apresenta apenas 66 espécies descritas no mundo (The Plant List, 2017), sendo 20 destas ocorrendo no Brasil (Flora do Brasil, 2017). Das poucas espécies de *Cecropia* investigadas fitoquimicamente, foi verificada a presença de compostos fenólicos e terpenos em folhas.

Os gêneros *Guapira*, *Cupania*, e *Tapirira* também são pouco diversos no mundo com cerca de 70, 60 e 10 espécies descritas, respectivamente (The Plant List, 2017). Para o Brasil, ocorrem 12 espécies de *Guapira*, 32 espécies de *Cupania* e três espécies de *Tapirira* (Flora do Brasil, 2017). Há uma escassez de estudos fitoquímicos realizados em folhas de espécies destes gêneros (Fig. 4.1). Para *Guapira* foram isolados compostos fenólicos, representados principalmente por flavonoides, seguido de saponinas e terpenos. *Cupania*, por exemplo, foi isolado apenas um tipo de terpeno em folhas de *Cupania latifolia* (Sakane *et al.*, 2005). Os demais escassos estudos foram realizados em cascas, sementes e caule de *Cupania*, sendo isolados somente terpenos (Mustafa *et al.*, 1986; Cavalcanti *et al.*, 2001; Hernández-Chávez *et al.*, 2012). Para *Tapirira* há somente estudos sobre substâncias isoladas em folhas de *Tapirira guianensis*, apresentando principalmente

terpenos, seguido de compostos fenólicos (Correia *et al.*, 2008; Zoghbi *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.*, 2017).

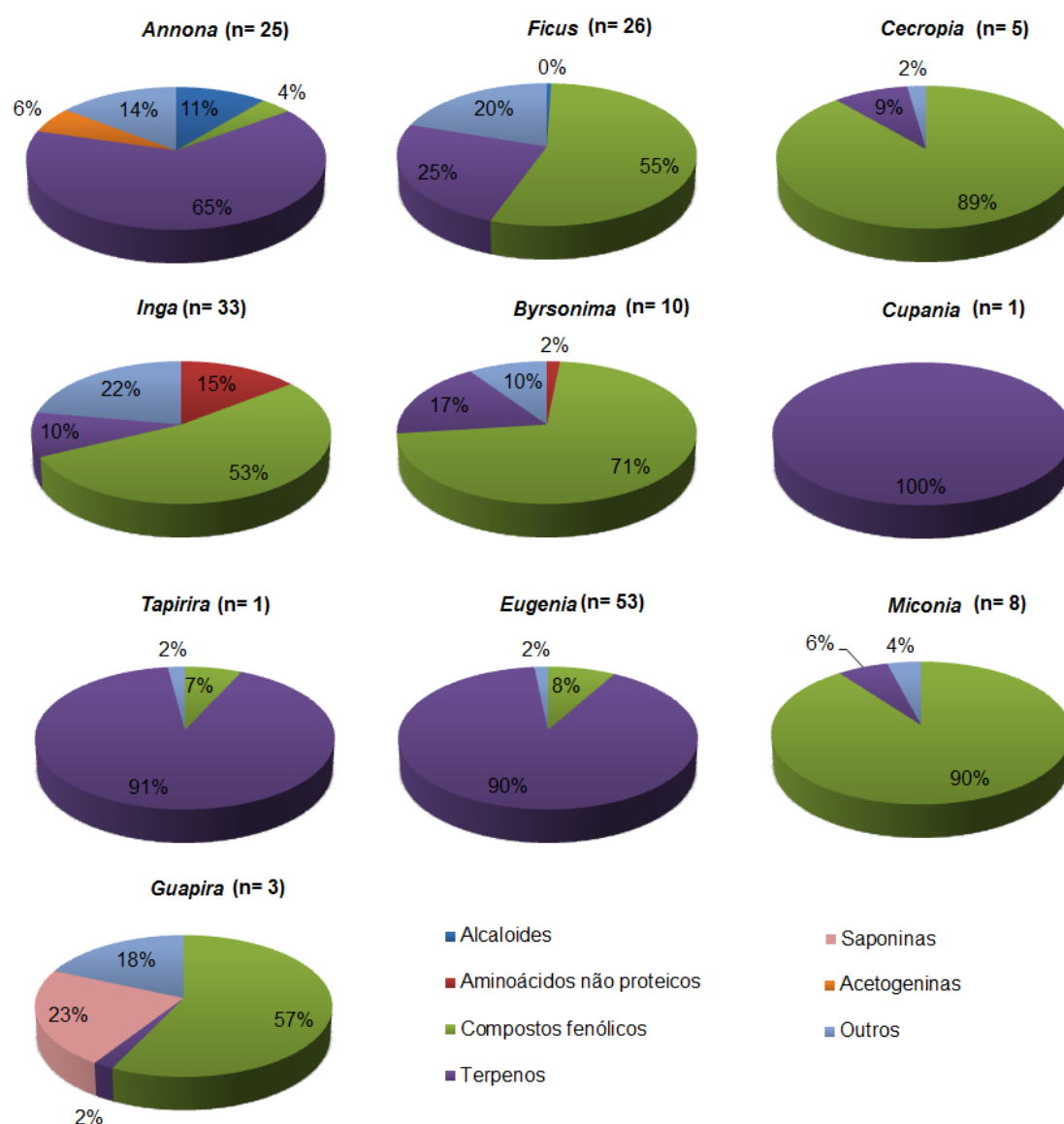


Figura 4. 1. Distribuição das classes de metabólitos especiais (%) presentes em folhas dos gêneros utilizados no presente estudo a partir de levantamento bibliográfico realizado até abril de 2017. n= número de espécies com metabólitos químicos isolados. *Dados compilados a partir de trabalhos citados no Anexo 1.

4.2.3 Amostragem e preparação dos extratos brutos por maceração

Para a realização de testes químicos e análise do metaboloma foram coletadas em torno de 300 g de folhas maduras (peso úmido) por espécie nos dois tipos florestais por meio de coletas realizadas no final da estação chuvosa (maio/2013) e no final da estação seca (setembro/2013), totalizando 40 amostras. A secagem do material foi feita em estufa de circulação a 40 °C, sendo posteriormente, moído em moinho de facas e em seguida determinado o peso resultante, o qual foi cerca de 100 a 150g por espécie para cada área e estação. O material seco e moído foi submetido à maceração a frio, em temperatura ambiente, utilizando o sistema EtOH / H₂O (9:1) como solvente, por quatro semanas. A solução obtida foi destilada a pressão reduzida em evaporador rotativo para concentração da mesma, obtendo-se assim os extratos brutos. Os extratos foram transferidos para frascos previamente pesados, e mantidos em capela de exaustão por, no mínimo, 48h ou até a secura. Esse procedimento forneceu o extrato bruto de cada espécie. Os valores de massas obtidos para as análises químicas foram pesadas em uma balança analítica com precisão de seis casas decimais.

4.2.4 Análise do perfil químico

Para obtenção de um perfil químico os extratos foram submetidos a testes qualitativos para detecção de alcaloides, esteroides, triterpenoides, flavonoides e saponinas. Um perfil de atividade antioxidante destes extratos também foi obtido por reação com DPPH (Difenilpicrilhidrazil) em cromatografia de camada delgada analítica para confirmar a presença de substâncias capazes de reduzir radicais livres. Análises quantitativas de fenóis totais também foram realizadas. Para análise metabolômica foram obtidos espectros de Infravermelho (IV) e de RMN ¹H dos referidos extratos.

Teste para detecção de alcaloides (Dragendorff)

Uma alíquota de 10 miligramas de cada um dos extratos foram solubilizados em 4 mL de HCl 1% (v/v) contidos em tubos de ensaio. Em

seguida, filtrou-se, e cada solução aquosa ácida foi separada em duas porções de 2 mL em tubos de ensaio diferentes. Posteriormente, em cada uma das porções de 2 mL foram adicionadas cinco gotas do reagente de precipitação de alcaloides Dragendorff e 5 gotas do reagente Mayer nas outras porções (Mattos, 1997). A presença de precipitado vermelho nas soluções com o reagente de Dragendorff indicou a presença de alcaloides.

Teste para detecção de esteroides e triterpenoides (Liebermann-Burchard)

Uma alíquota de 10 miligramas dos extratos estudados foi dissolvido em 1 mL de clorofórmio contidos nos tubos de ensaio. Cada solução clorofórmica foi filtrada e posteriormente, adicionado 2 ml de anidrido acético. Cada tubo foi agitado suavemente e, pelas paredes destes, adicionou-se cuidadosamente 1 mL de H₂SO₄ concentrado e tornou-se agitar suavemente a mistura obtida. Observou-se uma rápida mudança de cores. Para a presença de esteroides observou-se a coloração azul seguida de verde permanente e para a presença de triterpenoides observou-se e uma coloração parda até vermelha (Matos, 1997).

Teste para detecção de saponinas

Solubilizou-se 10 miligramas de cada extrato em 2 mL de clorofórmio e separou-se a parte solúvel (utilizada na metodologia de teste de esteróides e triterpenoides) e a parte insolúvel neste solvente orgânico. A parte insolúvel de cada amostra foi dissolvida em 10 mL de água destilada e filtrada para um tubo de ensaio. Agitou-se cada tubo contendo o filtrado fortemente por 2 a 3 minutos e observou-se a formação de espuma. A presença de espuma persistente e abundante confirmou a presença de saponinas (heterósides saponínicos) (Matos, 1997).

Teste para detecção de flavonoides

Solubilizou-se 10 miligramas dos extratos em volumes de metanol iguais a 3 mL, contidos em cada tubo. Depois de filtrados, foram adicionados 1 mL de

ácido clorídrico concentrado em cada tubo. Em cada tubo foram adicionados 1 cm de fita de magnésio e aguardou-se até cessar a reação. O surgimento de uma coloração rosada indicou reação positiva para flavonoides.

Teste de atividade antioxidante

Para os testes de atividades antioxidantes, 50 mg de cada extrato foram solubilizados em 2mL de metanol. Com auxílio de um capilar, os extratos foram depositados em placa de cromatografia em camada delgada (sílica gel). Em seguida, realizou-se a separação utilizando-se o sistema de solvente MeOH / CHCl₃ (7:3). Após a secagem, vaporizou-se a placa cromatográfica com uma solução metanólica de 2 mg/mL de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) (Hostettmann *et al.*, 2003). As atividades antirradicais apareceram na forma de manchas amareladas sobre fundo violeta.

Quantificação de fenóis totais (vide capítulo III)

Espectroscopia na região do infravermelho

Interações da radiação infravermelha (IV) com moléculas orgânicas causam alterações em modos vibracionais e rotacionais das moléculas, sendo estas alterações detectadas por espectroscopia de infravermelho, possibilitando a verificação da presença de grupos funcionais nas amostras de interesse. A faixa denominada infravermelho corresponde à região do espectro eletromagnético situada na faixa de número de ondas entre 14290 e 200 cm⁻¹, onde a região mais utilizada pelos químicos orgânicos está situada entre 4000-400 cm⁻¹, conhecida como infravermelho médio. A região conhecida como infravermelho próximo, compreendida entre 1429 a 4000 têm sido muito utilizada para análises quantitativas de amostras com matrizes complexas (Barbosa, 2007).

De acordo com Barbosa (2007), a análise de um espectro no infravermelho médio pode ser dividida em três regiões: a região entre 4000 a 1300 cm⁻¹ (região 1), de 1300 a 900 cm⁻¹ (região 2) e de 900 a 500 cm⁻¹ (região 3). A primeira região compreende a dos grupos funcionais, a região 2

apresenta muitas bandas provenientes de modos vibracionais acoplados e vibrações referentes ao esqueleto de carbono das moléculas, sendo denominada região de *impressão digital*, servindo para confirmar a identidade determinados compostos. Na região 3 apresenta bandas fortes para compostos aromáticos, heteroátomos e alquenos. As regiões entre 400-800 correspondem a deformações vibracionais referentes aos estiramentos de grupos funcionais que absorvem nos comprimentos de ondas de 1000 a 4000.

Para o preparo de amostras para análise por espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF) foram utilizadas 10 mg de cada extrato. Estas amostras foram misturadas a 9 mg de brometo de potássio (KBr) em pó e maceradas. As análises foram feitas utilizando-se 40 varreduras com registro dos sinais compreendidos entre as frequências que variam de 400 a 4000 cm^{-1} , sendo os dados corrigidos a linha de base (Khairudin *et al.*, 2014) para as análises descritivas dos resultados.

Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

A Ressonância Magnética nuclear é uma técnica espectroscópica muito utilizada no estudo de aspectos estruturais e dinâmicos de moléculas orgânicas em solução para elucidar a estrutura de compostos orgânicos, sendo geralmente metabólitos especiais (Kaiser, 2000). Esta técnica tem sido muito utilizada também na aquisição dos dados para análise metabolômica (Baddini *et al.*, 2014).

Para as análises por espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H), 50 mg de cada extrato foram dissolvidos em 600 μL do solvente deuterado dimetilsulfóxido (DMSO- d_6), sendo em seguida filtrados e transferidos para tubos de RMN de 7" e 5 mm de diâmetro. Os extratos foram analisados em espectrômetro Bruker Ascend 500 (500 e 125 MHz- (Bruker, Karlsruhe, Germany) do Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Todos os espectros obtidos tiveram sua acumulação padronizada em 512 *scans*, sendo referenciados a TMS (TetraMetilSilano) em 0,0 ppm e com supressão de sinais de água e DMSO.

Os dados foram pré-processados utilizando o *software* ACD/Lab (versão 12.01) para obter regiões com intervalos de 0.05 ppm. O método de pré-

saturação foi utilizado para suprimir o sinal de solvente (DMSO) durante a aquisição espectros. A fase e a linha de base dos espectros foram corrigidas manualmente. As áreas dos sinais de RMN foram integradas em faixas preestabelecidas utilizando-se o referido *software*. As faixas de integração escolhidas compreenderam as seguintes regiões: H de alifáticos (0-2.0 ppm), H de acetoxilas e metoxilas (2.0-2.5 ppm), H de açúcares (2.5-5.0 ppm), H de oleofínicos (5.0-6.0 ppm), H de aromáticos (6.0-8.5 ppm) e H de aldeídos e/ou hidrogênios anéis aromáticos heterocíclicos (8.5-10 ppm). A região espectral entre δ 2.49 e 2.53 ppm foi excluída para eliminar a interferência de possíveis sinais de DMSO que poderiam interferir na interpretação dos dados.

A partir dos espectros de RMN ^1H pode ser sugerido à presença de metabólitos especiais de acordo com as características dos hidrogênios alifáticos (saturados ou insaturados) e aromáticos. Tais características, juntamente com os dados de IV e em conjunto com dados da literatura para a fitoquímica das famílias/gêneros das plantas estudadas, podem indicar a presença de classes de compostos como flavonoides, alcaloides, terpenos, entre outros. A presença destes metabólitos também foi investigada por meio de testes fitoquímicos realizados. Todas as análises e procedimentos químicos foram realizados no Laboratório de Ciências Química (LCQUI) do Centro de Ciência e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF).

4.2.5 Análises de dados

Os dados processados e integrados dos espectros de RMN ^1H foram posteriormente exportados como tabelas para uma planilha de Excel® e a matriz obtida contendo as amostras (espectros) dispostas em linhas e as variáveis (deslocamento químico) em colunas. Estes dados foram submetidos à análise de componentes principais (ACP) para auxiliar na identificação dos grupos químicos dos extratos analisados. Na ACP foram selecionadas as variáveis de maior peso (*loadings*) na combinação linear dos primeiros componentes principais, que são os mais importantes do ponto de vista estatístico. Para estas análises foram utilizados os valores transformados (Arcoseno (x)) para a normalização dos dados e todas as variáveis foram

padronizadas pela amplitude para que recebessem aproximadamente o mesmo peso na análise. Posteriormente, as escores das espécies nos eixos 1 e 2, os quais representaram seu “nicho químico” foram correlacionadas com os valores de herbivoria de cada espécie, utilizando a correlação de Pearson. Todas as análises estatísticas foram feitas no *software Statistica 7.0* (STATSOFT, 2004).

4.3 Resultados

4.3.1 Análises fitoquímicas

A partir dos testes fitoquímicos qualitativos realizados foi possível constatar a presença de metabólitos especiais como alcaloides, esteroides, triterpenos, saponinas e flavonoides em extratos brutos de folhas dos pares congêneros amostrados na FOD e REST nas estações chuvosa e seca. Além disso, a quantificação de fenóis totais foi realizada, sendo a presença de compostos fenólicos confirmados por meio do teste de atividade antioxidante.

Dos 10 pares congêneros estudados, foram detectados resultados positivo para alcaloides em quatro gêneros amostrados tanto na FOD como na REST (*Annona*, *Inga*, *Byrsonima* e *Guapira*). A presença de alcaloide foi também detectada para *Tapirira* da REST amostrada na estação seca e para *Miconia* da FOD amostrada na estação chuvosa (Tab. 4.1).

Resultados positivos para a detecção de esteroides foram observados para *Annona* de ambas as áreas e estações, e para quatro gêneros amostrados na FOD das duas estações (*Cecropia*, *Byrsonima*, *Cupania* e *Tapirira*). Esteroides também foram detectados em *Inga* e *Miconia* da REST amostradas na estação seca (Tab. 4.1).

Triterpenoides foram detectados em cinco pares congêneros (*Ficus*, *Inga*, *Eugenia*, *Miconia* e *Guapira*) amostrados na FOD e REST, e em quatro gêneros amostrados na REST (*Cecropia*, *Byrsonima*, *Cupania* e *Tapirira*). Com exceção de *Miconia* da FOD, os testes para saponinas foram positivos para todos os pares congêneros amostrados nas duas áreas. Entretanto, em alguns casos o resultado positivo foi duvidoso (Tab. 4.1), visto que a formação de espuma (característico da presença de saponinas) desapareceu rapidamente.

Nas análises de compostos fenólicos, os flavonoides foram detectados em três pares congêneros coocorrentes nas duas áreas em ambas as estações (*Cecropia*, *Byrsonima* e *Tapirira*). Além disso, a presença de flavonoides foi observada em três gêneros da REST (*Ficus*, *Eugenia* e *Miconia*) e em apenas um gênero da FOD (*Annona*) (Tab. 4.1). De modo geral, os valores de fenóis totais foram maiores para os pares congêneros amostrados na REST, com exceção de *Annona* de ambas as estações e *Guapira* da estação seca, que apresentaram maiores valores de fenóis totais para a FOD. Os testes de atividades antioxidantes revelaram resultados negativos para alguns gêneros amostrados na estação chuvosa como *Ficus*, *Inga*, *Cupania* e *Miconia* da FOD e *Guapira* de ambos ambientes (FOD e REST) (Tab. 4.1).

Tabela 4. 1. Triagem fitoquímica comparativa dos extratos de folhas dos gêneros de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST). Al= alcaloides, ES= esteroides, TR= triterpenoides, SA= saponinas, FL= flavonoides, FT= fenóis totais expresso em mg de EAG/g de extrato, AO= atividade antioxidante. 1^a= Estação chuvosa e 2^a= Estação seca.

Área	Gênero	AL		ES		TR		SA		FL		FT		AO	
		1 ^a	2 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a	2 ^a	1 ^a	2 ^a
FOD	<i>Annona</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	22,6	15,9	+	+
REST	<i>Annona</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	15,6	11,6	+	+
FOD	<i>Ficus</i>	-	-	-	-	+	+	D	+	-	-	4,3	2,5	-	+
REST	<i>Ficus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	39,3	17,0	+	+
FOD	<i>Cecropia</i>	-	-	+	+	-	-	D	+	+	+	22,1	6,5	+	+
REST	<i>Cecropia</i>	-	-	-	-	+	+	+	D	+	+	14,2	12,6	+	+
FOD	<i>Inga</i>	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	8,0	10,2	-	+
REST	<i>Inga</i>	+	+	-	+	+	-	+	D	-	-	20,5	17,9	+	+
FOD	<i>Byrsonima</i>	+	+	+	+	-	-	D	+	+	+	29,1	16,8	+	+
REST	<i>Byrsonima</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	41,2	40,5	+	+
FOD	<i>Cupania</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	2,7	4,3	-	+
REST	<i>Cupania</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	14,6	13,0	+	+
FOD	<i>Tapirira</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	16,9	20,9	+	+
REST	<i>Tapirira</i>	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	26,7	27,3	+	+
FOD	<i>Eugenia</i>	-	-	-	-	+	+	D	+	-	-	8,2	6,0	+	+
REST	<i>Eugenia</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	32,4	16,6	+	+
FOD	<i>Miconia</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	3,4	6,4	-	+
REST	<i>Miconia</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	30,9	27,4	+	+
FOD	<i>Guapira</i>	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	2,5	7,2	-	+
REST	<i>Guapira</i>	+	+	-	-	+	+	D	D	-	-	4,3	4,1	-	+

Os sinais (+) e (-) indicam presença ou ausência da classe de substância investigada. D= resultado positivo duvidoso.

4.3.2 Espectros de Infravermelho

Tanto os extratos brutos da FOD quanto os da REST, em geral, apresentaram intensas absorvâncias nos números de ondas que compreenderam as regiões de 3.600-3.200, 3100-3000, 2.950-2800, 1850-1650, 1625-1440, e 1400-1.000cm⁻¹. Apesar das características comuns compartilhadas entres os espectros dos pares congenéricos, foram observadas, principalmente, intensidades distintas dos picos proeminentes

entre eles. Em alguns casos, houve também diferenças no perfil apresentado sugerindo grupos funcionais diversos. Bandas entre $3.600-3.200\text{ cm}^{-1}$ compreendem a absorção de hidroxilas e ligações de NH de amina e amida. Bandas de $3100-3000\text{ cm}^{-1}$ compreendem a ligações de alquenos e aromáticos, sendo observadas também bandas entre $1000-650\text{ cm}^{-1}$. O estiramento de ligações C-H ocorre na faixa de absorção de $2.950-2.800\text{ cm}^{-1}$, indicando a presença de CH, CH₂ e CH₃ de compostos alifáticos.

Nos espectros obtidos para *Annona* amostrada nas duas áreas (FOD e REST) e estações (chuvosa e seca) foram observados a presença de bandas intensas nos comprimentos de onda $2.950-2.800\text{ cm}^{-1}$, denotando a presença de grupos alifáticos principalmente para *Annona* da REST. Também foram observadas bandas entre $1700-1600\text{ cm}^{-1}$ correspondentes à presença de compostos carbonílicos destacando uma maior área para essas bandas em amostras obtidas de *Annona* na REST em ambas as estações, sugerindo maior diversidade destes grupos na referida área. Em todos os espectros de *Annona* foram observadas bandas referentes a compostos aromáticos em torno de 1.500 , havendo uma alteração considerável apenas na estação seca, sugerindo maior quantidade de compostos químicos aromáticos para *Annona* da FOD comparativamente a *Annona* da REST. Bandas referentes à álcoois ou fenóis também foram observadas em torno de $1400-1000\text{ cm}^{-1}$, havendo maior concentração destes grupos funcionais para *Annona* da FOD amostrada na estação seca. Todavia, foi observada em 1076 cm^{-1} , a presença de OH em maior quantidade para *Annona* da REST (Tab. 4.2; Tab. 4.3; Anexo 3).

Os espectros para o gênero *Ficus* mostraram perfis diferentes entre FOD e REST em várias faixas de absorção, tanto para a estação chuvosa quanto para a estação seca. Na região espectral compreendida entre $3600-3200\text{ cm}^{-1}$, onde podem ser observadas absorções características para grupos como OH, NH de amina e/ou amida a amostra de *Ficus* coletada na REST apresentou maiores áreas (bandas largas e intensas) o que pode ser associado à quantidade e diversidade de grupos funcionais presentes. Este padrão também foi observado ao analisar a banda de estiramento de C-O em torno de $1400-1000\text{ cm}^{-1}$, indicando a presença de OH de álcool ou de fenol, sendo esta banda mais intensa para a *Ficus* da REST. Cabe destacar que, nos extratos de *Ficus* da REST foi detectada a presença de flavonoides e maior concentração

de fenóis totais, sendo em torno de 6 a 9 vezes maior para *Ficus* da REST (Tab. 4.1), corroborando o resultado observado nos espectros. Além disso, somente *Ficus* da REST apresentou maior quantidade e/ou intensidade das bandas em torno de 1700 cm^{-1} , e $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, indicando que *Ficus* da REST apresenta maior quantidade e diversidade de grupos funcionais comparativamente ao *Ficus* da FOD (Tab. 4.2; Tab. 4.3; Anexo 4).

Os espectros obtidos para *Cecropia* também revelaram perfis diferenciados entre FOD e REST nas duas estações, onde as bandas $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ foram mais largas e intensas para *Cecropia* da REST, indicando maior quantidade e diversidade de grupos funcionais. Na região dos alifáticos ($2950\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$) de espectros da estação chuvosa foram observados que houve maior intensidade nas bandas para grupos funcionais de estiramento C-H para *Cecropia* da REST. A maior diversidade e/ou concentração de grupos funcionais na REST foi observada também na região em torno de $1709\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ (evidenciando a presença de compostos carbonílicos), maior quantidade de bandas correspondentes aos compostos aromáticos ($1600\text{-}1470\text{ cm}^{-1}$), e para OH de álcool ou de fenol ($1000\text{-}1400$). Na estação seca, somente para *Cecropia* da FOD foi verificada a presença de alquenos em 3011 cm^{-1} , sendo o estiramento de ligação de C=C presentes em torno de $1680\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$, e associado a essas bandas, apareceram outras na região de $1000\text{-}650$, conforme destacado por Barbosa (2007). Assim, *Cecropia* da REST apresenta maior quantidade e diversidade de grupos funcionais (Tab. 4.2; Tab. 4.3; Anexo 5).

Ao analisar os espectros obtidos para *Inga*, podemos verificar que na estação chuvosa, os espectros apresentaram características diferenciadas entre as áreas, com *Inga* da FOD apresentando bandas de absorção mais intensas, em torno de 2900 cm^{-1} que *Inga* da REST, referentes ao estiramento C-H de grupos de alifáticos. Bandas mais largas e intensas em torno de 1600 cm^{-1} também foram observadas para *Inga* da FOD, sugerindo maior concentração e diversidade de grupamentos carbonílicos. A espécie amostrada na REST apresentou um pico de absorção em 1516 cm^{-1} correspondendo à presença de grupos de aromáticos, o que não foi observada para *Inga* da FOD. Na região de grupamento de OH de álcool ou fenol ($1400\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$) foi

verificado maior intensidade da banda de absorção para *Inga* da FOD (Tab. 4.2; Anexo 6).

Para a estação seca, também foi observada uma nítida diferenciação no perfil de absorção de comprimento de onda entre *Inga* da FOD e REST, porém oposto do resultado observado para a estação chuvosa. As bandas espectroscópicas 3600-3200 cm^{-1} foram mais largas para *Inga* da REST, indicando maior diversidade de grupos funcionais. Picos de absorção na região dos alifáticos (2950-2800 cm^{-1}) foram nitidamente evidentes somente para *Inga* da REST, indicando a presença de estruturas alifáticas em maior quantidade comparativamente a *Inga* da FOD. Além disso, houve maior pico de absorção em torno de 1600 cm^{-1} para *Inga* da REST, indicando maior quantidade grupos carbonílicos. Na região de grupamento de OH de álcool ou fenol (1400-1000 cm^{-1}) foi verificado maior intensidade e diversidade de picos de absorção para *Inga* da REST. Assim, embora, tenha sido observada maior concentração de grupos funcionais para *Inga* da FOD na estação chuvosa, na estação seca houve maior intensidade e estruturas químicas para *Inga* da REST (Tab. 4.3; Anexo 6).

Para o gênero *Byrsonima* é importante ressaltar que a espécie amostrada tanto na floresta ombrófila como na restinga foi a *Byrsonima sericea*. Os espectros obtidos para *B. sericea* revelaram que, na estação chuvosa, *B. sericea* da FOD apresentou uma banda de absorção mais estreita com centro em 3.362 cm^{-1} e um forte pico de absorção na região dos alifáticos (2.926 cm^{-1}), enquanto que *B. sericea* da REST apresentou banda mais larga com centro em torno de 3.200 cm^{-1} e apenas um ombro na região dos alifáticos (2.945 cm^{-1}), sugerindo a presença de maior quantidade de compostos alifáticos na FOD. Bandas referentes a grupamentos carbonílicos (variando entre 1703-1606 cm^{-1}) e aromáticos (variando entre 1522-1445 cm^{-1}) foram mais intensas para *B. sericea* da REST. Na região de grupamento de OH de álcool ou fenol (variando entre 1350-1033 cm^{-1}), bandas de absorção de OH foram mais intensas para *B. sericea* da FOD, enquanto que bandas referentes a grupamento de compostos fenólicos foram mais intensas para a REST. Na região que compreende a presença de alquenos e aromáticos também foi verificada maior intensidade e quantidade de bandas para *B. sericea* da REST, as quais variaram de 976 a 605 cm^{-1} (Tab. 4.2; Anexo 7). Estas observações

para a amostra da REST corroboram os resultados obtidos para fenóis totais para esta área onde a quantidade de produção de fenóis é duplicada na restinga (Tab. 4.1).

Padrão similar ocorreu para os espectros de *B. sericea* da estação seca, com bandas atribuídas aos grupamentos carbonílicos ($1.699-1.610\text{ cm}^{-1}$), aromáticos ($1.527-1.444\text{ cm}^{-1}$), de OH de fenol ($1.371-1.204\text{ cm}^{-1}$), sendo geralmente mais intensas para *B. sericea* da REST. Na região que compreende a presença de alquenos e aromáticos também foi verificada maior intensidade de bandas e maior quantidade de picos para *B. sericea* da REST (871-944). Assim, os resultados obtidos revelaram, de modo geral, uma similaridade nas bandas de absorção entre os espectros de *B. sericea* da FOD e REST (principalmente para os espectros da estação seca), porém diferiram em relação às áreas dos picos (intensidade e largura das bandas), com *B. sericea* da REST apresentando maior diversidade de grupamentos químicos comparativamente aos espectros de *B. sericea* da FOD (Tab. 4.3; Anexo 7).

A partir das análises espectroscópicas do gênero *Cupania* amostrados na FOD e REST verificou-se que, na estação chuvosa, *Cupania* da FOD apresentou picos de absorção na região dos alifáticos ($2928\text{ e }2854\text{ cm}^{-1}$) mais intensos que os picos de absorção nesta mesma região para *Cupania* da REST ($2922\text{ e }2852\text{ cm}^{-1}$). Bandas de absorção referentes a grupos de carbonilas ($1726-1615\text{ cm}^{-1}$) também foram mais intensas para a *Cupania* da FOD. Banda referente a grupamentos aromáticos (1516 cm^{-1}) foi observada somente para *Cupania* da REST. Para os grupamentos de OH de álcool ou fenol ($1448-1041\text{ cm}^{-1}$), apesar das bandas de absorção ser mais intensas para *Cupania* da FOD, houve maior quantidade de picos para *Cupania* da REST. Na região que compreende a presença de alquenos e aromáticos foi verificada maior quantidade de picos de absorção para *Cupania* da FOD ($937-615\text{ cm}^{-1}$) comparativamente a *Cupania* da REST ($802-603\text{ cm}^{-1}$) (Tab. 4.2; Anexo 8).

Padrão diferenciado foi observado para a estação seca, com grupamentos atribuídos a ligações de compostos alifáticos ($2926-2854\text{ cm}^{-1}$), carbonílicos ($1747-1614\text{ cm}^{-1}$), aromáticos ($1516-1519\text{ cm}^{-1}$), OH de álcool ou fenol ($1402-1045\text{ cm}^{-1}$) sendo mais intensos de *Cupania* da REST. Além disso, houve maior quantidade de picos de absorção para grupamentos carbonílicos, de OH de álcool ou fenol, e de alquenos e aromáticos para *Cupania* da REST.

Neste sentido, foi observado que, de modo geral, *Cupania* da FOD apresentou principalmente maior concentração e menor diversidade de grupamentos químicos na estação chuvosa, diferentemente do padrão observado para a estação seca, no qual *Cupania* da REST apresentou maior diversidade e menores concentrações dos grupamentos químicos (Tab. 4.3; Anexo 8).

Para o gênero *Tapirira*, sendo as análises espectroscópicas realizadas com a mesma espécie, a *T. guianensis* amostrada na FOD e REST, foi verificado para a estação chuvosa que amostras da FOD apresentaram uma banda mais estreita com centro em 3369 e outra mais fraca na região dos alifáticos (2928-2856 cm^{-1}), enquanto que *T. guianensis* amostrada na REST apresentou bandas mais largas com centro em 3267 cm^{-1} e a outra mais intensa na região dos alifáticos (2932-2859 cm^{-1}), indicando maior diversidade de grupos funcionais para *T. guianensis* da REST. Grupamentos de carbonílicos (1703-1612 cm^{-1}) e aromáticos (1524-1512 cm^{-1}) apresentaram também bandas de absorção mais intensas para *T. guianensis* da REST comparativamente aos espectros obtidos para amostras da FOD. Todavia, foi observada uma banda de absorção característica de álcoois em 1040 cm^{-1} , sendo mais intenso para *T. guianensis* da FOD, indicando maior concentração de um determinado tipo de álcool nesta área. Com relação à região dos alquenos e aromáticos entre 900-600 cm^{-1} , as bandas de absorção destes grupos foram, de modo geral, similares entre *T. guianensis* da FOD e REST (Tab. 4.2; Anexo 9).

Na estação seca, foi verificada uma fraca banda de absorção (2928 cm^{-1}) na região dos alifáticos para *T. guianensis* da FOD, enquanto que *T. guianensis* REST apresentou maior intensidade nas bandas nesta mesma região (2926-2854 cm^{-1}). Algumas bandas de absorção diferiram ligeiramente entre os espectros de *T. guianensis* da FOD e REST, sendo mais intensas para grupamentos carbonílicos e OH de álcool ou fenol de *T. guianensis* da FOD, e mais intensos para grupamentos aromáticos da REST (Tab. 4.3; Anexo 9).

Os espectros das espécies do gênero *Eugenia* amostrados na FOD e REST para a estação chuvosa mostraram que para a REST obteve-se uma banda de absorção mais larga com centro em 3244 cm^{-1} comparativamente a *Eugenia* da FOD, com centro em 3385 cm^{-1} . Bandas de absorção nas regiões dos alifáticos (2930-2868 cm^{-1}), carbonílicos (1703-1620 cm^{-1}), aromáticos

(1512-1447 cm^{-1}), OH de álcool ou fenol (1317-1036 cm^{-1}), e alquenos e aromáticos (993-604 cm^{-1}) também foram nitidamente mais intensas para *Eugenia* da REST, indicando maior concentração destes grupos para *Eugenia* da REST (Tab. 4.2; Anexo 10).

O mesmo padrão foi verificado para a estação seca, com *Eugenia* da REST apresentando uma banda de absorção mais larga com centro em 3358 cm^{-1} comparativamente a *Eugenia* da FOD, com centro em 3410 cm^{-1} . Além disso, bandas de absorção nas regiões dos alifáticos (2944-2928 cm^{-1}), carbonílicos (1707-1615 cm^{-1}), aromáticos (1537-1447), OH de álcool e/ou fenol (1344-1034 cm^{-1}), também ocorreram em maiores intensidades para *Eugenia* da REST, com exceção dos alquenos e aromáticos entre 828-604 cm^{-1} . Assim, de modo geral, existe uma similaridade nas bandas de absorção entre os espectros de *Eugenia* da FOD e REST, porém se diferenciaram em intensidade, indicando que *Eugenia* da REST apresenta maior quantidade de grupamentos químicos que *Eugenia* da FOD (Tab. 4.3; Anexo 10).

A partir de espectros obtidos para o gênero *Miconia* amostrados na FOD e REST, verificou-se que na estação chuvosa, *Miconia* da REST apresentou banda de absorção mais larga com centro em torno de 3354 cm^{-1} e outra também intensa em 2930 cm^{-1} comparativamente a *Miconia* da FOD, a qual apresentou banda mais estreitas (menor área) centrada em 3383 cm^{-1} , porém menos intensos na região dos alifáticos (2949-2843 cm^{-1}). Bandas de absorção nas regiões de carbonílicos (1724-1608 cm^{-1}) e aromáticos (1549-1408 cm^{-1}) foram mais intensas e com maiores quantidades de bandas para *Miconia* da REST. Na região de ligação de OH de álcool ou fenol foram observadas bandas mais largas para *Miconia* da REST (1348-1201 cm^{-1}), enquanto que *Miconia* da FOD apresentou bandas mais agudas e intensas em 1051-1020 cm^{-1} , indicando maior quantidade de um determinado grupo de álcool. Bandas mais largas e intensas na região dos alquenos e aromáticos (856-602 cm^{-1}) foram observadas para *Miconia* da FOD, ao passo que houve maior quantidade de absorções para *Miconia* da REST (Tab. 4.2; Anexo 11).

Padrão similar foi observado para a estação seca, com *Miconia* da REST apresentando uma banda de absorção mais alargada com centro em 3360 cm^{-1} comparativamente a *Miconia* da FOD, com centro em 3420 cm^{-1} . Na região dos alifáticos para *Miconia* da FOD foi observado à presença de bandas de

absorção mais agudas (2928 e 2856 cm^{-1}) que as observadas para a *Miconia* da REST (2928 cm^{-1}). Com relação às regiões de grupamentos carbonílicos (1724-1612 cm^{-1}), aromáticos (1514-1445 cm^{-1}) e OH de álcool ou fenol (1444-1041 cm^{-1}), também foram verificadas bandas em maior intensidade para *Miconia* da REST, com exceção dos alquenos e aromáticos entre 900-600 cm^{-1} , que foram mais intensas para a *Miconia* da FOD. Assim, os resultados revelaram que, de modo geral, existe uma dissimilaridade nas bandas de absorção entre os espectros de *Miconia* da FOD e REST, indicando que *Miconia* da REST apresenta maior quantidade e diversidade de grupamentos químicos que *Miconia* da FOD (Tab. 4.3; Anexo 11).

Nas análises espectrométricas por IV para o gênero *Guapira* amostrados na FOD e REST durante a estação chuvosa, foi observada maior intensidade nas bandas de absorção na região dos alifáticos (variando de 2926 a 2870 cm^{-1}), aromáticos (1512-1452 cm^{-1}) e de OH de álcool ou fenol (1379-1055 cm^{-1}) para *Guapira* da REST. Alguns picos de absorção na região dos alquenos e aromáticos (900-600 cm^{-1}) também foram mais intensos para *Guapira* da REST (Tab. 4.2; Anexo 12).

Maior variação no perfil químico de *Guapira* entre as áreas foram observados para a estação seca, com *Guapira* da REST apresentando absorção em 2924 e 2853 cm^{-1} , região dos alifáticos, enquanto que *Guapira* da FOD apresentou apenas um “ombro” nesta região (2945 cm^{-1}). Houve maior intensidade nas bandas de absorção de carbonílicos (1615 cm^{-1}) e aromáticos (em torno de 1500 cm^{-1}) para *Guapira* da REST que da FOD, com absorções em 1627 e 1514 cm^{-1} , respectivamente. Na região que compreende o OH de álcool ou fenol (variando de 1404 a 1037 cm^{-1}) foi observado que, além de haver maior intensidade das bandas de absorção, estas foram mais largas (área maior) para *Guapira* da REST (Tab. 4.3; Anexo 12).

De modo geral, por meio desta técnica espectroscópica, com preparo de amostra padronizado e tratamento do espectro padronizado, foi possível diferenciar padrões de diversidade e quantidade de grupos funcionais presentes nas mais diversas classes químicas de metabolitos especiais, juntamente com outras análises realizadas tais como quantificação de fenóis totais e análises fitoquímicas qualitativas, permitindo, por meio de dados da

literatura para estes gêneros estudados inferir conclusões em relação a classes químicas presentes e suas abundâncias.

Tabela 4. 2. Valores de comprimento de onda de bandas de absorção de espectros de infravelho de extratos brutos de folhas de pares congêneros de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) em maio de 2013. Valores destacados em negrito indicam faixas de absorção mais intensas e/ou sublinhados indicam maior quantidade de bandas, respectivamente.

Área	Gênero	OH, NH de amidas e aminas	CH, CH2 e CH3 de alifáticos	Alquenos, aromáticos	Compostos carbonílicos	Aromáticos	Álcoois e Fenóis
FOD	<i>Annona</i>	3379	2922; 2853	822-517	1609	1520; 1445	1379-1065
REST	<i>Annona</i>	3342	2928; 2857	876-517	<u>1715-1609</u>	1516; 1450	1375-1072
FOD	<i>Ficus</i>	3421	2976	880	1638	-	1404; 1262-1051
REST	<i>Ficus</i>	3235	~2900	824-617	<u>1709-1609</u>	1516-1449	<u>1366-1067</u>
FOD	<i>Cecropia</i>	3366	2926	824-768	1613	1524	1385-1049
REST	<i>Cecropia</i>	~3200	2930	<u>986; 862-606</u>	<u>1707-1607</u>	<u>1553; 1524; 1447</u>	<u>1408 -1076</u>
FOD	<i>Inga</i>	3362	2924; 2853	872-615	1613	<u>~1500; 1443</u>	1398-1072
REST	<i>Inga</i>	3387	2926; 2855	<u>993-642</u>	<u>1703; 1616</u>	1516; 1449	1400-1040
FOD	<i>Byrsonima</i>	3362	2926; 2857	858-606	1703; 1611	1522; 1447	1377-1205; 1163-1065
REST	<i>Byrsonima</i>	3200	-	<u>976-606</u>	1692; 1607	1524; 1445	<u>1350-1232; 1161-1034</u>
FOD	<i>Cupania</i>	3362	2928; 2855	<u>937-615</u>	1723; 1628	-	1383-1042
REST	<i>Cupania</i>	3405	2922; 2853	802-604	1726; 1615	1516; 1449	1377-1047
FOD	<i>Tapirira</i>	3370	2928	924-606	1703; 1615	1512; 1449	<u>1344-1042</u>
REST	<i>Tapirira</i>	~3200	2932; 2859	868-656	1697; 1613	1524; 1447	1346-1034
FOD	<i>Eugenia</i>	3385	2930	993; 621	1711; 1620	1512; 1445	<u>1368-1042</u>
REST	<i>Eugenia</i>	3244	2930; 2868	872-604	1703; 1613	1510; 1447	1317-1036
FOD	<i>Miconia</i>	3383	<u>2949; 2843</u>	669; 610	1645	1452; 1408	1346-1107; 1051-1020
REST	<i>Miconia</i>	3354	2930	856; 602	1724; 1609	<u>1549-1447</u>	1348-1201; 1072-1001;
FOD	<i>Guapira</i>	3397	2926; 2870	980-606	1705; 1651	1528; 1452	1383-1055
REST	<i>Guapira</i>	3416	2926; 2853	978-646	1715; 1653	1512; 1452	1379-1074

Tabela 4. 3. Valores de comprimento de onda de bandas de absorção de espectros de infravelho de extratos brutos de folhas de pares congêneros de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) em setembro de 2013. Valores destacados em negrito indicam faixas de absorção mais intensas e sublinhados indicam maior quantidade de bandas de absorção, respectivamente.

Área	Gênero	OH, NH de amidas e aminas	CH, CH2 e CH3 de alifáticos	Alquenos, aromáticos	Compostos carbonílicos	Aromáticos	Álcoois e Fenóis
FOD	<i>Annona</i>	3335	2930	880-519	1711; 1605	1514-1445	<u>1445-1072</u>
REST	<i>Annona</i>	~3300	2926; 2855	920-519	1711; 1603	1512	1450-1076
FOD	<i>Ficus</i>	3416	2928; 2855	905-521	1713-1642	1452	<u>1383-1047</u>
REST	<i>Ficus</i>	~3300	2924; 2853	883-519	1728; 1615	<u>1516-1445</u>	1393-1073
FOD	<i>Cecropia</i>	3441	2949; 2843	681; 602	1642	-	<u>1402-1017</u>
REST	<i>Cecropia</i>	~3300	2926; 2853	<u>882-592</u>	1613	1522	1402-1049
FOD	<i>Inga</i>	3412	2945	995-642	1620	1528	1404-1067
REST	<i>Inga</i>	~3300	<u>2924; 2853</u>	<u>870-633</u>	<u>1696; 1615</u>	<u>~1534; 1447</u>	1373-1038
FOD	<i>Byrsonima</i>	3356	2928	882-706	1699; 1611	1520; 1445	<u>1371-1204; 1163-1063</u>
REST	<i>Byrsonima</i>	3379	<u>2926; 2855</u>	872-644	1692; 1611	1528; 1447	1366-1233; 1163-1034
FOD	<i>Cupania</i>	3405	2932	988-652	1626	1520	1402-1076
REST	<i>Cupania</i>	3391	<u>2926; 2855</u>	<u>984-604</u>	<u>1748; 1615</u>	<u>1516; 1447</u>	<u>1371-1046</u>
FOD	<i>Tapirira</i>	3343	2928	924-602	1705; 1613	1530; 1449	1344-1034
REST	<i>Tapirira</i>	~3376	<u>2926; 2855</u>	822-646	1694; 1613	1522; 1449	1370-1034
FOD	<i>Eugenia</i>	3410	2944	828; 644	1707; 1630	1514; 1449	1377-1044
REST	<i>Eugenia</i>	3358	2928	<u>868-604</u>	1694; 1615	1537; 1447	1344-1034
FOD	<i>Miconia</i>	3420	<u>2928; 2857</u>	914-621	1724; 1636	1456	<u>1379-1055</u>
REST	<i>Miconia</i>	3360	2928	<u>918-748</u>	1726; 1613	<u>1514; 1445</u>	1350-1042
FOD	<i>Guapira</i>	3406	2945	920-619	1628	1514	1404-1073
REST	<i>Guapira</i>	3385	<u>2924; 2853</u>	920-640	1615	<u>~1500; 1449</u>	1375-1038

4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H)

Os espectros obtidos para os pares congênericos amostrados na FOD e na REST revelaram a existência de diferenças nos perfis químicos entre os pares congênericos amostrados na estação chuvosa o que não foi verificado na estação seca (Anexos 2-10), sendo estes resultados confirmados e analisados por meio de análise quimiométrica de ACP.

A partir do diagrama de ordenação da ACP de dados espectrais dos pares congênericos amostrados na FOD e REST durante a estação chuvosa, foi observado que ligações de H provenientes de estruturas químicas alifáticas foram positivamente correlacionadas com o primeiro eixo da ordenação ($r= 0,94$), enquanto que ligações de H oriundas de açúcares ($r= -0,84$), aromáticos ($r= -0,79$) e aldeídos/heterociclos ($r= -0,47$) foram negativamente correlacionadas com o referido eixo (Eixo 1). Ligações de H provenientes de grupos oleofínicos ($r= -0,80$) foram positivamente correlacionadas com o segundo eixo da ACP, enquanto que ligações de H de acetoxilas e metoxilas foram negativamente correlacionadas com este eixo (Fig. 4.2; Tab. 4.2) (Eixo 2). Os dois primeiros eixos da ACP foram responsáveis por 64,60% da variância total dos dados, sendo que o primeiro eixo representou 43,95% e o segundo eixo 20,65%. Os autovalores produzidos pela ACP (eixo 1= 2,64; eixo 2= 1,24) foram bem mais elevados que os autovalores para o terceiro e quarto eixo ($\leq 1,0$), sendo estes últimos menos prováveis de terem algum significado ecológico. A ACP revelou que as espécies estão distribuídas ao longo de gradientes, revelando a discriminação interespecífica.

No primeiro eixo da ACP foi observada a formação de quatro grupos diferentes, sendo o primeiro grupo formado por *Ficus* e *Byrsonima* da REST, estando agrupadas na parte superior negativa deste eixo, principalmente devido à maior quantidade de sinais na região de H provenientes de estruturas com grupos oleofínicos. O segundo grupo é formado somente por espécies da REST, estando localizado em torno da região intermediária até a parte superior positiva do eixo, devido ao acúmulo de sinais observados para H de estruturas alifáticas e oleofínicas. O terceiro grupo é formado somente por espécies da FOD, sendo localizada em torno da região intermediária até parte inferior positiva do eixo, sendo influenciada por maior quantidade de H de acetoxilas e

metoxilas e estruturas alifáticas. O quarto grupo é constituído por apenas *Annona* e *Tapirira* da FOD, estando relacionada à maior quantidade de H provenientes de estruturas químicas contendo açúcares, aromáticos, aldeídos e/ou hidrogênios de anéis heterocíclicos. O segundo eixo da ACP revelou uma nítida separação dos dados espectrais em dois grupos distintos, com os pares congêneros da REST situados na parte positiva do eixo devido à concentração de sinais de H proveniente de ligações de oleofínicos, enquanto que seus respectivos pares congêneros da FOD ficaram agrupados na parte negativa deste mesmo eixo (com exceção da *Tapira* da FOD), estando correlacionados principalmente devido à presença de metabólitos com substituintes contendo acetoxilas e metoxilas (Fig. 4.2).

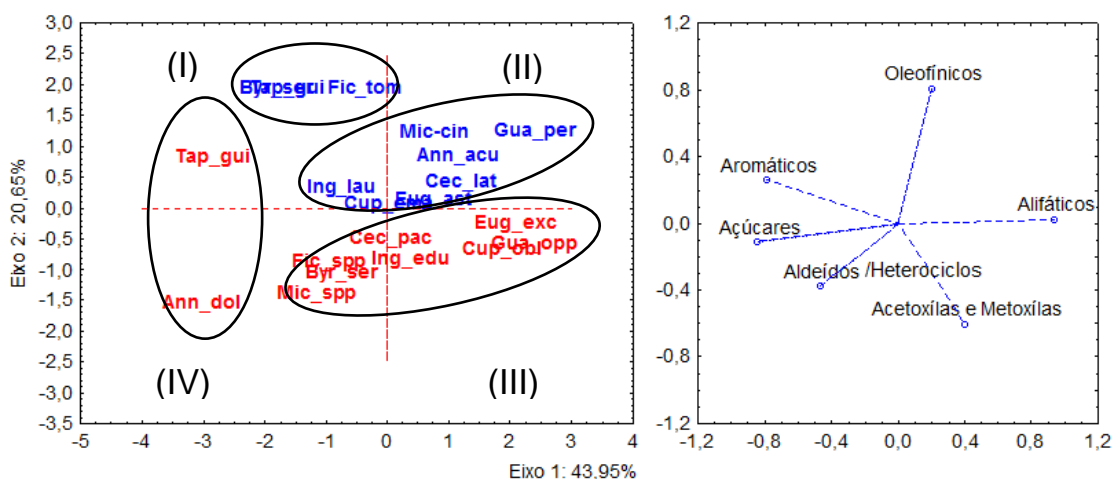


Figura 4. 2. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos espectros de RMN ¹H de pares congêneros da Floresta Ombrófila Densa (vermelho) e Mata de Restinga (azul) amostrados na estação chuvosa (maio/2013). Projeção das espécies (a) e das variáveis (b) em relação aos eixos 1 e 2. Ann_dol= *Annona dolabripeta*, Ann_acu= *Annona acutiflora*, Fic_spp= *Ficus* sp., Fic_tom= *Ficus tomentella*, Cec_pac= *Cecropia pachystachya*, Cec_lat= *Cecropia latiloba*, Ing_edu= *Inga edulis*, Ing_lau= *Inga laurina*, Byr_ser= *Byrsonima sericea*, Cup_obl= *Cupania oblongifolia*, Cup_ema= *Cupania emarginata*, Tap_gui= *Tapirira guianensis*, Eug_exc= *Eugenia excelsa*, Eug_ast= *Eugenia astringens*, Mic_spp= *Miconia* sp., Mic_cin= *Miconia cinnamomifolia*, Gua_opp= *Guapira opposita*, Gua_per= *Guapira pernambucensis*. N=20.

Nas análises de ACP dos dados espectrais dos pares congêneros da FOD e REST amostrados na estação seca foi observado que o primeiro eixo representou 43,47%, seguido do segundo eixo com 28,43%, totalizando 71,89% da variância total dos dados. Os dois primeiros eixos da ACP (eixo 1=

2,61; eixo 2= 1,70) apresentaram autovalores bem maiores comparativamente ao terceiro e quarto eixo ($\leq 1,0$). A variável H de alifáticos ($r= 0,94$) apresentou uma forte correlação positiva e significativa com o primeiro eixo da ordenação da ACP, enquanto que H de açúcares ($r= -0,84$), H de aromáticos ($r= -0,79$) e H de aldeído ($r= -0,47$) foram negativamente correlacionados com o mesmo eixo. A variável H de oleofínicos ($r=0,81$) foi positivamente correlacionada com o segundo eixo, seguido de H de acetoxilas e metoxilas que foram negativamente correlacionados ($r= -0,61$) (Fig. 4.3; Tab. 4.2).

Ao analisar a disposição dos pares congêneros amostrados nas duas áreas em relação aos eixos 1 e 2 da ordenação, gêneros como *Miconia*, *Eugenia* e *Tapirira* foram os que apresentaram maiores variações no perfis químicos entre as áreas, enquanto que *Guapira* e *Cupania* foram os que apresentaram maiores similaridades. *Miconia* e *Eugenia* da REST se destacaram das demais espécies por apresentarem acúmulo de sinais na região de H alifáticos e açúcares, respectivamente. *Tapirira* da FOD apresentou maior acúmulo de sinais na região de compostos aromáticos, enquanto que para o gênero *Tapirira* da REST houve maior concentração para sinais referentes a Acetoxilas e Metoxilas (Fig. 4.3).

A partir da análise dos dados da ACP foi verificada a ausência de um padrão de agrupamento de espécies, indicando que na referida estação, de modo geral, as espécies apresentaram similaridade na complexidade química independentemente da área, estando mais distribuídas em torno da região intermediária dos eixos de ordenação, sugerindo uma maior proximidade química intraespecífica (pares congêneros) e interespecífica nesta estação, independente da área.

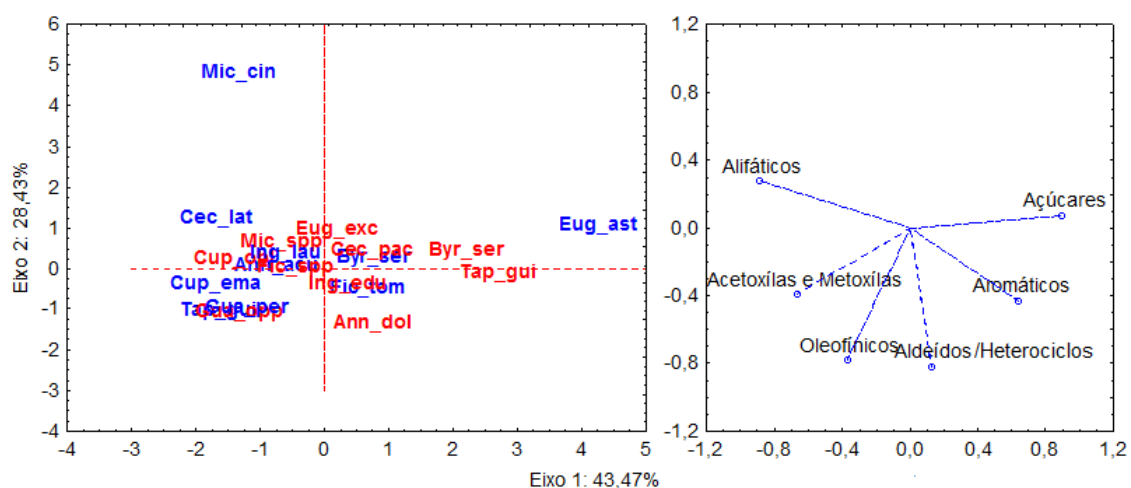


Figura 4. 3. Biplot da análise de componentes principais (ACP) dos espectros de pares congênericos da Floresta Ombrófila Densa (vermelho) e Mata de Restinga (azul) amostrados na estação seca (setembro/2013). Projeção das espécies (a) e das variáveis (b) em relação aos eixos 1 e 2. Ann_dol= *Annona dolabripeta*, Ann_acu= *Annona acutiflora*, Fic_spp= *Ficus* sp., Fic_tom= *Ficus tomentella*, Cec_pac= *Cecropia pachystachya*, Cec_lat= *Cecropia latiloba*, Ing_edu= *Inga edulis*, Ing_lau= *Inga laurina*, Byr_ser= *Byrsonima sericea*, Cup_obl= *Cupania oblongifolia*, Cup_ema= *Cupania emarginata*, Tap_gui= *Tapirira guianensis*, Eug_exc= *Eugenia excelsa*, Eug_ast= *Eugenia astringens*, Mic_spp= *Miconia* sp., Mic_cin= *Miconia cinnamoniifolia*, Gua_opp= *Guapira opposita*, Gua_per= *Guapira pernambucensis*. N=20.

Tabela 4. 4. Valores dos coeficientes de correlação entre as variáveis relacionadas e os autovetores das análises de componentes principais (ACP) das pares congênericos amostrados na Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga. N=20.

Ligações de H	Auto-vetores			
	Estação Chuvosa		Estação seca	
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 1	Eixo 2
Alifáticos	0,94***	0,03	-0,89***	0,28
Acetoxilas e Metoxilas	0,40	-0,61**	-0,67**	-0,40
Açúcares	-0,84***	-0,11	0,90***	0,08
Oleofínicos	0,20	0,81***	-0,37	-0,78***
Aromáticos	-0,80***	0,26	0,64**	0,43
Aldeídos/Heterociclos	-0,47*	-0,37	0,12	0,82***

Dados transformados. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

4.4 Discussão

Os resultados revelaram que as técnicas espectroscópicas utilizadas no presente estudo (IV e RMN ^1H) foram eficientes para identificar a existência de diferenças nos perfis químicos entre pares congêneros de plantas amostrados na FOD e na REST, juntamente com as demais análises químicas (testes qualitativos e quantificação de fenóis totais). Estas análises espectroscópicas são comumente utilizadas em estudos ecometabolômicos, visando identificar diferenças nos perfis químicos de plantas ocasionadas por estresses bióticos e abióticos (Kuzina *et al.*, 2009; Khairudin *et al.*, 2014; Rivas-Ubach *et al.*, 2013; Fester, 2015; Sampaio *et al.*, 2016).

As análises fitoquímicas qualitativas para a detecção de metabólitos especiais revelaram que as classes de substâncias como esteroides, triterpenos e flavonoides foram as que mais se diferenciaram entre os pares congêneros coocorrentes na FOD e REST. Os esteroides foram detectados principalmente em pares congêneros da FOD, enquanto que triterpenos e flavonoides foram detectados majoritariamente em pares congêneros da REST, resultado este que está coerente em relação às análises quantitativas de fenóis totais, onde, de modo geral, foi verificado maiores concentrações de fenóis totais para os pares congêneros amostrados na REST. Segundo Akula e Ravishankar (2011), o estresse salino, como observado em ambientes de restinga, também aumenta vários metabólitos de plantas principalmente os compostos fenólicos. Para os testes de atividades antioxidantes, resultados negativos foram detectados para gêneros como *Ficus*, *Inga*, *Cupania* e *Miconia* da FOD e *Guapira* de ambas as áreas amostradas na estação chuvosa (FOD e REST) (Tab. 4.3.1). Cabe destacar que os testes fitoquímicos empregados detectam apenas metabólitos especiais que estejam presentes em altas concentrações nos extratos analisados. Neste sentido, os resultados negativos para os testes de atividades antioxidantes podem estar relacionados às baixas concentrações de flavonoides e de fenóis totais para os referidos gêneros nesta área, e de *Guapira* de ambas as áreas, visto que flavonoides e fenóis totais, dentre outros, são considerados como os antioxidantes mais ativos nos vegetais (Sucupira *et al.*, 2015). Cabe destacar que a concentração de fenóis

totais para os referidos gêneros foi baixa, quando comparados com as concentrações dos demais gêneros estudados.

Para os espectros de infravermelho com transformadas de *Fourier*, a presença de picos na região de 1.850-1.610 indica a vibração de grupos funcionais que contém carbonila. Na região de 1.400-1000 cm^{-1} , bandas relativas ao estiramento de ligação C-O de álcoois e fenóis aparecem aproximadamente de 1.250-1.000 cm^{-1} . No caso de fenóis geralmente se observa duas bandas nas regiões 1.410-1.320 e 1.260-1.180 cm^{-1} (Barbosa, 2007). Bandas mais largas sugere-se a presença de maior quantidade de tipos funcionais, indicando maior diversidade química, enquanto que a intensidade e área da banda revelam informações quantitativas sobre os tipos funcionais analisados.

Em geral, os espectros de infravermelho (IV) mostraram padrões de bandas de absorção semelhantes entre os pares congêneros da FOD e REST amostrados nas estações chuvosa e seca. Picos proeminentes em todos os espectros compreenderam a presença de grupos químicos funcionais específicos que estão presentes em diferentes espécies de plantas, conforme destacado por Khairudin *et al.* (2014). A partir desta foi possível verificar, por meio dos perfis obtidos, a influência do ambiente sobre a diversidade e/ou quantidade de grupos químicos presentes nas amostras foliares analisadas, conforme destacado por Sardans *et al.* (2011). Isto pode ser observado claramente, por exemplo, no caso da espécie do gênero *Byrsonima* que em ambos os ambientes (FOD e REST), trata-se da mesma espécie (*Byrsonima sericea*), ou seja, filogenética e biossinteticamente iguais. Embora se observe perfis químicos similares, há uma maior diversidade e intensidade de sinais de absorção de grupos químicos na *Byrsonima* amostrada na REST, o que é também observado, de modo geral, em outros pares congêneros oriundos da REST, e mais intensamente na estação seca. Este tipo de análise tem sido utilizado para discriminar espécies ou populações de plantas com base na absorção de grupos funcionais (Khairudin *et al.*, 2014, Türker-Kaya & Huck, 2017).

Vários fatores ambientais como disponibilidade de água, temperatura e radiação são conhecidos por influenciarem na produção de metabólitos especiais (Castro *et al.*, 2004; Sampaio *et al.*, 2016), como por exemplo os

fenilpropanoides (Ramakrishna & Ravishankar, 2011). Os fenilpropanoides são unidades básicas para a formação de compostos fenólicos mais complexos (Taiz & Zeiger, 2006). Compostos fenólicos como taninos, antocianinas flavonoides entre outros, além de contribuírem para a absorção e/ou dissipação de energia solar, influenciam na proteção contra os efeitos deletérios da radiação UV no aparato fotossintético ou na formação de espécies reativas de oxigênio (Gottlieb *et al.*, 1996; Akula & Ravishankar, 2011; Brunetti *et al.*, 2013; Sampaio *et al.*, 2016). Nos estudos de Sampaio *et al.* (2016) foram observados que o perfil químico de folhas de *Tithonia diversifolia* Hemsl. (Asteraceae) foi relacionado principalmente com os níveis de chuvas e umidade, temperatura e a radiação solar. Cabe destacar que, ambientes de restinga são conhecidos por apresentarem altas temperaturas e luminosidade, menores disponibilidade de água e nutrientes nos solos, onde muitas plantas desenvolvem várias adaptações morfológicas e fisiológicas para sobreviverem nestes ambientes (Marques *et al.*, 2015). Assim, as condições ambientais da REST (ambiente com menos disponibilidade hídrica) podem estar influenciando na maior produção de compostos fenólicos nos pares congêneros desta área, comparativamente aos pares congêneros da FOD (ambiente com maior disponibilidade hídrica).

Os dados obtidos por RMN ^1H analisados com a ferramenta quimiométrica (ACP) também permitiram observar claramente perfis químicos diferenciados entre os pares congêneros coocorrentes na FOD e na REST, indicando uma variabilidade de tipos estruturais químicos para pares congêneros da FOD amostrada na estação chuvosa, correlacionados com sinais de H de acetoxilas e metoxilas e sinias de H de estruturas heterocíclicas, enquanto que pares congêneros das REST correlacionaram com sinais de H de olefínicos nesta mesma estação. A detecção de sinais contendo estruturas heterocíclicas, pode sugerir a presença de alcaloides (Henrique *et al.*, 2010; Trigo *et al.*, 2012). A presença de metabólitos com substituintes contendo acetoxilas e metoxilas sugerem processos de redução de compostos originalmente hidroxilados. Processos de oxidação e redução são frequentes durante processos biossintéticos e mudanças na estrutura molecular que dão plasticidade e diversidade aos metabólitos especiais, proporcionando diferenciação nos perfis químicos estruturais (Gottlieb *et al.*, 1996; Dewick,

2008; Abreu *et al.*, 2010). Neste sentido, espécies da FOD apresentaram maiores concentrações de compostos contendo estruturas heterocíclicas, sugerindo a presença de alcaloides, e maiores concentrações de compostos contendo acetoxilas/metoxilas indicando a redução de compostos originalmente hidroxilados.

Sinais de H de olefínicos indicam a presença de cadeias de carbono contendo pelo menos uma dupla ligação entre os carbonos, sendo estruturas comuns em terpenoides (triterpenos, diterpenos, sesqui e mono terpenos) além de esteróides (Taiz & Zeiger, 2006; Trigo *et al.*, 2012). Assim, a correlação significativa de pares congêneros da REST amostrados na estação chuvosa com sinais de olefínicos juntamente com maior detecção de terpenos observada nas análises fitoquímicas para esta área podem sugerir maiores investimentos na bioprodução destes metabólitos na REST.

Nas análises de RMN da estação seca não foi observada uma separação nos perfis químicos de pares congêneros da FOD e da REST, como verificada para a estação chuvosa. O resultado encontrado pode sugerir que plantas da FOD, sob condições de seca, sofreram alterações na produção de metabólitos especiais, acarretando em concentrações e tipo de ligações de H semelhantes entre FOD e REST. Resultados semelhantes podem ser verificados na literatura, como por exemplo, o caso de plantas da espécie *Erica multiflora* L. (Ericaceae) que experimentalmente sob condições de estresse hídrico apresentaram maiores concentrações de metabólitos foliares como ácido quínico, ácido tartárico, lipídios e terpenos, e quando analisados por RMN mostraram que o método empregado (RMN ¹H) foi sensível o suficiente para detectar mudanças nos perfis metabólitos devido ao estresse causado pela seca (Rivas-Ubach *et al.*, 2012; Rivas-Ubach *et al.*, 2013). O ácido quínico é um precursor da rota do ácido chiquímico, uma via metabólica comum na biossíntese de aminoácidos aromáticos, como a tirosina e a fenilalanina (Draths *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2004; Rivas-Ubach *et al.*, 2012).

4.5 Conclusão

Os resultados obtidos mostraram de forma inequívoca que existe uma forte variação no perfil metabólico entre os pares congêneros amostrados nas diferentes áreas (FOD e REST), principalmente para a análise metabolômica, a qual revelou que espécies da FOD apresentam maiores concentrações de compostos contendo estruturas heterocíclicas, sugerindo a presença de alcaloides, e de compostos contendo acetoxilas/metoxilas, indicando redução de compostos originalmente hidroxilados, enquanto que para as espécies da REST foram observados maiores concentrações de compostos contendo grupos olefínicos, sendo essas estruturas comuns em vários tipos de terpenoides e esteroides. Tais variações sugerem que fatores ambientais exercem uma forte influência na produção e variabilidade de metabólitos especiais, corroborando a hipótese testada. Cabe destacar que na estação seca as duas áreas apresentaram uma grande similaridade nos perfis químicos, o que não ocorreu na estação chuvosa, onde os perfis químicos foram claramente diferentes, com as espécies da REST apresentando maior plasticidade na bioprodução de metabólitos especiais.

CAPÍTULO V. COMUNIDADE DE INSETOS EM DUAS FITOFISIONOMIAS CONTRASTANTES DA MATA ATLÂNTICA

5.1 Introdução

Sabe-se que cerca de 50% das espécies de insetos são consideradas herbívoras, o que corresponde a 25% do total de espécies de Arthropoda existentes (May, 1988, 1990; Silva-Brandão & Freitas, 2012). Estudos de comunidade de insetos em plantas associadas permitem o conhecimento não apenas da composição taxonômica, mas também o estudo das distribuições temporal e espacial dessas comunidades, além de comparações das interações inseto-plantas entre ecossistemas distintos (Flinte *et al.*, 2006).

Os insetos herbívoros são importantes para as atividades humanas pelo fato de ocasionarem prejuízos no desenvolvimento das plantas e danos econômicos que variam de 5 a 30% da produção agrícola mundial, por meio do ataque a diferentes partes das plantas como folhas, frutos e sementes (Del-Claro, 2012; Carrano-Moreira, 2015). Em florestas tropicais, a perda de área foliar por insetos herbívoros varia de 8 a 15% (Sterck *et al.*, 1992; Nascimento & Proctor, 2001; Cárdenas *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2017), influenciando o crescimento, a reprodução e a habilidade competitiva das espécies de plantas (Coley & Barone, 1996).

Os herbívoros mastigadores ocasionam mais de 90% do dano foliar em florestas tropicais (Adams *et al.*, 2009; Moctezuma *et al.*, 2014) e dentre os mastigadores de folhas, os grupos mais diversos são Lepidoptera, Coleoptera, Orthoptera e Phasmatodea (Gullan & Cranston, 2007; Lewinsohn *et al.*, 2012; Carrano-Moreira, 2015). A ordem Coleoptera compreende cerca de 40% das espécies de insetos conhecidos, sendo a maioria delas fitófaga, predadora ou fungívora (Carrano-Moreira, 2015). Lepidoptera é considerada a segunda maior ordem em número de espécies, sendo as formas imaturas (lagartas) essencialmente fitófagas (Price, 2002; Carrano-Moreira, 2015). Muitas espécies da ordem Orthoptera são fitófagas, consumindo folhas e raízes, enquanto que todas as espécies de Phasmatodea são consideradas fitófagas (Gullan & Cranston, 2007; Carrano-Moreira, 2015).

As injúrias que os insetos causam nas plantas variam grandemente, dependendo da guilda de herbívoros (Gullan & Cranston, 2007; Howe & Jander, 2008; Andrew *et al.*, 2012), do grau de especialização alimentar (Coley & Barone, 1996; Barone, 1998) e das interações entre as guildas de alimentação (Ribeiro & Basset, 2007; Künkler *et al.*, 2013; Saad *et al.*, 2015). Estas últimas definem herbívoros como mastigadores de folhas, minadores e perfuradores, sugadores de seiva e galhadores, conforme Gullan e Cranston (2007). A especialização alimentar dos insetos herbívoros varia de monofagia (especialistas extremos, alimentando-se apenas de um gênero ou espécie de planta) a polifagia (generalistas, que se alimentam de várias famílias de plantas) (Gullan & Cranston, 2007; Howe & Jander, 2008; Ali & Agrawal, 2012; Trigo *et al.* 2012). Neste sentido, as interações entre insetos e plantas são tão diversas e complexas que dificultam a identificação ou elaboração de teorias gerais sobre os padrões de distribuição de insetos herbívoros, seja no tempo e no espaço, sendo estes padrões totalmente dependentes de suas plantas hospedeiras (Araújo, 2013).

Fatores abióticos podem influenciar as interações entre insetos e plantas em florestas tropicais. Neste sentido, a disponibilidade hídrica e nutricional dos solos em diferentes tipos de habitats pode afetar indiretamente a qualidade nutricional da planta e conseqüentemente, a riqueza e abundância de insetos herbívoros de diferentes guildas (Coley *et al.*, 1985; Fernandes & Price, 1988; Silva *et al.*, 2009; Fine *et al.*, 2013; Karolewski *et al.*, 2013; Lamarre *et al.*, 2015).

Contudo, há pouco conhecimento sobre como as comunidades de insetos estão estruturadas em gradientes ambientais (Fernandes & Price, 1988; Silva *et al.*, 2009; Fine *et al.*, 2013; Lamarre *et al.*, 2015). O estresse higrótérmico pode ser um dos fatores que fortemente determinam a diversidade de herbívoros mastigadores e galhadores em diferentes habitats. Nos estudos de Fernandes e Price (1988), por exemplo, foi verificada maior riqueza de insetos herbívoros galhadores (ou endofíticos) no ambiente xérico que no ambiente méxico, diferentemente do padrão observado para os insetos de vida livre (ou exofíticos), que foram mais ricos no ambiente méxico. A maior riqueza e abundância de insetos herbívoros de vida livre em ambientes méxicos comparativamente a ambientes xéricos também foi observada nos estudos de

Silva *et al.* (2009). Além disso, os insetos galhadores estão melhores adaptados a ambientes quentes, com vegetação esclerófila e com alta concentração de taninos, características que dificultam o ataque por outros herbívoros e seus inimigos naturais (Fernandes & Price, 1988; Ribeiro & Basset, 2007; Santos *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2014b; Ribeiro *et al.*, 2014).

Gradientes de solo também podem influenciar na comunidade de insetos. Um estudo com *Protium subseratum* (Aubl.) (Burseraceae) mostrou mais insetos se alimentando de plantas em habitats de solos argilosos (com mais nutrientes) do que arenosos, podendo esta dissimilaridade estar diretamente relacionada à disponibilidade de nutrientes no solo (Fine *et al.*, 2013). Estudos posteriores também revelaram maior abundância da comunidade de Arthropoda em habitats argilosos do que arenosos (Lamarre *et al.*, 2015). Neste sentido, as características de solos podem selecionar diferentes estratégias ecológicas de plantas de florestas tropicais, os quais incluem estratégias evolutivas de alocação de recursos para o crescimento e defesas contra a herbivoria, podendo influenciar na comunidade de insetos herbívoros amostrados (Fine *et al.*, 2004, 2006).

Outros fatores abióticos importantes relacionam-se ao clima. O regime de chuvas em florestas tropicais pode influenciar fortemente o ciclo de vida e a distribuição de populações de insetos herbívoros (Wolda, 1988; Grimbacher & Stork, 2009), enquanto que altas temperaturas podem afetar negativamente insetos sensíveis a esta condição abiótica (Deutsch *et al.*, 2008).

Nos últimos anos, um número crescente de trabalhos sobre a comunidade de insetos herbívoros e suas plantas hospedeiras tem sido realizado no Cerrado e em Matas secas (Silva *et al.*, 2009; Neves *et al.*, 2010; Leite *et al.*, 2013; Neves *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2016). Todavia, atualmente pouco se conhece sobre a comunidade de insetos herbívoros em Mata Atlântica (Souza *et al.*, 2016; Morante-Filho *et al.*, 2016), e também em seus ecossistemas associados, como a restinga (Flinte *et al.*, 2006; Monteiro *et al.*, 2007; Silveira *et al.*, 2008). Além disso, estudos comparativos da estrutura de comunidade de herbívoros associada a espécies de plantas hospedeiras congênicas tem sido raramente desenvolvidos (Nakadai *et al.*, 2014). Portanto, o conhecimento sobre a estrutura de comunidade de insetos e suas interações com plantas hospedeiras congênicas são fundamentais para

analisar os efeitos dos insetos herbívoros nas populações vegetais e os padrões de distribuição espacial nos ecossistemas de Mata Atlântica.

5.2 Objetivo

Este estudo teve como objetivo descrever e analisar a estrutura da comunidade de insetos, destacando os potenciais insetos herbívoros mastigadores de folhas associados a pares congênicos de plantas em dois ambientes contrastantes de Mata Atlântica, Floresta Ombrófila Densa e Mata de Restinga.

Neste estudo foi testada a seguinte hipótese: maiores valores de riqueza e diversidade de espécies de potenciais insetos herbívoros mastigadores são esperados em Floresta Ombrófila Densa, devido às características do clima (mais úmido e menos quente) e a maior complexidade estrutural da floresta.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Áreas de Estudo

O estudo foi desenvolvido em duas formações florestais de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, com diferentes condições edafoclimáticas, sendo um ambiente mais úmido e argiloso, representado pela Floresta Ombrófila Densa (FOD) na Reserva Biológica (ReBio) União em Rio das Ostras e um ambiente xérico e arenoso, representado pela restinga (REST) na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Caruara em São João da Barra (vide capítulo 2 para maiores detalhes das áreas de estudo).

5.3.2 Metodologia de amostragem de insetos

Para a amostragem dos insetos foram utilizadas duas técnicas: armadilhas coloridas (*color pantrap*) e guarda-chuva entomológico. A primeira técnica consistiu na instalação de 15 unidades amostrais de armadilhas coloridas (PT), onde cada unidade amostral foi constituída de seis potes

redondos (200 mL cada) de diferentes cores (amarela, azul e branca), sendo dois potes por cor, preenchidos por água e detergente, presos ao longo do eixo de uma haste de cano PVC distante 50 cm do solo (Fig. 5.1). Ao todo, foram instalados 90 potes por área de estudo, os quais ficaram expostos por 48h; os insetos capturados foram recolhidos a cada 24h. As hastes foram distribuídas com uma distância mínima de 20 metros entre si formando um transecto, sendo disponibilizadas em locais mais abertos e próximos aos pares congêneros de plantas estudadas. As coletas foram realizadas nas estações chuvosa (fevereiro/2015) e seca (setembro/2015), em dois dias de amostragem em cada estação. As armadilhas coloridas são conhecidas por atraírem diferentes grupos de insetos em função da cor (Heneberg & Bogusch, 2014; Silva *et al.*, 2014), além de fácil manuseio, baixo custo e ausência de influência do coletor, tornando-as úteis para amostragem e comparação da comunidade de insetos (Saunders & Luck, 2013). Apesar de não ser específica para insetos associados a plantas, a técnica permite a amostragem de diversos grupos ecológicos que potencialmente se relacionam com as plantas próximas, constituindo uma amostragem complementar no estudo dos herbívoros.



Figura 5. 1. Armadilha colorida do tipo *pantrap* instalada na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Caruara, São João da Barra, Rio de Janeiro.

Para a entomofauna associada à vegetação foi utilizado um guarda-chuva entomológico (GC) (2x2 m) (Fig. 5.2), para amostragem em cinco indivíduos de cada um dos 10 pares congêneros de plantas (vide capítulo 3 para maiores detalhes das espécies amostradas) nas duas áreas estudadas. As coletas foram realizadas nas estações seca e chuvosa, em 17 dias de amostragens em cada estação de 2013 e 2015. Em plantas arbóreas com mais de 2 m de altura, o guarda-chuva entomológica foi suspenso utilizando-se uma corda de nylon para aproximá-lo da área das folhas que foi sacudida.

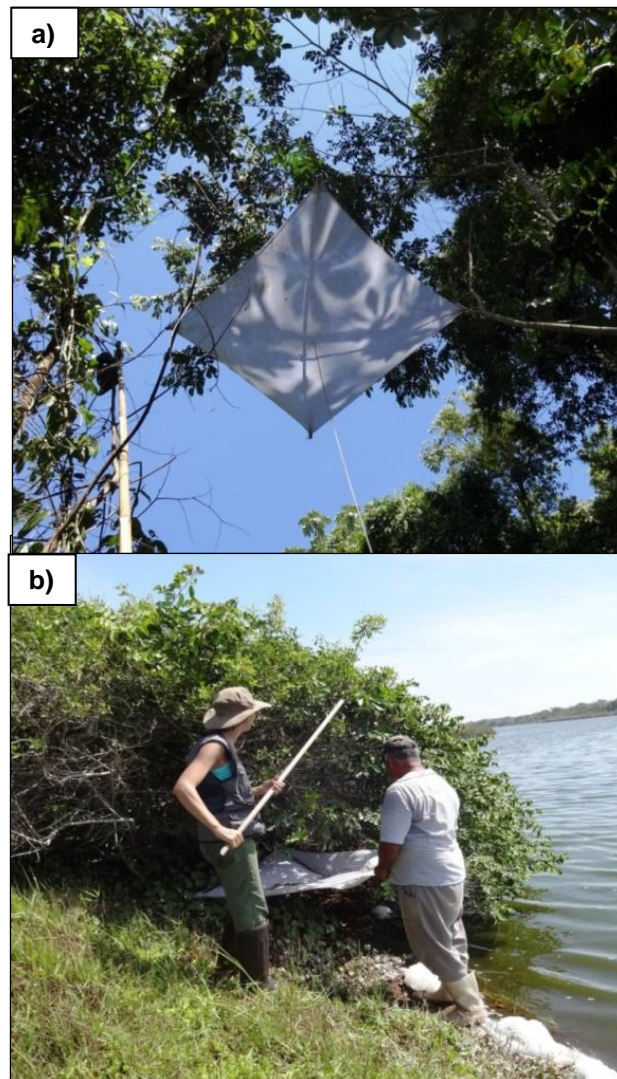


Figura 5. 2. Amostragem de insetos utilizando-se guarda-chuva entomológico nas áreas de mata na Floresta Ombrófila Densa da Reserva Biológica União em Rio das Ostras (a) e na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Caruara em São João da Barra (b).

Os espécimes coletados foram armazenados em álcool 70%, triados e etiquetados com data e procedência. Exemplares de cada morfotipo foram montados em alfinetes entomológicos e identificados no menor nível taxonômico possível, com auxílio de chaves taxonômicas e especialistas em entomologia da UENF. Os insetos foram incorporados na Coleção de Zoologia do Setor de Ecologia Experimental do Laboratório de Ciências Ambientais (LCA/CBB/UENF), com exceção dos insetos da ordem Coleoptera que foram depositados no Museu de Entomologia do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF/CCTA/UENF).

5.3.3 Análises de dados

A estrutura da comunidade de insetos entre as áreas de estudo e da comunidade de potenciais herbívoros entre os pares congêneros foi descrita por meio dos seguintes parâmetros de comunidade: composição (catálogo dos táxons), abundância total (número de indivíduos de cada grupo taxonômico), abundância relativa (abundância de cada táxon sobre a abundância total multiplicado por 100), riqueza (número de táxons), diversidade (índice de Shannon), dominância (índice de Berger-Parker) e atividade sazonal (ocorrência de cada morfoespécie ao longo do ano).

A diversidade de ordens da comunidade de insetos e da comunidade de potenciais insetos herbívoros entre as áreas estudadas e entre os pares congêneros foi comparada pelo teste t de diversidade Shannon.

O *ranking* de abundância das ordens foi elaborado para verificar a distribuição gráfica da frequência das espécies por classes de número de indivíduo, permitindo visualizar a riqueza e a distribuição quantitativa dos indivíduos por táxon.

A eficiência da amostragem das ordens de insetos no geral e entre as estações, e dos potenciais herbívoros nas duas áreas de estudo foi analisada com base em curvas de rarefação individual. Foi também utilizado o estimador de riqueza Jackknife baseado na incidência das espécies de potenciais herbívoros entre as duas áreas de estudo.

O coeficiente de similaridade de Bray-Curtis entre as comunidades de potenciais herbívoros nas duas áreas de estudo e nos pares congêneros foi

calculado levando-se em consideração a abundância dos táxons encontrados e foi construído um dendograma baseado nestes dados.

Levando-se em consideração as premissas implícitas nos testes estatísticos, foram conduzidos o teste não paramétrico de Mann-Whitney (U) para as comparações da abundância de ordens entre as áreas FOD e REST por método (armadilha colorida e guarda-chuva entomológico) e entre os métodos, da abundância de potenciais herbívoros entre as áreas FOD e REST, e da diversidade dos potenciais herbívoros entre os pares congênicos de plantas. O teste T pareado de Wilcoxon (W) foi utilizado para as comparações dos valores médios de abundância dos potenciais insetos herbívoros associados aos pares congênicos de plantas amostrados na FOD e REST.

As análises foram executadas utilizando o software PAST versão 2.17c (Hammer *et al.* 2001) e STATISTICA versão 7.0 (StatSoft, 2004). Todos os testes foram feitos ao nível de significância de 5%.

5.4 Resultados

5.4.1 Estrutura da comunidade da entomofauna

No total foram coletados 5.255 indivíduos de insetos na FOD e REST, constituído por 5.218 adultos e 37 imaturos, utilizando as duas metodologias (armadilha colorida e guarda-chuva). Os insetos amostrados pertencem a 13 ordens, sendo Diptera (37,8% dos indivíduos), Coleoptera (22,1%), Hymenoptera (19,4%) e Lepidoptera (11,5%) as mais abundantes. As demais ordens juntas compreendem 9,2% dos indivíduos coletados (Fig. 5.3).

A dominância de ordens foi maior na FOD (0,53) do que na REST (0,30), representado principalmente pela ordem Diptera que constituiu 20,2% dos espécimes (Fig. 5.3). A partir do gráfico de ranking/abundância foi observado que as estruturas das comunidades de insetos da FOD e REST foram determinadas pela forte dominância de Diptera, seguida de outras duas ordens (FOD) representando 30,5% dos indivíduos amostrados, enquanto na REST foram observadas quatro ordens com alta dominância e 60% dos indivíduos coletados. Todas as demais ordens apresentaram menos de 9,5% dos indivíduos (Fig. 5.4, Tab. 5.1).

A abundância média geral de indivíduos por ordem de insetos foi semelhante entre as áreas estudadas (FOD= 152 ± 290 indivíduos; REST= 253 ± 391 indivíduos), não diferindo significativamente (teste U= 82,0; p= 0,90). O mesmo foi observado quando comparado os valores médios por método de coleta (armadilha colorida, U= 82,5 p= 0,92 e guarda-chuva U= 73,5, p= 0,57) bem como entre as comunidades de insetos e os métodos amostrais (Teste U=80,0; p=0,82). Dentro das ordens de cada área estudada, Diptera, Hemiptera, Orthoptera, Blattaria e Thysanoptera apresentaram maior abundância de indivíduos na FOD comparativamente à REST, enquanto que Coleoptera, Hymenoptera e Lepidoptera foram a mais abundante na REST. As demais ordens apresentaram a abundância inferior a dez indivíduos, sendo Dermaptera exclusiva na FOD e Isoptera na REST, contendo um indivíduo cada (Tab. 5.1).

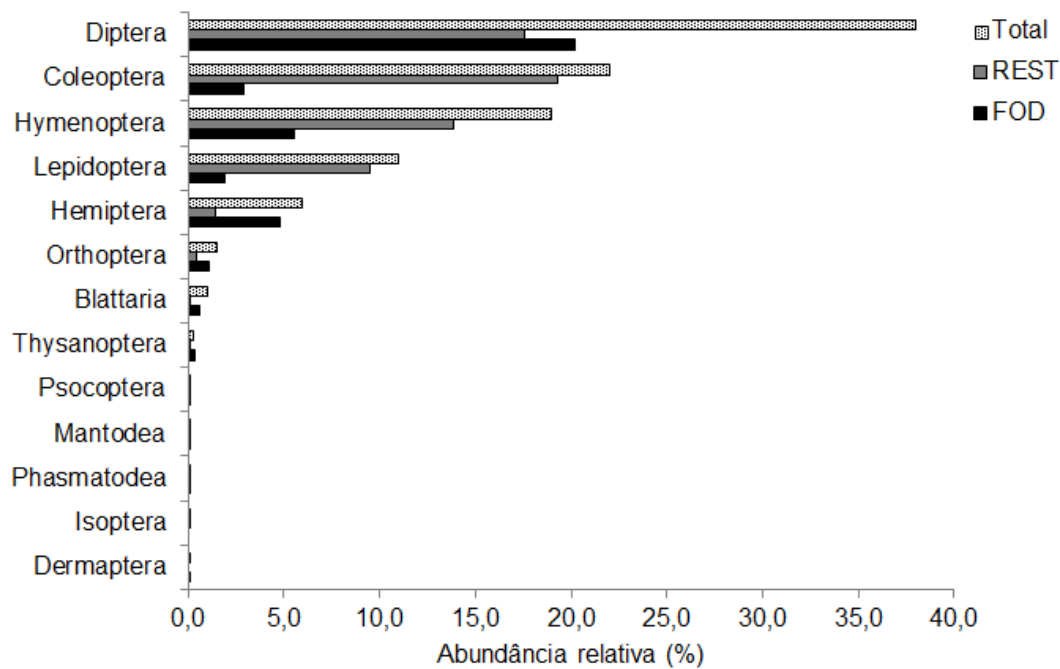


Figura 5. 3. Abundância relativa (%) das ordens de insetos amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural Caruara (REST) em São João da Barra e o total amostrado na FOD e REST.

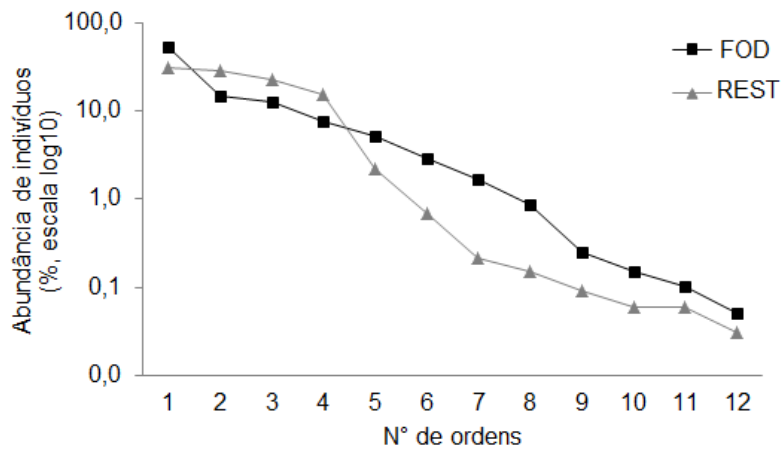


Figura 5. 4. *Ranking* de abundância para a comparação da composição das comunidades de insetos amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra.

Tabela 5. 1. Número de indivíduos, abundância total e relativa das ordens de insetos coletados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra, utilizando a armadilha colorida e guarda-chuva entomológico. Ausência de diferença estatística entre áreas para cada método e para a abundância total entre as áreas (FOD e REST), Teste Man-Whitney, $p \geq 0,05$, $N = 13$.

Ordens de Insecta	Armadilha colorida		Guarda-chuva		Abundância Total		Abundância total
	FOD	REST	FOD	REST	FOD	REST	FOD + REST
Blattaria	6	0	27	7	33	7	40
Coleoptera	86	801	65	211	151	1012	1163
Dermaptera	0	0	1	0	1	0	1
Diptera	1054	924	6	1	1060	925	1985
Hemiptera	225	37	28	36	253	73	326
Hymenoptera	139	170	151	559	290	729	1019
Isoptera	0	0	0	1	0	1	1
Lepidoptera	69	373	33	127	102	500	602
Mantodea	0	0	2	5	2	5	7
Orthoptera	11	1	45	22	56	23	79
Phasmatodea	0	0	3	2	3	2	5
Psocoptera	0	3	5	0	5	3	8
Thysanoptera	7	1	10	1	17	2	19
Total	1597	2310	376	972	1973	3282	5255

A curva de rarefação estimada para as ordens tendenciou a assíntota, indicando que as amostragens realizadas na FOD e REST foram próximas ao valor total da comunidade (Fig. 5.5). A sobreposição entre os intervalos de confiança das curvas indicam que não existe diferença na riqueza de ordens entre as áreas estudadas. Com relação ao índice de diversidade de Shannon para as ordens, não houve diferença significativa entre FOD (1,47) e REST (1,50) (Teste t de diversidade de Shannon=-1,00; p= 0,31). Todavia, o índice de dominância de ordens foi maior na FOD (0,53) do que na REST (0,30), representado principalmente pela ordem Diptera que constituiu 20,2% dos espécimes.

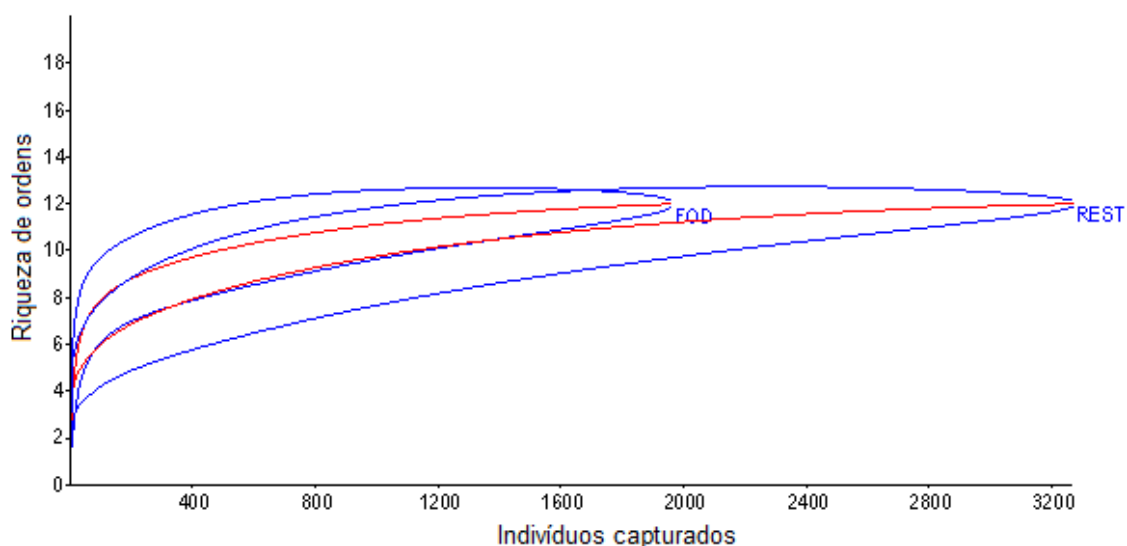


Figura 5. 5. Curvas de rarefação (vermelho) para riqueza de ordens de insetos em função da abundância de indivíduos na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST), capturados com armadilha colorida e guarda-chuva entomológico (linhas azuis= IC 95%).

5.4.2 Sazonalidade da abundância e riqueza das ordens de insetos

Ao analisar a sazonalidade e a abundância das ordens, a estação seca apresentou maior abundância de ordens, com 3.169 indivíduos, comparado à estação chuvosa que apresentou 2.735 indivíduos (Tab. 5.2). Na estação chuvosa, FOD e REST apresentaram o mesmo número de ordens e semelhança na abundância de indivíduos. Quando se analisa a curva de

rarefação gerada para esta estação, percebe-se um padrão muito distinto daquele observado para a estação seca, quando FOD apresentou maior riqueza de ordens e menor abundância de indivíduos que a REST (Fig. 5.6).

Tabela 5. 2. Abundância e riqueza das ordens de insetos amostradas na armadilha colorida (PT) e no guarda-chuva (GC) na estação seca (SE) e chuvosa (CH) de 2013 e 2015.

Técnica Amostrada	Estação/Ano (FOD/REST)	FOD		REST	
		Abundância	Riqueza	Abundância	Riqueza
GC	CH/2013	6	5	20	5
GC	CH/2015	116	10	391	10
PT	CH/2015	912	8	643	9
GC	SE/2013	56	7	58	4
GC	SE/2015	199	13	504	8
PT	SE/2015	684	8	1666	7

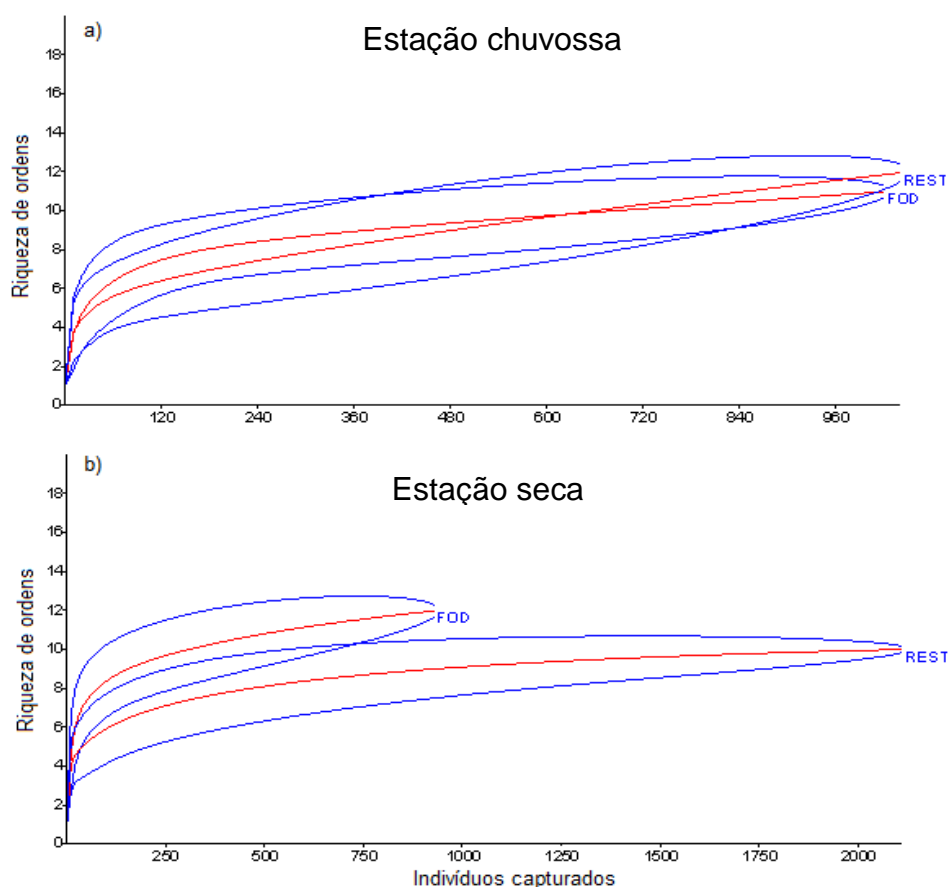


Figura 5. 6. Curvas de rarefação (vermelho) para riqueza de ordens de insetos em função da abundância de indivíduos na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST) nas estações chuvosa (a) e seca (b), capturados com armadilha colorida e guarda-chuva entomológico (linhas azuis= IC 95%).

5.4.3 Potenciais insetos herbívoros

Das quatro ordens de potenciais insetos herbívoros mastigadores, foram amostrados 1.849 indivíduos de 182 morfoespécies, utilizando os dois métodos de amostragens (Tab. 5.3). As ordens mais abundantes foram Coleoptera, seguida de Lepidoptera, Orthoptera e Phasmatodea. A abundância média de indivíduos por ordem de potenciais insetos herbívoros foi significativamente maior para REST (384 ± 478) do que FOD (78 ± 63) (teste U= 11.345, $p < 0,0001$).

Dentre os Coleoptera, cerca de 30% (FOD) e 20% (REST) das morfoespécies pertence à família Chrysomelidae, com abundância 27% e 2,7%, respectivamente. Os imaturos da ordem Lepidoptera amostrados na REST foram pertencentes a 67% de morfoespécies de vida livre que constroem algum tipo de abrigo ou proteção, constituído por folhas juntamente com fezes e/ou seda.

As curvas de acumulação de morfoespécies estimadas para os potenciais herbívoros não atingiu a assíntota em nenhuma das duas áreas estudadas (Fig. 5.7). Em FOD observa-se tendência exponencial da curva, indicando que FOD teria número muito maior de morfoespécies não amostrados neste estudo. A partir do estimador de Jackknife, verificou-se que 70% da riqueza de morfoespécies foram amostradas no presente estudo, sugerindo que a composição e riqueza de morfoespécies obtidas são bem representativas dos potenciais insetos herbívoros. O índice de diversidade de Shannon mostrou diferença significativa entre FOD (3,16) e REST (2,37) (Teste t de diversidade de Shannon= 7,05; $p < 0,0001$). O valor para o índice de Dominância de Berger & Parker (BP) foi maior para REST (0,45) comparativamente a FOD (0,15), influenciado pela alta abundância relativa de Coleoptera na REST, onde Nitidulidae, por exemplo, representou 45% dos indivíduos. A similaridade da comunidade de potenciais insetos herbívoros entre as áreas estudadas (FOD e REST) foi de 20%.

Tabela 5. 3. Abundância (e riqueza) de potenciais herbívoros amostrados em armadilha colorida e guarda-chuva na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Rebio União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga (REST) da RPPN Caruara em São João da Barra.

Ordens de insetos	Armadilha colorida		Guarda-chuva		Total
	FOD	REST	FOD	REST	
Coleoptera	86 (13)	801 (23)	65 (23)	211(41)	1163 (76)
Lepidoptera	69 (16)	373 (36)	33 (20)	127 (32)	602 (92)
Orthoptera	11 (3)	1 (1)	45 (5)	22 (5)	79 (9)
Phasmida	0	0	3 (3)	2 (2)	5 (5)
Total	166 (60)	1175 (60)	146 (51)	362 (80)	1849 (182)

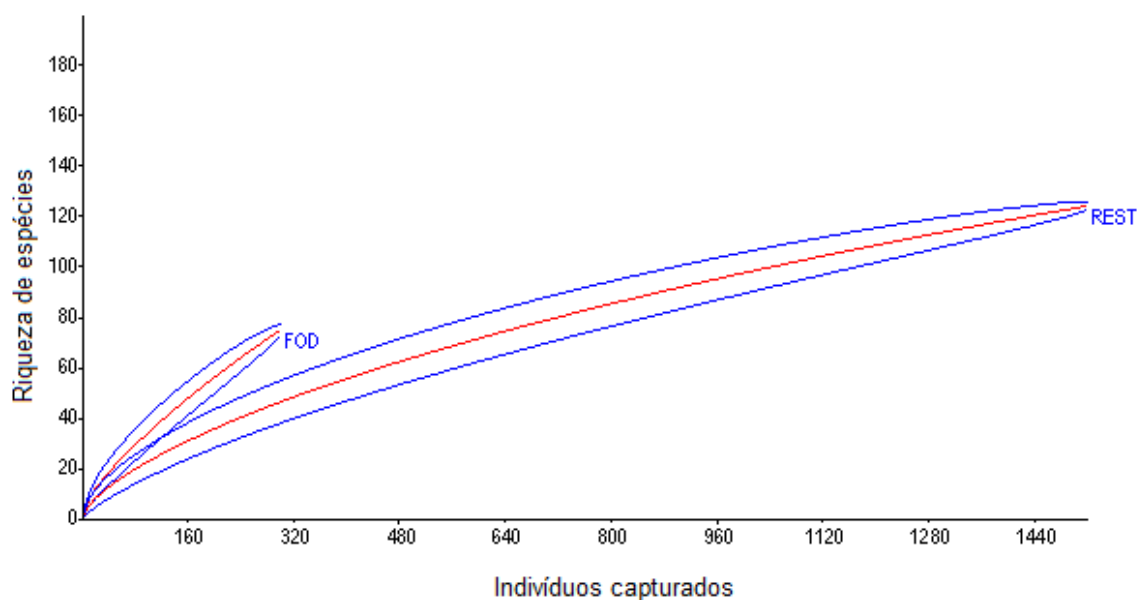


Figura 5. 7. Curvas de rarefação (vermelho) para espécies de potenciais herbívoros em função da abundância de indivíduos capturados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na Mata de Restinga (REST), utilizando armadilha colorida e guarda-chuva entomológico (linhas azuis= IC 95%).

5.4.4 Insetos herbívoros associados aos pares congêneros de plantas

A partir das análises da comunidade de potenciais insetos herbívoros mastigadores associados aos pares congêneros coocorrentes na FOD e REST e amostrados pelo método de guarda-chuva entomológico, foi observada maior abundância e riqueza de insetos nestas plantas na REST ($36,2 \pm 28,0$ e $13,2 \pm 6,0$, respectivamente) do que na FOD ($14,6 \pm 4,4$ e $7,7 \pm 2,0$,

respectivamente), sendo estas diferenças estatisticamente significativas (abundância: $W= 3,0$, $p= 0,01$; riqueza: $W= 2,5$, $p= 0,02$) (Tab. 5.4). Oito dos 10 pares congêneros estudados apresentaram maior abundância e riqueza de herbívoros na REST quando comparados com os da FOD (Tab. 5.5).

Ao comparar os potenciais insetos herbívoros entre os gêneros de plantas de cada área estudada, foi verificado que na FOD houve pouca variação na abundância de herbívoros, sendo que a amplitude variou entre seis (em *Cupania*) e 20 herbívoros (*Inga*). Na REST houve ampla variação na abundância de herbívoro, sendo que *Ficus*, *Inga*, *Guapira* e *Annona* apresentaram maior abundância ($n \geq 40$), enquanto que *Cecropia* apresentou menor abundância de herbívoros ($n= 5$) (Tab. 5.5).

Na FOD, a maior riqueza de potenciais herbívoros foi observada em *Annona* ($n= 12$), e a menor em *Cupania* e *Guapira* ($n= 5$). *Ficus*, *Inga* e *Guapira* da REST apresentaram os mesmos valores de riqueza ($n= 21$), sendo estes valores maiores quando comparados com os valores encontrados para as demais plantas (Tab. 5.5).

Comparando-se os índices de diversidade de Shannon entre os pares congêneros, foi encontrada diferença significativa somente para os insetos associados a *Ficus*, sendo mais diversos na REST (Teste t de diversidade de Shannon= $-2,39$, $p=0,02$). A diversidade dos potenciais insetos herbívoros nos demais pares congêneros não diferiram entre si ($p>0,05$) (Tab. 5.5).

Na FOD, *Inga* e *Tapirira* apresentaram maior abundância de Coleoptera (13 e 14, respectivamente), sendo menos abundantes em *Guapira* ($n= 3$) desta mesma área. Na REST, em oito dos 10 gêneros de plantas foram coletados altos valores de abundância de Coleoptera ($n>10$ indivíduos), enquanto que em apenas dois gêneros (*Cecropia* e *Eugenia*) os valores de abundância de Coleoptera foram menores que 10 indivíduos. Com relação aos indivíduos de Lepidoptera amostrados em plantas das FOD, gêneros como *Annona* e *Byrsonima* apresentaram maior abundância ($n= 8$ cada), com os demais gêneros apresentando abundância de Lepidoptera inferior a 10 indivíduos. Na REST, *Ficus* e *Guapira* foram os gêneros de plantas que apresentaram os maiores valores de abundância de Lepidoptera, e *Cecropia* foi o gênero que apresentou apenas um indivíduo de Lepidoptera. Na FOD, houve maior abundância de Orthoptera em *Eugenia*, *Ficus* e *Miconia* ($n>9$) e não foi

encontrado nenhum indivíduo de Orthoptera em *Cupania* desta mesma área. *Tapirira* da REST foi o gênero com maior abundância de Orthoptera, e não foi amostrado indivíduos de Orthoptera para *Cecropia* e *Cupania* da REST. A ocorrência de Phasmatodea foi rara em pares congêneros da FOD e REST, com apenas um indivíduo de Phasmatodea em *Cupania*, *Eugenia* e *Guapira* da FOD, e em *Inga* e *Guapira* da REST (Tab. 5.6).

Tabela 5. 4. Valores de abundância e riqueza (média \pm desvio padrão) dos potenciais insetos herbívoros mastigadores associados aos pares congêneros de plantas da Floresta Ombrófila Densa (FOD) e da Mata de Restinga (REST). Teste pareado de Wilcoxon (W), $p < 0,05$. N= 10.

	FOD	REST	W	P
Abundância	14,6 \pm 4,4	36,2 \pm 28,0	3,0	0,01
Riqueza	7,7 \pm 2,0	13,2 \pm 6,0	2,5	0,02

Tabela 5. 5. Abundância e riqueza total, e índice de diversidade de Shannon (H') dos potenciais insetos herbívoros associados aos pares congêneros de plantas situados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga (REST) da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara em São João da Barra. *Indica diferença significativa entre as áreas. Teste t de diversidade de Shannon, $p < 0,05$.

Gênero	FOD			REST		
	Abundância	Riqueza	H'	Abundância	Riqueza	H'
<i>Annona</i>	16	12	1,90	40	21	2,11
<i>Ficus</i>	16	8	1,59	102	21	2,05*
<i>Cecropia</i>	10	8	1,70	5	4	1,35
<i>Inga</i>	20	8	1,58	55	21	1,82
<i>Byrsonima</i>	16	8	1,63	31	13	1,75
<i>Cupania</i>	6	5	1,47	18	10	1,78
<i>Tapirira</i>	18	7	1,31	26	14	1,81
<i>Eugenia</i>	17	9	1,52	11	9	1,74
<i>Miconia</i>	17	7	1,66	25	10	1,55
<i>Guapira</i>	10	5	1,37	49	9	1,46

Tabela 5. 6. Abundância (riqueza) dos potenciais insetos herbívoros associados aos pares congêneros de plantas situados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra.

Gênero	FOD				REST			
	Coleoptera	Lepidoptera	Orthoptera	Phasmatodea	Coleoptera	Lepidoptera	Orthoptera	Phasmatodea
<i>Annona</i>	5 (4)	8 (6)	3 (2)	0	23 (11)	14 (8)	3 (2)	0
<i>Ficus</i>	5 (3)	2 (2)	9 (3)	0	61 (14)	37 (5)	4 (2)	0
<i>Cecropia</i>	6 (5)	2 (2)	2 (1)	0	4 (4)	1 (1)	0	0
<i>Inga</i>	13 (3)	4 (3)	3 (2)	0	33 (9)	17 (8)	4 (3)	1 (1)
<i>Byrsonima</i>	5 (4)	8 (3)	3 (1)	0	25 (9)	5 (3)	1 (1)	0
<i>Cupania</i>	4 (3)	1 (1)	0	1 (1)	15 (6)	4 (4)	0	0
<i>Tapirira</i>	14 (3)	3 (3)	1 (1)	0	11 (8)	9 (4)	6 (1)	0
<i>Eugenia</i>	4 (4)	2 (2)	10 (1)	1 (1)	7 (7)	3 (1)	1 (1)	0
<i>Miconia</i>	6 (4)	2 (1)	9 (3)	0	21 (7)	3 (2)	1 (1)	0
<i>Guapira</i>	3 (2)	1 (1)	5 (1)	1 (1)	12 (4)	34 (3)	2 (1)	1 (1)

A partir da análise de similaridade utilizando o coeficiente de *Bray-Curtis* foi verificado que a fauna de potenciais insetos herbívoros, de modo geral, parece ser semelhante entre os pares congêneros de plantas coocorrentes da FOD e da REST, com exceção do gênero *Ficus* da REST que foi o mais divergente (< 30% de similaridade), sendo responsável pela formação de dois grandes grupos de potenciais herbívoros. A similaridade dentro destes dois grupos variou em torno de 40 a 50%, com um total de cinco grupos de similaridade da comunidade de potenciais herbívoros em suas plantas hospedeiras. O primeiro grupo compreendeu maior similaridade entre a fauna de *Annona* e *Byrsonima* de ambos os ambientes. O segundo grupo foi representado pela maior similaridade de insetos de *Cecropia* da REST e *Cupania* da FOD, tendo proximidade com *Cecropia* da FOD. O terceiro grupo compreendeu maior similaridade entre *Cupania* da REST e *Eugenia* da FOD, ambos tendo proximidade maior com *Eugenia* da REST, seguido de *Ficus* da FOD. O quarto grupo foi representado por maior similaridade entre *Inga* da FOD e da REST, tendo maior proximidade a *Guapira* da REST. O quinto grupo compreendeu maior similaridade entre *Miconia* da FOD e REST, com maior proximidade de *Tapirira* da FOD, de *Tapirira* da REST (Fig. 5.8).

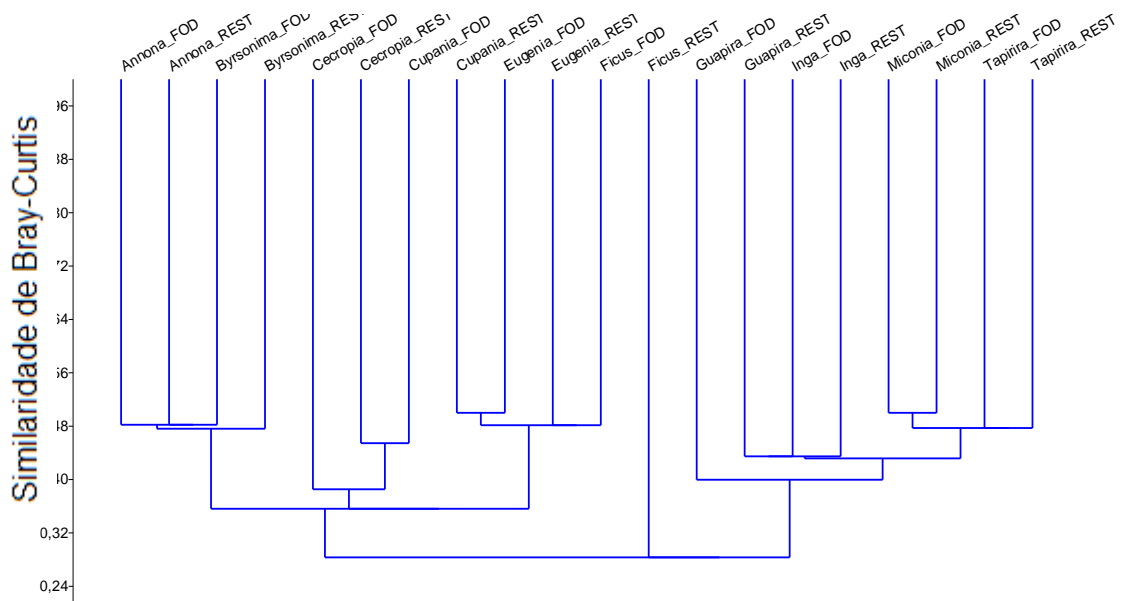


Figura 5. 8. Dendrograma representativo da similaridade (coeficiente de *Bray Curtis*) entre as comunidades de potenciais herbívoros amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) da Reserva Biológica União em Rio das Ostras e na Mata de Restinga da Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Caruara (REST) em São João da Barra.

5.5 Discussão

A composição das ordens de insetos observada neste estudo assemelha-se à obtida em outros ecossistemas tropicais, tanto florestas (Thomazini & Thomazini, 2002; Azevedo *et al.*, 2015; Lopes *et al.*, 2015) quanto restingas (Oliveira *et al.*, 2006; Marques, 2013). A análise da estrutura das comunidades de insetos entre FOD e REST do presente estudo revelou que o número e composição de ordens não diferiram entre as áreas, sendo Diptera a ordem mais abundante, seguida de Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera e Hemiptera. Este padrão tem sido observado em outros estudos na Mata Atlântica. No estudo de Paz e Pigozzo (2012), com armadilhas coloridas no solo, Diptera (47%) e Hymenoptera (43%) também foram as ordens mais abundantes na Mata Atlântica, ao passo que Hymenoptera (82%) foi mais abundante na Restinga. Souza *et al.* (2008) trabalhando em REST e Camara *et al.* (2012) em FOD, também encontraram maior abundância de Hymenoptera e Diptera. Vale destacar que as ordens Diptera, Hymenoptera e Coleoptera são

consideradas megadiversas e juntas representam cerca de 80% da Classe Insecta (Oliveira *et al.*, 2006; Triplehorn e Johnson, 2011).

A partir da análise da curva de rarefação, a partir de 160 indivíduos, a riqueza de morfoespécie foi maior na FOD. Neste sentido, o ambiente de FOD por ser mais úmido, ter temperatura mais amena, apresentar maior variedade de micro-habitat e estratificação da vegetação, pode estar favorecendo a maior riqueza de morfoespécies de potenciais herbívoros, bem como de outros Arthropoda encontrados nesta área (Langellotto & Denno, 2004; Paz & Pigozzo, 2012; Santos *et al.*, 2016).

Estudos têm relatado que diferenças na estrutura das florestas e/ou na textura e fertilidade dos solos influenciam na composição da comunidade de Arthropoda (Neves *et al.*, 2013; Lamarre *et al.*, 2015). Maior riqueza e abundância da fauna de insetos herbívoros e predadores foi relatada por diversos autores nos habitats de solos argilosos (ricos em recursos e possivelmente com maior partição de nichos como alimento e espaço) comparativamente aos solos arenosos (pobres em recursos) (Fine *et al.*, 2013; Lamarre *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2016). Cabe destacar que a área de FOD comparativamente à REST, possui solos de melhor qualidade como altas concentrações de nutrientes e baixa saturações por alumínio (Marques *et al.*, 2015), além de maior diversidade da flora (Assumpção & Nascimento, 2000; Carvalho *et al.* 2007).

A maior abundância de potenciais herbívoros na REST pode estar relacionada a diferentes fatores como: condições climáticas mais extremas e menor competição poderiam favorecer algumas espécies tolerantes e que passam a ter alta abundância e dominância na restinga. Além disso, é possível que interferências antrópicas possam estar atuando nesta comunidade de potenciais herbívoros. Um estudo que analisou o efeito da perturbação antropogênica sobre a comunidade de Coleoptera em ambientes de restinga encontrou maior riqueza e diversidade de espécies em pontos de amostragens antropizados (Heusi-Silveira *et al.*, 2012).

Na área de FOD, a abundância e riqueza da comunidade de insetos não variaram muito entre as estações seca e chuvosa. Este padrão pode ser explicado devido à ausência de sazonalidade marcante na precipitação entre as estações seca e chuvosa, embora a temperatura tenha apresentado valores

maiores na estação chuvosa (vide capítulo 2 para maiores detalhes dos dados climáticos). Além disso, o período de 2015, o qual compreendeu a maior parte da amostragem de insetos, apresentou uma estação chuvosa atípica com menores valores precipitação, possivelmente influenciando a estrutura de comunidade destes insetos. Contudo, na REST a abundância de insetos foi maior na estação seca e a riqueza de ordens maior na chuvosa. A maior abundância de Arthropoda na estação seca também já foi observada por Marques (2013), que considerou que a chuva possivelmente atuou na retirada (lavagem) dos insetos Arthropoda no solo e galhos das árvores. Ainda analisando as ordens mais abundantes encontradas, Oliveira *et al.*, 2006 observaram que Diptera, Hymenoptera e Lepidoptera ocorreram com mais frequência nos meses de maior precipitação e temperaturas mais amenas conforme observado para o ano de 2015.

A partir do *ranking* de abundância de ordens foi observada uma distribuição do tipo geométrica em ambas as áreas, com poucas ordens abundantes e muitas ordens representadas por poucos ou apenas um indivíduo. Este resultado é esperado quando comparado com outros estudos de diversidade de Arthropoda nos trópicos, com muitas espécies raras e poucas comuns (Whittaker, 1972; Santos *et al.*, 2016).

Apesar da ordem Diptera, que foi a mais abundante na FOD, não compreender os insetos mastigadores de folhas, esta ordem é reconhecida por conter o maior número de espécies indutoras de galhas em plantas (Gullan & Cranston, 2007). Apesar da sobrevivência de Diptera dentro de galhas ser associada a maior esclerofilia foliar (comum em ambiente xérico), os maiores valores de abundância destes insetos foram encontrados na vegetação não esclerófila (comum em ambiente méxico). Este fato não indica necessariamente maior abundância de galhas na FOD, visto que pode haver menor sobrevivência de galhas devido à morte provocada por ataques de outros herbívoros e seus inimigos naturais em vegetação com menor esclerofilia foliar como a FOD (Fernandes & Price, 1988; Ribeiro & Basset, 2007; Santos *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2014b; Ribeiro *et al.*, 2014).

Cabe destacar que a ordem Coleoptera foi a mais abundante (cerca de seis vezes) e mais rica na REST. Um levantamento sobre comunidade de Coleoptera em bromélias *Hohenbergia augusta* (Vell.) E. Morren e *Vriesea*

friburgensis (Mez) de Ombrófila Densa e Restinga revelou maior abundância em bromélias da Restinga, porém maior riqueza em bromélias da Floresta Ombrófila (Albertoni *et al.*, 2016). A ordem Coleoptera apresenta hábitos alimentares variados, sendo a maioria das espécies fitófagas, predadoras ou fungívoras (Carrano-Moreira, 2015). Dentre os Coleoptera, a família Chrysomelidae, considerada importante ecológico e economicamente por ser essencialmente herbívora mastigadora de folhas (Marinoni *et al.*, 2001; Jolivet & Verma, 2002; Beenen & Roques, 2010; Paul *et al.*, 2012; Silva & Neves, 2014), apresentou maior riqueza e abundância de morfoespécies na FOD.

Apesar de estudos encontrarem maior riqueza e/ou abundância de Lepidoptera em área de Floresta Ombrófila Densa do que restinga (Bellaver *et al.*, 2012; Marchiori *et al.*, 2014; Nuñeza *et al.*, 2016), este padrão não foi observado no presente estudo, visto que foi verificada maior riqueza e abundância para a REST.

O comportamento de construção de abrigos para Lepidoptera foi observado somente para as morfoespécies de Lepidoptera na REST. Porém, cabe destacar que a grande maioria das lagartas coletadas na FOD morreu após a coleta, inviabilizando o acompanhamento do comportamento e a descrição de algum padrão. Essa alta porcentagem de espécies de Lepidoptera utilizando-se de abrigos é observado, principalmente, em ambientes que apresentam condições climáticas mais severas, como restinga e cerrado, sendo as porcentagens de Lepidoptera vivendo no interior de algum tipo de abrigo variam entre 56 e 70% (Diniz & Morais, 1997; Flinte *et al.*, 2006; Monteiro *et al.*, 2007). Vários estudos têm sugerido a construção de abrigos por lagartas como forma de proteção de escape de inimigos naturais e contra a dessecação provocada pela insolação e ventos fortes (Diniz & Morais, 1997; Jones *et al.*, 2002; Flinte *et al.*, 2006; Monteiro *et al.*, 2007; LoPresti & Morse, 2013; Covarrubias-Camarillo *et al.*, 2016).

Embora os resultados tenham revelado uma baixa similaridade geral entre as comunidades de potenciais insetos herbívoros da FOD e REST (20%), os valores de similaridade das comunidades de potenciais herbívoros associados aos pares congêneros de plantas coocorrentes da FOD (mésico) e REST (xérico) foram altos, indicando que a composição e diversidade de insetos herbívoros são muito similares dentro dos gêneros de plantas

estudados (40-50%). Este resultado sugere que, de modo geral, plantas filogeneticamente relacionadas (pares congênericos) tendem a ter herbívoros comuns independentemente do ambiente de ocorrência na Mata Atlântica.

A espécie *Byrsonima sericea* que coocorreu em ambas as áreas estudadas, apresentou alta similaridade na comunidade de potenciais insetos herbívoros (50%). Contudo, comparações entre as lagartas de Lepidoptera associadas a *B. sericea* no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba com outras espécies de *Byrsonima* do Cerrado mostrou uma baixa similaridade de lagartas, variando entre 13% a 26%, apesar da riqueza de espécies serem similares (Diniz & Morais, 1997; Flinte *et al.*, 2006).

Um estudo sobre a distribuição de insetos herbívoros em várias espécies congênericas da planta *Acer* (Sapindaceae) encontrou uma correlação significativa entre a distribuição de insetos, filogenia, atributos foliares e distribuição de plantas hospedeiras (Nakadai *et al.*, 2014). Os autores supracitados verificaram que a dissimilaridade da comunidade de herbívoros aumentou de acordo com o aumento da distância fitogenética das plantas hospedeiras. Estes autores concluíram em seus estudos que processos históricos e ecológicos definem a comunidade de insetos herbívoros existentes. Embora o sinal filogenético não tenha sido mensurado no presente estudo, espécies fortemente relacionadas filogeneticamente (congênericas), apresentaram alta similaridade na comunidade de potenciais herbívoros entre as áreas. Neste sentido, os resultados do presente estudo sugerem que a filogenia pode estar influenciando mais na distribuição dos potenciais insetos herbívoros em plantas do que os fatores ambientais.

5.6 Conclusão

As áreas (FOD e REST) apresentaram valores semelhantes quanto à abundância e riqueza geral de ordens de insetos. Entretanto, com relação aos potenciais insetos herbívoros, a FOD apresentou maior riqueza e diversidade de morfoespécies do que REST, corroborando a hipótese testada. Porém, quando comparados dentro dos pares congênericos, REST apresentou valores maiores de riqueza e abundância do que FOD na grande maioria dos casos. Desta forma, a hipótese de que maiores valores de riqueza e diversidade de

espécies de potenciais insetos herbívoros mastigadores são esperados em Floresta Ombrófila Densa, devido às características do clima (mais úmido e menos quente) e a complexidade estrutural da floresta, não foi corroborada em nível de pares congêneros. Os resultados sugerem também que a filogenia parece influenciar mais na distribuição dos potenciais insetos herbívoros em plantas da Mata Atlântica do que os fatores ambientais.

CAPÍTULO VI. DISCUSSÃO GERAL

A média geral dos valores de herbivoria foliar foi maior para as espécies da FOD que da REST. Ao comparar os valores de herbivoria dos pares congêneros coocorrentes nas duas áreas, foi verificado que os valores foram similares ou maiores para os gêneros amostrados na FOD. Este resultado foi associado a melhor qualidade foliar e menores investimentos em compostos de defesas das espécies da FOD comparativamente as espécies da REST. O resultado encontrado já foi relatado em vários estudos que avaliaram a influência da qualidade foliar na alimentação dos insetos herbívoros (Cornelissen & Fernandes, 2001; Meloni *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2012; Bisigato *et al.*, 2015; Caldwell *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2015).

Nas análises químicas de infravermelho (IV) foram verificados diferenças nos perfis metabólicos entre os pares congêneros de plantas amostrados na FOD e REST, apresentando, de modo geral, maior diversidade e intensidade de sinais de grupamentos químicos para os pares congêneros da REST, e mais intensos na estação seca. A partir das análises de RMN ¹H também foi possível verificar diferenças nos perfis químicos entre os pares congêneros, que juntamente com ACP foi observada uma nítida discriminação destes perfis, sendo esta discriminação observada somente para a estação chuvosa. A presença de metabólitos com substituintes contendo acetoxilas e metoxilas foi correlacionada principalmente com pares congêneros da FOD, sugerindo maior processo na redução de compostos hidroxilados (Gottlieb *et al.*, 1996; Dewick, 2008; Abreu *et al.*, 2010). Todavia, sinais de H de oleofínicos foram correlacionados com pares congêneros das REST, sugerindo a presença de terpenoides (triterpenos, diterpenos, sesqui- e mono terpenos), além de esteróides em maiores quantidades (Taiz & Zeiger, 2006; Trigo *et al.*, 2012).

Ao correlacionar os autovetores do primeiro (compreendendo principalmente sinais de alifáticos, açúcares e de aromáticos) e segundo eixo (compreendendo sinais de acetoxilas e metoxilas) da ACP dos dados de RMN ^1H dos pares congênericos da FOD e REST com os seus respectivos valores de herbivoria, não foi verificada correlação significativa, tanto para o primeiro eixo quanto para o segundo eixo da ACP de ambas as estações chuvosa (eixo 1: $r= 0,22$, $p= 0,36$; eixo 2: $r= -0,27$, $p= 0,24$) e seca (eixo 1: $r= -0,17$, $p= 0,46$; $r= 0,048$, $p= 0,84$) (Fig. 6.1). As análises de RMN ^1H , detectam todos os metabólitos produzidos ou modificados de um determinado organismo (Villas Bôas & Gombert, 2006; Funari *et al.*, 2013). Neste sentido, a mistura de substâncias em um extrato bruto, produzindo sinais de diferentes substâncias, pode estar dificultando a identificação de correlações significativas entre os valores de herbivoria e os eixos da ACP.

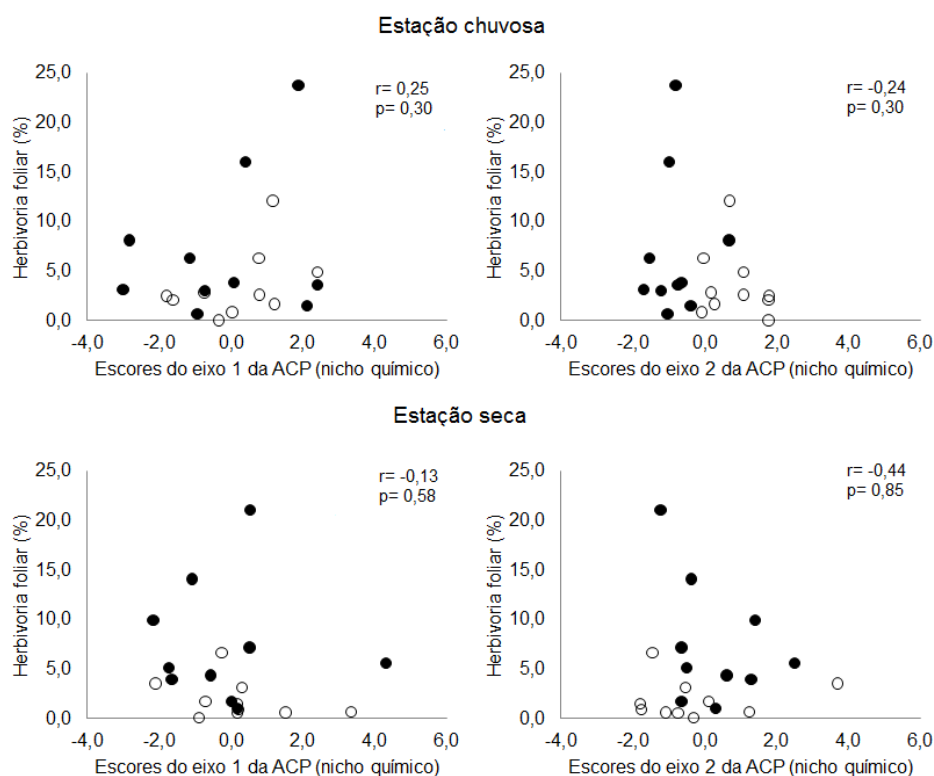


Figura 6. 1. Relação entre herbivoria foliar média (%) e os escores dos eixos 1 (a) e 2 (b) da análise de componentes principais (ACP) dos dados de RMN dos pares congênericos de plantas coocorrentes na Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○) nas estações chuvosa e seca. Correlação de Pearson, $p > 0,05$. $N = 20$. Coeficiente de correlação de Pearson (r), $p > 0,05$.

No presente estudo também não foi verificada correlação significativa entre as comunidades de potenciais insetos herbívoros associados aos pares congêneros de plantas amostradas na FOD e REST e seus respectivos valores de herbivoria foliar média, tanto para a abundância ($r = -0,29$; $p = 0,41$) quanto para a riqueza de morfoespécies ($r = -0,43$; $p = 0,21$) (Fig. 6.2). Este resultado sugere que não existe uma relação direta significativa entre os valores médios de herbivoria e a abundância e/ou riqueza de morfoespécies de potenciais herbívoros encontrados nos pares congêneros nas duas áreas estudadas.

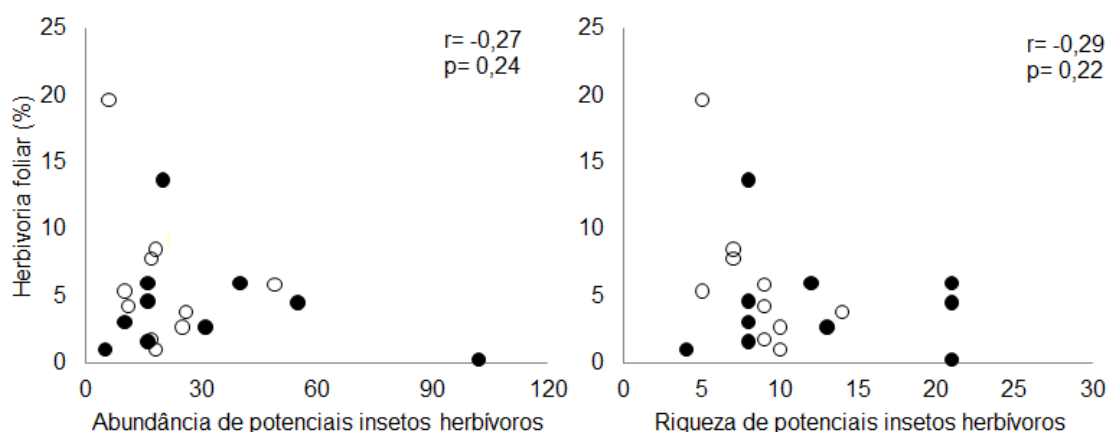


Figura 6. 2. Relação entre herbivoria foliar (%), abundância e riqueza de potenciais herbívoros amostrados nos pares congêneros de plantas estudados. Floresta Ombrófila Densa (●) e Restinga (○). N= 20. r= coeficiente de correlação de Pearson, $p > 0,05$.

Análises dos valores de herbivoria da FOD entre estações chuvosa e seca revelaram que não houve diferenças significativas no ranking de gêneros atacados entre as estações, com *Cupania*, *Inga*, *Tapirira* e *Miconia* sempre mais atacadas, enquanto que *Eugenia* e *Ficus* sempre pouco atacados. Este resultado, de modo geral, parece estar associado à baixa variação nos metabólitos especiais entre estações para esta área nos pares congêneros estudados. Neste sentido, são vários os fatores que influenciam na bioprodução de metabólitos especiais como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes entre outros (Bundy *et al.*, 2009; Rivas-Ubach *et al.*, 2012; Macel *et al.*, 2014). Classes de metabólitos especiais como alcaloides, terpenoides, compostos fenólicos (Trigo *et al.*,

2012) são consideradas importantes no estudo de interações inseto-planta, influenciando nos níveis de herbivoria dentro de espécies ou entre parentes próximos (Agrawal & Weber, 2015), conforme observado no presente estudo. Todavia, o *ranking* de gêneros atacados da REST variou entre estações, principalmente para *Annona*, sendo mais atacada na estação chuvosa, enquanto que na estação seca foi uma das que apresentaram menores valores de herbivoria. O gênero *Ficus* foi o menos atacado independente da área e estação, conforme supracitado (Tab. 6.1).

Tabela 6. 1. *Ranking* das porcentagens de herbivoria foliar dos pares congêneros de plantas amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Mata de Restinga (REST) nas estações chuvosa (maio/2013) e seca (setembro/2013). Cada cor representa um gênero de planta. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os gêneros dentro de cada coluna. ANOVA one-way ($p < 0,05$). N= 5.

FOD		REST		Herbivoria Mais
Estação chuvosa	Estação seca	Estação chuvosa	Estação seca	
Cupania _e	Cupania _d	Annona _d	Guapira _c	
Inga _{ed}	Inga _{cd}	Eugenia _{cd}	Eugenia _{bc}	
Tapirira _{bcd}	Tapirira _{bcd}	Guapira _{cd}	Inga _{bc}	
Miconia _{bc}	Miconia _{abc}	Inga _{bc}	Byrsonima _{ab}	
Cecropia _{ab}	Guapira _{abc}	Miconia _{abc}	Tapira _{ab}	
Guapira _{ab}	Annona _{abc}	Byrsonima _{abc}	Cupania _{ab}	
Annona _{ab}	Cecropia _{ab}	Tapirira _{abc}	Miconia _{ab}	
Byrsonima _{ab}	Byrsonima _{ab}	Cecropia _{abc}	Cecropia _{ab}	
Eugenia _a	Ficus _a	Cupania _{ab}	Annona _{ab}	
Ficus _a	Eugenia _a	Ficus _a	Ficus _a	

VII. CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados observados foi verificado que as porcentagens de herbivoria variaram entre FOD e REST, sendo de modo geral, similares ou maiores para a FOD. A melhor qualidade foliar, como maior concentração de nutrientes e menor bioprodução de metabólitos especiais na FOD comparativamente a REST, parece contribuir para os maiores valores de herbivoria para FOD, corroborando a hipótese testada. Embora a comunidade de potenciais insetos herbívoros tenha sido mais rica na FOD, esta se mostrou

mais abundante em pares congênericos da REST, corroborando parcialmente a hipótese de que a formação de diferentes microclimas na FOD permitiria a maior riqueza e abundância de insetos herbívoros. Entretanto, as plantas da REST são mais bem defendidas, apresentando menores valores de herbivoria que plantas da FOD.

Embora as composições de potenciais insetos herbívoros nos pares congênericos de plantas estejam relacionadas à filogenia destas, o ambiente e não a filogenia explicou melhor os padrões de herbivoria observados para as plantas da Mata Atlântica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, H.S.; Maria, M.A.; Monteiro, M.B.O.; Pereira, R.P.W.; Souza, K.C.A.; Silva, H.R.S. & Abreu, F.A. 2010. Evolução da Lignina de Gimnosperma 277-316p. *In: Kaplan, M.A.C.; Abreu, H.S.; Lima, H.R.P. & Soares, G.L.G. (eds.) Abordagem quimiossintemática e evolução química de fanerógamas*. Rio de Janeiro: Edur UFRRJ, 317p.
- Abubacker, M.N. & Deepalakshmi, T. 2013. In vitro antifungal potential of bioactive compound methyl ester of hexadecanoic acid isolated from *Annona muricata* Linn (Annonaceae) leaves. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 10: 879-884.
- Ackerly, D.D. 2003. Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences*, 164: 165-184.
- Adams, J.M.; Zhang, Y.; Basri, M. & Shukor, N. 2009. Do tropical forest leaves suffer more insect herbivory? A comparison of tropical versus temperate herbivory, estimated from leaf litter. *Ecological Research*, 24: 1381-1392.
- Agrawal, A.A. 2006. Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(2): 103-109.
- Agrawal, A.A. & Fishbein, M. 2006. Plant defense syndromes. *Ecology*, 87(7): 132-149.
- Agrawal, A.A. & Konno, K. 2009. Latex: a model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40: 311-331.
- Agrawal, A.A. 2011. Current trends in the evolutionary ecology of plant defence. *Functional Ecology*, 25: 420-432.
- Agrawal, A.A.; Petschenka, G.; Bingham, R.A.; Weber, M.G. & Rasmann, S. 2012. Toxic cardenolides: chemical ecology and coevolution of specialized plant-herbivore interactions. *New Phytologist*, 194: 28-45.
- Agrawal, A.A. & Weber, M.G. 2015. On the study of plant defence and herbivory using comparative approaches: how important are secondary plant compounds. *Ecology Letters*, 18: 985-991.
- Ahmed, A.L.; Bassem, S.E.M.; Mohamed, Y.H. & Gamila, M.W. 2010. Cytotoxic essential oil from *Annona sengalensis* Pers. leaves. *Pharmacognosy Research*, 2: 211-214.
- Ahmed, W.; Khan, A.Q. & Malik, A. 1988. Two triterpenes from the leaves of *Ficus carica*. *Planta Medica*, 54: 481-481.

- Aide, T.M. 1992. Dry season leaf production: an escape from herbivory. *Biotropica*, 24: 532-537.
- Aide, T.M. 1993. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. *Ecology*, 74: 455-466.
- Albertoni, F.F.; Steiner, J. & Zillikens, A. 2016. The associated beetle fauna of *Hohenbergia augusta* and *Vriesea friburgensis* (Bromeliaceae) in southern Brazil. *Journal of Natural History*, 50(47-48): 2917-2939.
- Ali, J.G. & Agrawal, A.A. 2012. Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*, 17(5): 293-302.
- Allen, S.E. 1989. *Chemical Analysis of Ecological Materials*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Almeida, Cm. 2016. *Avaliação in vitro dos potenciais antifúngico, antibiofilme e antiproliferativo do extrato da Guapira graciliflora Mart.* Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB. 86p.
- Alqasoumi, S.I.; Basudan, O.A., Al-Rehaily, A.J. & Abdel-Kader, M.S. 2014. Phytochemical and pharmacological study of *Ficus palmata* growing in Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 22: 460-471.
- Alves, E.P. 2015. *Atividades antimicrobiana, antibiofilme e antiproliferativa do extrato de Guaripa graciliflora Mart. e do óleo essencial de Schinus terebinthifolius RADDI.* Dissertação (Mestrado em Odontologia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB. 88p.
- Aly, H.I.; El-Sayed, A.B.; Gohar, Y.M. & Salem, M.Z. 2013. The Value-Added Uses of *Ficus Retusa* and *Dalbergia Sissoo* Grown in Egypt: GC/MS Analysis of Extracts. *Journal of Forest Products & Industries*, 2: 34-41.
- Amarquaye, A.; CHE, C.T.; BEJAR, E.; MALONE, M.H. & FONG, H.H. 1994. A new glycolipid from *Byrsonima crassifolia*. *Planta Medica*, 60: 85-86.
- Ameen, O.M.; Usman, L.A.; Oganija, F.S.; Hamid, A.A.; Muhammed, N.O.; Zubair, M.F. & Adebayo, S.A. 2011. Chemical composition of leaf essential oil of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae) growing in North Central Nigeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1): 375-379
- Andrade-Cetto, A. & Wiedenfeld, H. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 78: 145-149.
- Andrew, N.R.; Roberts, I.R. & Hill, S.J. 2012. Insect herbivory along environmental gradients. *Open Journal of Ecology*, 2: 202-213.

- Aoyama, E.M. & Labinas, A.M. 2012. Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. *Enciclopédia Biosfera*, 8: 365-386.
- Apple, J.L.; Wink, M.; Wills, S.E. & Bishop, J.G. 2009. Successional change in phosphorus stoichiometry explains the inverse relationship between herbivory and lupin density on Mount St. Helens. *PLoS One* 4(11): e7807.
- Arany, A.M.; Jong T.J.; Kim H.K.; Dan, N.M.; Choil, Y.H.; Verpoorte, R. & Meijden, E.V. 2008. Glucosinolates and other metabolites in the leaves of *Arabidopsis thaliana* from natural populations and their effects on a generalist and a specialist herbivore. *Chemoecology*, 18: 65-71.
- Araújo, D.S.D. 1992. Vegetation types of sandy coastal plains of tropical Brazil: a first approximation, 337-347p. In: Seeliger, U. (ed.). *Coastal plant communities of Latin America*. San Diego: Academic Press.
- Araújo, R.C.; Neves, F.A.; Formagio, A.S.; Kassuya, C.A.; Stefanello, M.E.; Souza, V.V., Pavan, F.R. & Croda, J. 2014a. Evaluation of the anti-mycobacterium tuberculosis activity and in vivo acute toxicity of *Annona sylvatic*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14: 1-10.
- Araújo, W.S. 2013. A importância de fatores temporais para a distribuição de insetos herbívoros em sistemas Neotropicais. *Revista da Biologia*, 10: 1-7.
- Araújo, W.S.; Santos, B.B.; Guilherme, F.A.G. & Scareli-Santos, C. 2014b. Gallling Insects in the Brazilian Cerrado: Ecological Patterns and Perspectives. *Neotropical Insect Galls*, 257-272p. In: Fernandes, G.W. & Santos, J.C. (ed.). New York: Springer. 550p.
- Armstrong, L. 2011. *Estudos morfoanatômico, fitoquímico e de atividades biológicas de folha e caule de Eugenia pyriformis Cambess., Myrtaceae*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 120p.
- Asner, G.P.; Martin, R.E.; Tupayachi, R.; Anderson, C.B.; Sinca, F.; Carranza-Jiménez, L., & Martinez, P. 2014. Amazonian functional diversity from forest canopy chemical assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111: 5604-5609.
- Assis, M.A.; Prata, E.M.B.; Pedroni, F.; Sanchez, M.; Eisenlohr, P.V.; Martins, F.R.; Santos, F.A.M.; Tamashiro, J.Y.; Alves, L.F.; Vieira, S.A.; Piccolo, M.C.; Martins, S.C.; Camargo, P.B.; Carmo, J.B.; Simões, E.; Martinelli, L.A. & Joly, C.A. 2011. Florestas de restinga e de terras baixas na planície costeira do sudeste do Brasil: vegetação e heterogeneidade ambiental. *Biota Neotropica*, 11: 103-121.

- Assumpção, J. & Nascimento, M.T. 2000. Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, 14(3): 301-315.
- Awmack, C.S. & Leather, S.R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47: 817-844.
- Azevedo, F.R.; Moura, E.S.; Azevedo, R.; Santos, C.M. & Nere, D.R. 2015. Inventário da entomofauna de ecossistemas da área de proteção ambiental do araripe com bandejas d'água amarelas. *Holos*, 3: 121-134.
- Baddini, A.L.Q.; Netto, A.D.P.; Teixeira, V.L. 2014. Metabolômica Baseada em RMN de ¹H e no Método dos Mínimos Quadrados Parciais Discriminante. *Revista Virtual de Química*, 6: 396-415.
- Badgujar, S.B.; Patel, V.V.; Bandivdekar, A.H. & Mahajan, R.T. 2014. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Ficus carica*: A review. *Pharmaceutical Biology*, 52(11): 1487-1503.
- Barbosa, L.C.A. 2007. *Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos*. Viçosa: Editora UFV, 189p.
- Barone, J.A. 1998. Host-specificity of folivorous insects in a moist tropical forest. *Journal Animal Ecology*, 67: 400-409.
- Barônio, G.J. 2012. Pilosidade foliar reduz herbivoria em folhas jovens e maduras de *Qualea multiflora* Mart. em cerrado *stricto sensu*. *Neotropical Biology and Conservation*, 7: 122-128.
- Basset, Y.; Kitching, R.; Miller, S. & Novotny, V. 2003. *Arthropods of tropical forests – spatio-temporal dynamics and resource use in the canopy*. Cambridge: University Press, 492p.
- Basudan, O.A.; Ilyas, M.; Parveen, M.; Muhisen, H.M. & Kumar, R. 2005. Note: A new chromone from *Ficus lyrata*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 7: 81-85.
- Baumgartner, B.; Erdelmeier, C.A.; Wright, A.D.; Rali, T. & Sticher, O. 1990. An antimicrobial alkaloid from *Ficus septica*. *Phytochemistry*, 29: 3327-3330.
- Beenen, R. & Roques, A. 2010. Leaf and seed beetles (Coleoptera, Chrysomelidae), 267-292p. In: Roques, A.; Kenis, M.; Lees, D.; Lopez-Vaamonde, C.; Rabitsch, W.; Rasplus, J.Y. & Roy, D.B. (Eds). *Alien Terrestrial Arthropods of Europe*. Moscow: Pensoft, 552p.
- Bejar, E.; Amarquaye, A.; Che, C.T.; Malone, M.H. & Fong, H.H. 1995. Constituents of *Byrsonima crassifolia* and their spasmogenic activity. *International Journal of Pharmacognosy*, 33: 25-32

- Bellaver, J.; Iserhard, C.A.; Santos, J.P.; Silva, A.K.; Torres, M.; Siewert, R.R., Moser, A. & Romanowski, H.P. 2012. Borboletas (Lepidoptera: Papilionoidea e Hesperioidea) de Matas Paludosas e Matas de Restinga da Planície Costeira da região Sul do Brasil. *Biota Neotropica*, 12(4): 181-190.
- Bishop, J.G.; O'hara, N.B.; Titus, J.H.; Apple, J. L.; Gill, R.A. & Wynn, L. 2010. N-P co-limitation of primary production and response of arthropods to N and P in early primary succession on Mount St. Helens volcano. *PLoS ONE*, 5: e13598.
- Bisigato, A.J.; Saín, C.L.; Campanella, M.V. & Cheli, G.H. 2015. Leaf traits, water stress, and insect herbivory: Is food selection a hierarchical process? *Arthropod-Plant Interactions*, 9: 477-485.
- Boege, K. & Marquis, R.J. 2005. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 20: 441-448.
- Branco-Vanegas, J.; Costa, G.M.; Ortmann, C.F.; Schenkel, E.P.; Reginatto, F.H.; Ramos, F.A.; Arévalo-Ferro, C. & Castellanos, L. 2014. Glycosylflavonoids from *Cecropia pachystachya* Trécul are quorum sensing inhibitors. *Phytomedicine*, 21: 670-675.
- Bruce, T.J. 2014. Interplay between insects and plants—dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. *Journal of Experimental Botany*, 66 (2): 455-465.
- Brunetti, C.; George, R.M.; Tattini, M.; Field, K. & Davey, M.P. 2013. Metabolomics in plant environmental physiology. *Journal of Experimental Botany*, 64(13): 4011-4020.
- Bryant, J.P.; Chapin, F.S. & Klein, D.R. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 40: 357-368.
- Bundy, J.G.; Davy, M. P. & Viant, M.R. 2009. Environmental metabolomics: a critical review and future perspectives. *Metabolomics*, 5: 3-21.
- Caldwell, E.; Read, J. & Sanson, G.D. 2016. Which leaf mechanical traits correlate with insect herbivory among feeding guilds. *Annals of Botany*, 117: 349-361.
- Campbell, S.A. 2015. Ecological mechanisms for the coevolution of mating systems and defence. *New Phytologist*, 205: 1047-1053.
- Campo, J. & Dirzo, R. 2003. Leaf quality and herbivory responses to soil nutrient addition in secondary tropical dry forests of Yucatan, Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 19: 525-530.
- Cárdenas, R.E.; Valencia, R.; Kraft, N.J.; Argoti, A. & Dangles, O. 2014. Plant traits predict inter- and intraspecific variation in susceptibility to herbivory in a hyperdiverse Neotropical rain forest tree community. *Journal of Ecology*, 102: 939-952.

- Cardoso, C.R.; Syllós Cólus, I.M.; Bernardi, C.C.; Sannomiya, M.; Vilegas, W. & Varanda E.A. 2006. Mutagenic activity promoted by amentoflavone and methanolic extract of *Byrsonima crassa* Niedenzu. *Toxicology*, 225: 55-63.
- Carmona, D.; Lajeunesse, M.J. & Johnson, M.T.J. 2011. Plant traits that predict resistance to herbivores. Evolutionary Ecology of Plant Defences. *Functional Ecology*, 25: 358-367.
- Carrano-Moreira, A.F. 2015. *Insetos: manual de coleta e identificação*. 2 ed. Rio de Janeiro: Technical Books. 369p.
- Carrillo-Gavilán, A.; Moreira, X.; Zas, R.; Gonzalez-Voyer, A.; Vilà, M. & Sampedro, L. 2015. Phylogenetic and biogeographical patterns in defensive strategies and quantitative allocation to chemical defences in Palaeartic and Nearctic pine trees. *Journal of Biogeography*, 42: 684-693.
- Carvalho, A.G. 2013. *Isolamento e identificação de compostos fenólicos em folhas de Eugenia uniflora L.* Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO. 44p.
- Carvalho, F.A.; Nascimento, M.T. & Braga, J.M.A. 2007. Estrutura e composição florística do estrato arbóreo de um remanescente de Mata Atlântica submontana no município de Rio Bonito, RJ, Brasil (Mata Rio Vermelho). *Revista Árvore*, 31: 717-730.
- Carvalho, F.A.; Nascimento, M.T. & Filho, A.T.O. 2008. Composição, riqueza e heterogeneidade da flora arbórea da bacia do rio São João, RJ, Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, 22(4): 929-940.
- Castillo-Avila, G.M.; García-Sosa, K.; & Pena-Rodriguez, L.M. 2009. Antioxidants from the leaf extract of *Byrsonima bucidaefolia*. *Natural Product Communications*, 4: 83-86.
- Castro, H.G.; Ferreira, F.A.; Silva, D.J.H. & Mosquim, P.R. 2004. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários*. 2ed. Viçosa: UFV, 113p.
- Cavalcanti, S.B.; Teles, H.L.; Silva, D.H.; Furlan, M.; Young, M.C.M. & Bolzani, V.S. 2001. New tetra-acetylated oligosaccharide diterpene from *Cupania vernalis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(3): 413-416.
- Chan, W.R.; Sheppard, V.; Medford, K.A.; Tinto, W.F.; Reynolds, W.F. & Mclean, S. 1992. Triterpenes from *Miconia stenostachya*. *Journal of Natural Products*, 55: 963-966.
- Chang, F.R.; Liaw, C.C.; Lin, C.Y.; Chou, C.J.; Chiu, H.F. & Wu, Y.C. 2003. New adjacent bis-tetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. *Planta Medica*, 69: 241-246.

- Chang, M.S.; Yang, Y.C.; Kuo, Y.C.; Kuo, Y.H.; Chang, C.; Chen, C.M. & Lee, T.H. 2005. Furocoumarin Glycosides from the Leaves of *Ficus ruficaulis* Merr. var. *antaoensis*. *Journal of Natural Products*, 68: 11-13.
- Chen, Y.; Coleman, T.W.; Jones, M.I.; Flint, M.L. & Seybold, S.J. 2013. Foliar nutrients explain goldspotted oak borer, *Agrilus auroguttatus*, adult feeding preference among four California oak species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 149: 57-66.
- Choo, C.Y.; Sulong, N.Y.; Man, F. & Wong, T.W. 2012. Vitexin and isovitexin from the Leaves of *Ficus deltoidea* with in-vivo α -glucosidase inhibition. *Journal of Ethnopharmacology*, 142: 776-781.
- Chown, S. & Nicolson S.W. 2004. *Insect physiological ecology*. Oxford: Oxford University Press, 254p.
- Coley, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in lowland tropical forest. *Ecological Monographs*, 53(2): 209-233.
- Coley, P.D.; Bryan, J.P. & Chapin III, F.S. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 230: 895-899.
- Coley, P.D. 1987. Interspecific variation in plant anti-herbivore properties: the role of habitat quality and rate of disturbance. *New Phytologist*, 106: 251-263.
- Coley, P.D. 1988. Effects of plant growth rate and leaf lifetime on the amount and type of anti-herbivore defense. *Oecologia*, 74: 531-536.
- Coley, P.D. & Barone, J.A. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 305-335.
- Coley, P.D. 1998. Possible effects of climate change on plant/herbivore interactions in moist tropical forests. *Climatic Change*, 39: 455-472.
- Coley, P.D.; Bateman, M.L. & Kursar, T.A. 2006. The effects of plant quality on caterpillar growth and defense against natural enemies. *Oikos*, 115: 219-228.
- Coley, P.D. & Kursar, T.A. 2014. On Tropical Forests and Their Pests. *Science*, 343: 35-36.
- Coley, P.D.; Lokvam, J.; Rudolph, K.; Bromberg, K.; Sackett, T. E.; Wright, L.; Brenes-Arguedas, T.; Dvoretz, D.; Ring, S.; Clark, A.; Baptiste, C.; Pennington, R. T. & Kursar, T. A. 2005. Divergent defensive strategies of young leaves in two species of *Inga*. *Ecology*, 86: 2633-2643.
- Compagnone, R.S., Suarez, A.C., Sciacovelli, L. & Delle Monache, F. 1997. Arabinofuranoside flavonoids from *Tapirira guianensis*. *Boletin de la Sociedad Chilena de Quimica*, 42: 445-448.

- Cornelissen, T.G. & Fernandes, G.W. 2001. *Patterns of attack by herbivores on the tropical shrub Bauhinia brevipes (Leguminosae): Vigour or chance? European Journal of Entomology*, 98: 37-40.
- Cornelissen, T.G. & Fernandes, W. 2003. Insetos herbívoros e plantas de inimigos a parceiros? *Ciência Hoje*, 32: 24-30.
- Correia, S.D.J.; David, J.M.; Silva, E.P.D.; David, J.P.; Lopes, L.M.X. & Guedes, M.L.S. 2008. Flavonoids, norisoprenoids and other terpenes from leaves of *Tapirira guianensis*. *Química Nova*, 31: 2056-2059.
- Costa, D.P.; Santos, S.C.; Seraphin, J.C. & Ferri, P.H. 2009a. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20: 1287-1293.
- Costa, E.V.; Pinheiro, M.L.B.; Silva, J.R.D.A.; Maia, B.H.L.D.N.S; Duarte, M.C.T.; Amaral, A.C.F.; Machado, G.M.C. & Leon, L.L. 2009b. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). *Química Nova*, 32: 78-81.
- Costa, G.M.; Ortmann, C.F. Schenkel, E.P. & Reginatto, F.H. 2011. An HPLC-DAD method to quantification of main phenolic compounds from leaves of *Cecropia* Species. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22: 1096-1102.
- Costa, M.F.; Jesus, T.I; Lopes, B.R.P.; Angolini, C.F.F.; Montagnolli, A.; Gomes, L.P.; Pereira, G.S.; Ruiz, A.L; Carvalho, J.E., Eberlin, M.N.; Santos, C & Toledo, K.A. 2016. *Eugenia aurata* and *Eugenia punicifolia* HBK inhibit inflammatory response by reducing neutrophil adhesion, degranulation and NET release. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1): 403.
- Covarrubias-Camarillo, T.; Osorio-Beristain, M.; Legal, L. & Contreras-Garduño, J. 2016. *Baronia brevicornis* caterpillars build shelters to avoid predation. *Journal of Natural History*, 50(35-36): 2299-2310.
- Cozzolino, S.; Fineschi, S.; Litto, M.; Scopece, G.; Trunschke, J.; & Schiestl, F.P. 2015. Herbivory increases fruit set in *Silene latifolia*: a consequence of induced pollinator-attracting floral volatiles? *Journal of chemical ecology*, 41(7): 622-630.
- Craveiro, A.A.; Andrade, C.H.S.; Matos, F.J.A.; Alencar, J.W. & Machado, M.I.L. 1983. Essential oil of *Eugenia jambolana*. *Journal of Natural Products*, 46(4): 591-592.
- Cunha, F.A.B.; Wallau, G.L.; Pinho, A.I.; Nunes, M.E.M.; Leite, N.F.; Tintino, S.R.; Costa, G.M; Athayde, M.L.; Boligon, A.A.; Coutinho, H.D.M.; Pereira, A.B.; Posser T & Franco, J.L. 2015. *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. *Toxicology Research*, 4(3): 634-644.

- Dametto, A.C. 2014. *Estudo químico e avaliação da atividade biológica de Eugenia brasiliensis e Eugenia involucrata (Myrtaceae)*. Tese (Doutorado em Química), Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP. 169p.
- Darrow, K. & Bowers, M.D. 1997. Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). *Biochemical Systematic and Ecology*, 25: 1-11.
- Defaveri, A.C.; Sato, A.; Borré, L.B.; Aguiar, D.L.; San Gil, R.A.; Arruda, R.C. & Riehl, C.A. 2011. *Eugenia neonitida* Sobral and *Eugenia rotundifolia* Casar (Myrtaceae) essential oils: composition, seasonality influence, antioxidant activity and leaf histochemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(8): 1531-1538.
- Del-Claro, K. 2012. Origens e importância das relações planta-animais para a evolução e conservação, 1-35p. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M (Ed.). *Ecologia das Interações Planta-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva*. ed.1. Rio de Janeiro: Technical Books, 336p.
- Dellacassa, E.; Lorenzo, D.; Mondello, L. & Cotroneo, A. 1997. Uruguayan essential oils. Part VII. Composition of leaf oil of *Eugenia uruguayensis* Camb. var. *uruguayensis* (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 9(3): 295-297.
- Denlinger, D.L. & Yocum, G.D. 1998. Physiology of Heat Sensitivity, 7-53p. In: Hallman, G.J & Denlinger, D.L (Ed.). *Temperature sensitivity in insects and application int integrated pest management*. Boulder: Westview Press, 320p.
- Deraniyagala, S.A.; Wijesundera, R.L.C. & Weerasena, O.V.D.S.J. 1998. Antifungal activity of *Ficus racemosa* leaf extract and isolation of the active compound. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 26(1): 19-26.
- Deutsch, C.A.; Tewksbury, J.J.; Huey, R.B.; Sheldon, K.S.; Ghalambor, C.K.; Haak, D.C. & Martin, P.R. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 6668-6672.
- Dewick, P.M. 2008. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester: John Wiley & Sons, 539p.
- Dias, A.L.D.S.; Souza, J.N.S.D. & Rogez, H. 2010. Purification of phenolic compounds from *Inga edulis* leaves using solid-phase extraction: major compounds quantification and antioxidant capacity evaluation. *Química Nova*, 33(1): 38-42.
- Diniz, I.R. & Morais, H.C. 1997. Lepidopteran caterpillar fauna on cerrado host plants. *Biodiversity and Conservation*, 6: 817-836.

- Diniz, R.; Vidigal, M.C.S.; Raslan, D.S. & Fernandes, N.G. 2006. A new triterpene of *Miconia macrothyrsa* leaves: 28-carboxy-3-oxoolean-12-en-21 α -yl acetate. *Acta Crystallographica*, 62(11): 4891-4893.
- Dirzo, R. & Boege, K. 2008. Patterns of herbivory and defense in tropical dry and rain forests. 63-78p. In: Carson, W.P. & Schnitzer, S.A. (eds.). *Tropical Forests Community Ecology*. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing, 536p.
- Dirzo, R. & Domínguez, C.A. 1995. Plant-herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forests, 304-325p. In: Bullock, S.H.; Medina, E. & Mooney, H.A. (eds.). *Seasonally dry tropical Forests*. New York: Cambridge University Press, 450p.
- Dosseh, C.; Moretti, C.; Tessier, A.M. & Delaveau, P. 1980. Étude chimique des feuilles de *Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex Juss. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 14(3): 136-142.
- Draths, K.M.; Knop, D.R. & Frost, J.W. 1999. Shikimic acid and quinic acid: Replacing isolation from plant sources with recombinant microbial biocatalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 121:1603-1604.
- Dutra, L.M.; Costa, E.V.; Souza Moraes, V.R.; Lima Nogueira, P.C.; Vendramin, M.E.; Barison, A. & Nascimento Prata, A.P. 2012. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 41: 115-118.
- Edwards, P.J. & Wratten, S.D. 1981. *Ecologia das interações entre insetos e plantas*. São Paulo: UDUSP, 71p
- Ehrlich, P.R. & Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution*, 18(4): 586-608.
- Ekundayo, O. & Oguntimein, B. 1986. Composition of the essential oils of *Annona senegalensis* Var. *senegalensis*. *Planta medica*, 52(3): 202-204.
- El-Fishawy, A.; Zayed, R. & Afifi, S. 2011. Phytochemical and pharmacological studies of *Ficus auriculata* Lour. *Journal of Natural Products*, 4: 184-195
- El-Kholy, I.S., & Shaban, M.A. 1966. Constituents of the leaves of *Ficus carica*, L. II. Isolation of a w-taraxasterol ester, rutin, and a new steroid sapogenin. *Journal of the Chemical Society*, 13: 1140-1142.
- El-Sayed, M.M.; Mahmoud, M.A.; El-Nahas, H.A.; El-Toumy, S.A.; El-Wakil, E.A. & Ghareeb, M.A. 2010. Bio-guided isolation and structure elucidation of antioxidant compounds from the leaves of *Ficus sycomorus*. *Pharmacologyonline*, 3: 317-332.
- Elser, J.J.; Bracken, M.E.S.; Cleland, E.E.; Gruner, D.S.; Harpole, W.S.; Hille-Brand, H.; Ngai, J.T.; Seabloom, E.W.; Shurin, J.B. & Smith, J.E. 2007. Global analysis

- of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 10: 1135-1142.
- Endara, M.J. & Coley, P.D. 2011. Evolutionary ecology of plant defences. The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis. *Functional Ecology*, 25: 389-398.
- Endara, M.J.; Weinhold, A.; Cox, J.E.; Wiggins, N.L.; Coley, P.D. & Kursar, T.A. 2015. Divergent evolution in antiherbivore defences within species complexes at a single Amazonian site. *Journal of Ecology*, 103(5), 1107-1118.
- Essien, E.E.; Newby, J.M.; Walker, T.M.; Ogunwande, I.A.; Setzer, W.N. & Ekundayo, O. 2016. Essential oil constituents, anticancer and antimicrobial activity of *Ficus mucoso* and *Casuarina equisetifolia* leaves. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 4(1): 01-06.
- Farag, S.F. 2005. Phytochemical and pharmacological studies of *Ficus benjamina* L. Leaves. *Mansoura Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(2): 19-36.
- Fernandes, G.W. & Price, P.W. 1988. Biogeographical gradients in galling species richness: tests of hypotheses. *Oecologia*, 76: 161-167.
- Ferreira-Jr, W.G.; Schaefer, C.E.G.R. & Silva, A.F. Uma visão Pedogeomofológica sobre as formações florestais de Mata Atlântica, 141-174p. In: MARTINS, S.V. (ed.). *Ecologia de florestas tropicais do Brasil*. 2 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 371p.
- Fester, T. 2015. Plant metabolite profiles and the buffering capacities of ecosystems. *Phytochemistry*, 110: 6-12.
- Figueiredo, M.E.; Michelin, D.C.; Sannomiya, M.; Silva, M.A.; Santos, L.C.D.; Almeida, L.F.R.D.; Bito, A.R.M.S.; Salgado, H.R.N. & Vilegas, W. 2005. Chemical evaluation and antidiarrhoeal activity of leaves of *Byrsonima cinera* DC. (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41(1): 79-83.
- Fine P.V.A.; Mesones, I. & Coley P.D. 2004. Herbivores Promote Habitat Specialization by Trees in Amazonian forests. *Science*, 305: 663-665.
- Fine, P.V.A. & Mesones, I. 2011. The Role of Natural Enemies in the Germination and Establishment of *Pachira* (Malvaceae) Trees in the Peruvian Amazon. *Biotropica*, 43(3): 265-269.
- Fine, P.V.A; Metz, M.R.; Lokvam, J.; Mesones, I.; Zuñiga, J.; Lamarre, G.; Pilco, M.V. & Baraloto, C. 2013. Insect herbivores, chemical innovation, and the evolution of habitat specialization in Amazonian trees. *Ecology*, 94: 1764-1775.
- Fine, P.V.A.; Miller, Z.J.; Mesones, I.; Irazuzta, S.; Appel, H.M.; Stevens, M.H.H.; Sääksjärvi, I; Schultz, J. C. & Coley, P.D. 2006. The growth–defense trade-off

- and habitat specialization by plants in amazonian forests. *Ecology*, 87(7): 150-162.
- Fischer, D.C.; Limberger, R.P.; Henriques, A.T. & Moreno, P.R. 2005. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, 17(5): 499-500.
- Flinte, V.; Araujo, C.O.; Macedo, M.V. & Monteiro, R.F. 2006. Insetos fitófagos associados ao murici da praia, *Byrsonima sericea* (Malpighiaceae), na Restinga de Jurubatiba (RJ). *Revista Brasileira de Entomologia*, 50: 512-523.
- Flora do Brasil. 2017. Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 25 Abr. 2017.
- Formagio, A.S.; Vieira, M.D.C.; Santos, L.A.; Cardoso, C.A.; Foglio, M.A.; Carvalho, J.E.; Andrade-Silva, M. & Kassuya, C.A. 2013. Composition and evaluation of the anti-inflammatory and anticancer activities of the essential oil from *Annona sylvatica* A. St.-Hil. *Journal of medicinal food*, 16(1): 20-25.
- Franceschinelli, E.V.; Almeida, E.A.; Antonini, Y.; Cabral, B.C.; Carmo, R.M.; Damasceno, A.; Fontenelle, J.C.R.; Garciv. L.A.; Guilherme, M.S.; Laps R.R.; Leitão, G.G.; Mikich, S.B.; Moreira, D.L.; Nascimento, M.T.; Némésio A.; Ribon, R.; Silveira, F.A. & Vidigal, T.H.D.A. 2003. Interações entre animais e plantas. 275-296p. In: Rambaldi, D.M. & Oliveira, D.A.S. (orgs.). *Fragmentação de ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas*. Brasília: MMA/SBF, 510p.
- Françoso, R.D.; Goeller, A.J. & Lenza, E. 2013. Herbivoria e biomassa foliar em *Peltogyne confertiflora* (Mart. ex Hayne) Benth. Fabales Bromhead Fabaceae Lindl. em ambientes de Floresta e Cerrado. *Ecología austral*, 23(3): 222-226.
- Freire, M.G.M.; Mussis-Dias, V.; Siqueira, G.M.B. & Nascimento, D.F. 2015. *O tempo e a restinga*. Campos dos Goytacazes: Prumo Logística Global, 349p.
- Funari, C.S.; Castro-Gamboa, I.; Cavalheiro, A.J. & Bolzani, V.S. 2013. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. *Química Nova*, 36(10): 1605-1609.
- Fundação SOS Mata Atlântica. 2002. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2002. *Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica no período de 1995-2000: relatório final*. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica e INPE.
- Fundação SOS Mata Atlântica. 2009. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2009. *Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica no período 2005-2008: relatório parcial*. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica e INPE.

- Fundação SOS Mata Atlântica. 2010. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2010. *Plantando cidadania: guia do educador ambiental*. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica e INPE.
- Funk, J.L. & Vitousek, P.M. 2007. Resource-use efficiency and plant invasion in low-resource systems. *Nature*, 446(7139): 1079-1081.
- Fürstenberg-Hägg, J.; Zagobelny, M. & Bak, S. 2013. Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 10242-10297.
- Furtado, F.B. 2014. *Estudo químico, análise do óleo essencial e atividades biológicas de Inga laurina (Sw.) Willd.* Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG. 100p.
- Garibaldi, L.A.; Kitzberger, T. & Chaneton, E.J. 2011. Environmental and genetic control of insect abundance and herbivory along a forest elevational gradient. *Oecologia*, 167: 117-129.
- Gavamukulya, Y.; Abou-Ellella, F.; Wamunyokoli, F. & El-Shemy, H.A. 2015. GC-MS Analysis of Bioactive Phytochemicals Present in Ethanolic Extracts of Leaves of *Annona muricata*: A Further Evidence for Its Medicinal Diversity. *Pharmacognosy Journal*, 7(5): 300-304.
- Gherlenda, A.N.; Moore, B.D.; Haigh, A.M.; Johnson, S.N. & Riegler, M. 2016. Insect herbivory in a mature *Eucalyptus* woodland canopy depends on leaf phenology but not CO₂ enrichment. *BMC Ecology*, 16: 47.
- Gilardón, E.; Pocovi, M.; Hernández, C.; Collavino, G.; Olsen, A. 2001. Papel da 2-tridecanona e dos tricomas glandulares tipo VI na resistência do tomateiro a *Tuta absoluta*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36: 929-933.
- Glas, J.J.; Schimmel B.C.J.; Alba, J.M.; Escobar-Bravo, R.; Schuurink, R.C. & Kant, M.R. 2012. Plant glandular trichomes as targets for breeding or engineering of resistance to herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 17077-17103.
- Glinwood, R.; Ninkovic, V. & Pettersson, J. 2011. Chemical interaction between undamaged plants - Effects on herbivores and natural enemies. *Phytochemistry*, 72(13): 1683-1689.
- Gobbo-Neto, L. & Lopes, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30(2): 374-381.
- Gonçalves-Alvim, S.J.; Lana, T.C.; Ranieri, B.D.; Silveira, F.A.O.; Ribeiro, V. & Fernandes, G.W. 2010. Growth, defense and herbivory on young leaves of *Qualea parviflora* (Vochysiaceae) in three different Cerrado habitats. *Neotropical Biology and Conservation*, 5: 86-92.

- Gong, B. & Zhang, G. 2014. Interactions between plants and herbivores: A review of plant defense. *Acta Ecologica Sinica*, 34(6): 325-336.
- Gottlieb, O.R. & Borin, M.R.M.B. 2012. Química-Biologia Quantitativa: um novo paradigma? *Química Nova*, 35: 2105-2114.
- Gottlieb, O.R.; Kaplan, M.A. & Borin, M.R. 1996. *Biodiversidade um Enfoque Químico biológico*. Rio de Janeiro: Editora UERJ, 268p.
- Greenham, J.R.; Grayer, R.J.; Harborne, J.B. & Reynolds, V. 2007. Intra-and interspecific variations in vacuolar flavonoids among *Ficus* species from the Budongo Forest, Uganda. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(2): 81-90.
- Grimbacher, P.S. & Stork, N.E. 2009. Seasonality of a Diverse Beetle Assemblage Inhabiting Lowland Tropical Rain Forest in Australia. *Biotropica*, 41: 328-337.
- Guilhon-Simplicio, F. & Pereira, M.M. 2011. Aspectos químicos e farmacológicos de *Byrsonima* (Malpighiaceae). *Química Nova*, 34(6): 1032-1041.
- Gullan, P.J. & Cranston, P.S. 2007. *Os insetos: um resumo de entomologia*. São Paulo: Roca, 440p.
- Gunatilaka, A.L.; Berger, J.M.; Evans, R.; Miller, J.S.; Wisse, J.H.; Neddermann, K.M.; Bursuker, I. & Kingston, D.G. 2001. Isolation, Synthesis, and Structure-Activity Relationships of Bioactive Benzoquinones from *Miconia lepidota* from the Suriname Rainforest. *Journal of Natural Products*, 64(1): 2-5.
- Hammer, O.; Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4: 9.
- Heneberg, P. & Bogusch, P. 2014. To enrich or not to enrich? Are there any benefits of using multiple colors of pan traps when sampling aculeate Hymenoptera? *Journal of Insect Conservation*, 18: 1123-1136.
- Henrique, M.C; Nunomura, S.M. & Pohlit, A.M. 2010 "Alcaloides indólicos de cascas de *Aspidosperma vargasii* e *A. desmanthum*." *Química Nova* 33(2): 284-287.
- Herms, D.A. & Mattson, W.J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology*, 67: 283-335.
- Hernández-Chávez, I.; Torres-Tapia, L.W.; Simá-Polanco, P.; Cedillo-Rivera, R.; Moo-Puc, R. & Peraza-Sánchez, S.R. 2012. Antigiardial Activity of *Cupania dentata* Bark and its Constituents. *Journal of Mexican Chemical Society*, 56: 105-108.
- Heusi-Silveira, M.; Lopes, B.C.; Ide, S.; Castellani, T.T. & Hernández, M.I. 2012. Beetle (Insecta, Coleoptera) assemblage in a Southern Brazilian restinga: effects of anthropogenic disturbance and vegetation complexity. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 47(3): 203-214.

- Higuchi, C.T.; Pavan, F.R.; Leite, C.Q.F.; Sannomiya, M.; Vilegas, W.; Leite, S.R.D.A.; Sacramento, L.V.S. & Sato, D.N. 2008. Triterpenes and antitubercular activity of *Byrsonima crassa*. *Química Nova*, 31(7): 1719-1721.
- Hoffmann, W.A. & Franco, A.C. 2003. Comparative growth analysis of tropical forest and savanna woody plants using phylogenetically independent contrasts. *Journal of Ecology*, 91: 475-484.
- Hoffmann, W.A. & Franco, A.C. 2008. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: examples from cerrados and forests of central Brazil. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20(3): 247-256.
- Hoffmann, W.A.; Franco, A.C.; Moreira, M.Z. & Haridasan, M. 2005. Specific leaf area explains differences in leaf traits between congeneric savanna and forest trees. *Functional Ecology*, 19: 932-940.
- Hoffmann, W.A.; Orthen, B. & Franco, A.C. 2004. Constraints to seedling success of savanna and forest trees across the savanna- forest boundary. *Oecologia*, 140: 252-260.
- Hostettmann, K.; Queiroz, E.F. & Vieira, P.C. 2003. *Princípios ativos de plantas superiores*. São Carlos: EdUSFCar, 152p.
- Howe, G.A. & Jander, G. 2008. Plant Immunity to Insect Herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 41-66.
- Huberty, A.F. & Denno, R.F. 2006. Consequences of nitrogen and phosphorus limitation for the performance of two planthoppers with divergent life-history strategies. *Oecologia*, 149: 444-455.
- Huntly, N. 1991. Herbivores and the dynamics of communities and ecosystems. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 22: 477-503.
- IBAMA. 2008. *Plano de Manejo – Reserva Biológica União*. Encarte 3. Análise da unidade de conservação. Rio de Janeiro: MMA/ICMBIO. 189p.
- Innocenti, G.; Bettero, A. & Caporale, G. 1982. Determination of the coumarinic constituents of *Ficus carica* leaves by HPLC. *Edizione Scientifica*, 37: 475-485.
- Ivanauskas, N.M. & Assis, M.C. 2012. Formações florestais brasileiras, 107-140p. In: Martins, S.V. (ed.). *Ecologia de florestas tropicais do Brasil*. 2 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 371p.
- Jansen, J.J.; Allwood, J.W.; Marsden-Edwards, E.; Putten, W.H.V.D.; Goodacre, R. & Dam, N.M.V. 2009. Metabolomic analysis of the interaction between plants and herbivores. *Metabolomics*, 5: 150-161.
- Joern, A.; Provin, T. & Behmer, S.T. 2012. Not just the usual suspects: insect herbivore populations and communities are associated with multiple plant nutrients. *Ecology*, 93: 1002-1015.

- Johnson, M.T.J. 2011. Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. *Functional Ecology*, 25: 305-311.
- Jolivet P. & Verma, K. 2002. *Biology of Leaf Beetles*. Andover: Intercept, 332p.
- Jones, M.T.; Castellanos, I. & Weiss. M.R. 2002. Do leaf shelters always protect caterpillars from invertebrate predators? *Ecological Entomology*, 27: 753-757.
- Joy, B. & Rao, J.M. 1997. Essential Oil of the Leaves of *Annona squamosa* L. *Journal of Essential Oil Research*, 9(3): 349-350.
- Junges, M.J.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Silva, M.F.D.G.F. & Rodrigues Filho, E. 1999. The use of ¹³C and H-NMR in the structural elucidation of a new Nor-lupane triterpene. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 10(4): 317-320.
- Kaiser, C.R. 2000. RMN 2d: detecção inversa e gradiente de campo na determinação estrutural de compostos orgânicos. *Química Nova*, 23: 231-236.
- Kala, S.M.J.; Balasubramanian, T.; Soris, P.T., & Mohan, V.R. 2011. GC-MS determination of bioactive components of *Eugenia singampattiana* Bedd. *International Journal of ChemTech Research*, 3(3): 1534-1537.
- Kala, S.M.J.; Soris, P.T. & Mohan, V.R. 2012. GC-MS determination of bioactive components of *Eugenia floccosa* Bedd. (Myrtaceae). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(1): 277-282.
- Karolewski, P.; Giertych, M.J.; Zmuda M.; Jagodzinski, A.M. & Oleksyn, J. 2013. Season and light affect constitutive defenses of understory shrub species against folivorous insects. *Acta oecologica*, 53: 19-32.
- Khairudin, K.; Sukiran, N.A.; Goh, H.H.; Baharum, S.N.; & Noor, N.M. 2014. Direct discrimination of different plant populations and study on temperature effects by Fourier transform infrared spectroscopy. *Metabolomics*, 10: 203-211.
- Kim, G.S.; Zeng, L.; Alali, F.; Rogers, L.L.; Wu, F.E.; Mclaughlin, J.L.; & Sastrodihardjo, S. 1998b. Two new mono-tetrahydrofuran ring acetogenins, anomuricin E and muricapentocin, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, 61(4): 432-436.
- Kim, G.S.; Zeng, L.; Alali, F.; Rogers, L.L.; Wu, F.E.; Sastrodihardjo, S. & Mclaughlin, J.L. 1998a. Muricoreacin and murihexocin C, mono-tetrahydrofuran acetogenins, from the leaves of *Annona muricata* in honour of professor GH Neil Towers 75th birthday. *Phytochemistry*, 49(2): 565-571.
- Kim, H.J.; Lee, J.S.; Woo, E.R.; Kim, M.K.; Yang, B.S.; Yu, Y.G. & Lee, S. 2001. Isolation of virus-cell fusion inhibitory components from *Eugenia caryophyllata*. *Planta Medica*, 67(03): 277-279.

- Kitajima K.; Llorens, A.M.; Stefanescu, C.; Timchenko, M.V.; Lucas, P.W. & Wright, S.J. 2012. How cellulose-based leaf toughness and lamina density contribute to long leaf lifespans of shade-tolerant species. *New Phytologist*, 195: 640-652.
- Kossouh, C.; Moudachirou, M.; Adjakidje, V.; Chalchat, J.C. & Figuéredo, G. 2007. Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. *Journal of Essential Oil Research*, 19(4): 307-309.
- Künkler, N.; Brandl, R. & Brändle, M. 2013. Changes in Clonal Poplar Leaf Chemistry Caused by Stem Galls Alter Herbivory and Leaf Litter Decomposition. *PLoS One*, 8: e79994.
- Kurokawa, H. & Nakashizuka, T. 2008. Leaf herbivory and decomposability in a Malaysian tropical rain forest. *Ecology*, 89: 2645-2656.
- Kursar, T.A & Coley, P.D. 2003. "Convergence in defense syndromes of young leaves in tropical rainforests". *Biochemical Systematics and Ecology*, 31: 929-49.
- Kursar, T.A.; Dexter, K.G.; Lokvam, J.; Pennington, R.T.; Richardson, J.E.; Weber, M.G.; Murakami, E.T.; Drake, C.; Mcgregor, R. & Coley, P.D. 2009. The evolution of antiherbivore defenses and their contribution to species coexistence in the tropical tree genus *Inga*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(43): 18073-18078.
- Kursar, T.A.; Wolfe, B.T.; Epps, M.J. & Coley, P.D. 2006. Food quality, competition, and parasitism influence feeding preference in a neotropical lepidopteran. *Ecology*, 87: 3058-3069.
- Lage, G.A.; Medeiros, F.D.S.; Furtado, W.D.L.; Takahashi, J.A.; Filho, J.D.D.S. & Pimenta, L.P.S. 2014. The first report on flavonoid isolation from *Annona crassiflora* Mart. *Natural product research*, 28(11): 808-811.
- Lamarre, G.P.A; Hérault, B.; Fine, P.V.; Vedel, V.; Lupoli, R.; Mesones, I. & Baraloto, C. 2016. Taxonomic and functional composition of arthropod assemblages across contrasting Amazonian forests. *Journal of Animal Ecology*, 85: 227-239.
- Lamarre, G.P.A.; Mendoza, I.; Fine, P.V.A. & Baraloto, C. 2014. Leaf synchrony and insect herbivory among tropical tree habitat specialists. *Plant Ecology*, 215: 209-220.
- Langellotto, G.A. & Denno, R.F. 2004. Responses of invertebrate natural enemies to complex-structured habitats: a meta-analytical synthesis. *Oecologia*, 139(1): 1-10.
- Lapenta, M.J.; Procópio-De-Oliveira, P.; Kierulff, M.C.M. & Motta-Jr, J.C. 2003. Fruit exploitation by golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*) in the União Biological Reserve, Rio das Ostras, RJ - Brazil. *Mammalia*, 67: 41-46.

- Laws, A.N. & Belovsky, G.E. 2010. How will species respond to climate change? Examining the effects of temperature and population density on an herbivorous insect. *Environmental Entomology*, 39: 312-319.
- Leal, I. R.; Wirth, R. & Tabarelli, M. 2012. Formigas cortadeiras e a ambiguidade de suas relações com as plantas, 87-94p. *In: Del-Claro, K & Torezan-Silingardi, H.M. (eds.). Ecologia das interações plantas-animais*. Rio de Janeiro: Technical Books Editora.
- Leigh, E.G.J. 1997. *Ecology of Tropical Forests: The View from Barro Colorado Island*. Barro Colorado: Oxford University Press, 264p.
- Leigh, E.G.J. 2004. How wet are the wet tropics, 43-55p. *In: LOSOS, E.C. & LEIGH, E.G.J. (Eds.). Tropical forest diversity and dynamism*. Chicago: The University of Chicago Press, 645p.
- Leite, G.L.D.; Veloso, R.V.S.; Zanuncio, J.C.; Fernandes, G.W.; Almeida, C.I.M.; Pereira, J.M.M.; Serrão, J.E. & Soares, M.A. 2013. Seasonal Abundance of Gallling Insects (Hymenoptera) on *Caryocar brasiliense* (Malpighiales: Caryocaraceae) Trees in the Cerrado. *Florida Entomologist*, 96: 797-809.
- Lemoine, N.P.; Burkepille, D.E. & Parker, J.D. 2014. Variable effects of temperature on insect herbivory. *PeerJ*, 2: e376.
- Lemoine, N.P.; Drews, W.A.; Burkepille, D.E. & Parker, J.D. 2013. Increased temperature alters feeding behavior of a generalist herbivore. *Oikos*, 122: 1669-1678.
- Lerdau, M. & Coley, P.D. 2002. Benefits of the Carbon-Nutrient Balance Hypothesis. *Oikos*, 98: 534-536.
- Lewinsohn, T.M.; Jorge, L.R. & Prado, P.I. 2012. Biodiversidade e interações entre insetos herbívoros e plantas. 275-289p. *In: Del-Claro, K. & Torezan, H.M. (eds). Ecologia das Interações Plantas-Animais: Uma Abordagem Ecológico-Evolutiva*. Rio de Janeiro: Technical Books Editora.
- Li, J.; Coleman, C.M.; Wu, H.; Burandt, C.L.; Ferreira, D. & Zjawiony, J.K. 2013. Triterpenoids and flavonoids from *Cecropia schreberiana* Miq. (Urticaceae). *Biochemical Systematics And Ecology*, 48: 96-99.
- Li, X.C.; Jacob, M.R.; Pasco, D.S.; Elsohly, H.N.; Nimrod, A.C.; Walker, L.A. & Clark, A.M. 2001. Phenolic Compounds from *Miconia myriantha* Inhibiting Candida Aspartic Proteases. *Journal of Natural Products*, 64(10): 1282-1285.
- Liaw, C.C.; Chang, F.R.; Lin, C.Y.; Chou, C.J.; Chiu, H.F.; Wu, M.J. & Wu, Y.C. 2002. New Cytotoxic Monotetrahydrofuran Annonaceous Acetogenins from *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, 65(4): 470-475.

- Linton, S.M. & Greenaway, P.A. 2007. A review of feeding and nutrition of herbivorous land crabs: adaptations to low quality plant diets. *Journal of Comparative Physiology*, 177: 269-286.
- Lip, J.M.; Hisham, D.N.; Zaidi, J.A.; Musa, Y.; Ahmad, A.W.; Normah, A.; Sharizan, A. 2009. Isolation and identification of moretenol from *Ficus deltoidea* leaves. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 37(2): 195-201.
- Lira, W.D.M.; Santos, F.V.; Sannomiya, M.; Rodrigues, C.M.; Vilegas, W. & Varanda, E.A. 2008. Modulatory effect of *Byrsonima basiloba* extracts on the mutagenicity of certain direct and indirect-acting mutagens in *Salmonella typhimurium* assays. *Journal of medicinal food*, 11(1): 111-119.
- Liu, F.; Yang, Z.; Zheng, X.; Luo, S.; Zhang, K. & Li, G. 2011. Nematicidal coumarin from *Ficus carica* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14(1): 79-81.
- Liu, X.X.; Alali, F.Q.; Pilarinou, E. & Mclaughlin, J.L. 1999. Two bioactive monotetrahydrofuran acetogenins, annoglacins A and B, from *Annona glabra*. *Phytochemistry*, 50(5): 815-821.
- Lokvam, J.; Coley, P.D. & Kursar, T.A. 2004. Cinnamoyl glucosides of catechin and dimeric procyanidins from young leaves of *Inga umbellifera* (Fabaceae). *Phytochemistry*, 65(3): 351-358.
- Lokvam, J. & Kursar, T.A. 2005. Divergence in structure and activity of phenolic defenses in young leaves of two co-occurring *Inga* species. *Journal of Chemical Ecology*, 31(11): 2563-2580.
- Lopes, M.C.; Silva, G.C. & Antunes, N.T.B. 2015. Temporal variation of soil entomofauna from an urban forest fragment in southern Brazil. *Acta Scientiarum*, 37(1): 51-57.
- Lopes, W.A & Fascio, M. 2004. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova*, 27(4): 670-673.
- López-Rubalcava, C.; Piña-Medina, B.; Estrada-Reyes, R.; Heinze, G. & Martínez-Vázquez, M. 2006. Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimolia* in two anxiety paradigms: possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex. *Life Sciences*, 78(7): 730-737.
- Lopresti, E.F. & Morse, D.H. 2013. Costly leaf shelters protect moth pupae from parasitoids. *Arthropod-Plant Interactions*, 7(4): 445-453.
- Loreto, F.; Pollastri, S.; Fineschi, S. & Velikova, V. 2014. Volatile isoprenoids and their importance for protection against environmental constraints in the Mediterranean area. *Environmental and Experimental Botany*, 103: 99-106.

- Lucas, P.W.; Turner, I.M.; Dominy, N.J. & Yamashita, N. 2000. Mechanical defences to herbivory. *Annals of Botany*, 86: 913-920.
- Luna, J.D.S.; Carvalho, J.M.; Lima, M.R.F.; Bieber, L.W.; Bento, E.D.S.; Franck, X. & Sant'ana, A.E.G. 2006. Acetogenins in *Annona muricata* L. (Annonaceae) leaves are potent molluscicides. *Natural Product Research*, 20(3): 253-257.
- Macel, M.; Dam, N.M.V. & Keurentjes, J.J.B. 2010. Metabolomics: the chemistry between ecology and genetics. *Molecular Ecology Resources* 10: 583-593.
- Macel, M.; Vos, R.C.; Jansen, J.J.; Putten, W.H. & Dam, N.M. 2014. Novel chemistry of invasive plants: exotic species have more unique metabolomic profiles than native congeners. *Ecology and Evolution*, 4: 2777-2786.
- Magadula, M.J.J.; Innocent, E. & Otieno, J.N. 2009. Mosquito larvicidal and cytotoxic activities of 3 *Annona* species and isolation of active principles. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(9): 674-680.
- Maiorana, V.C. 1981. Herbivory in sun and shade. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 15: 151-156.
- Marchiori, M.O.; Romanowski, H.P. & Mendonça-Jr, M.D.S. 2014. Mariposas en dos ambientes forestales contrastantes en el sur de Brasil (Lepidoptera: Hesperioidea & Papilionoidea). *Shilap*, 42: 221-236.
- Marinoni, R.C.; Ganho, N.G.; Monné, M.L. & Mermudes, J.R.M. 2001. *Hábitos alimentares em Coleoptera (Insecta): Compilação, organização de dados e novas informações sobre alimentação nas famílias de coleópteros*. Ribeirão Preto: Holos Editora, 64p.
- Marques, M.C.; Silva, S.M. & Liebsch, D. 2015. Coastal plain forests in southern and southeastern Brazil: ecological drivers, floristic patterns and conservation status. *Brazilian Journal of Botany*, 38: 1-18.
- Marques, M.S. 2013. *Variação temporal da riqueza de táxons, abundância e biomassa de artrópodes em ambiente de restinga do Rio Grande Norte, Brasil*. (Mestrado em Biodiversidade, Biologia Estrutural e Funcional), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 40p.
- Marquis, R.J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science*, 226: 537- 539.
- Marquis, R.J.; Morais, H.C. & Diniz, I.R. 2002. Interactions among Cerrado plants and their herbivores: Unique or typical? 306-328p. In: Oliveira, P.S. & Marquis, R.J. (eds.). *The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna*. New York: Columbia University Press, 398p.
- Marquis, R.J. 2012. Uma abordagem geral das defesas de plantas contra a ação dos herbívoros. 55-66p. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M (eds.). *Ecologia*

- das Interações Plantas-Animais: Uma Abordagem Ecológico-Evolutiva*. Rio de Janeiro: Technical Books Editora.
- Marquis, R.J.; Ricklefs, R.E. & Abdala-Roberts, L. 2012. Testing the low latitude/high defense hypothesis for broad-leaved tree species. *Oecologia*, 169: 811-820.
- Martinat, P.J. 1987. The role of climatic variation and weather in forest insect outbreaks. 241-268p. *In*: Barbosa, P. & Sckultz, J.C (eds). *Insects outbreaks*. New York: Academic Press
- Massad, T.J.; Chambers, J.Q.; Rolim, S.G.; Jesus, R.M. & Dyer, L.A. 2011. Restoration of Pasture to Forest in Brazil's Mata Atlântica: The Roles of Herbivory, Seedling Defenses, and Plot Design in Reforestation. *Restoration Ecology*, 19: 257-267.
- Massad, T.J.; Dyer, L.A. & Vega, G. 2012. Costs of defense and a test of the carbon-nutrient balance and growth-differentiation balance hypotheses for two co-occurring classes of plant defense. *PLoS One*, 7: e47554.
- Matos, F.D.A. 1997. *Introdução à fitoquímica experimental*. Fortaleza: UFC, 140p.
- Matsumoto, S.; Varela, R.M.; Palma, M.; Molinillo, J.M.; Lima, I.S.; Barroso, C.G. & Macías, F.A. 2014. Bio-guided optimization of the ultrasound-assisted extraction of compounds from *Annona glabra* L. leaves using the etiolated wheat coleoptile bioassay. *Ultrasonics sonochemistry*, 21(4): 1578-1584.
- Matsushige, A.; Kotake, Y.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; Ohta, S. & Takeda, Y. 2012. Annonamine, a new aporphine alkaloid from the leaves of *Annona muricata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60(2): 257-259.
- May, R.M. 1988. How many species are there on earth? *Science*, 241: 1441-1449.
- May, R.M. 1990. How many species? *Royal Society of London Bulletin*, 330: 293-304.
- Mcart, S.H.; Halitschke, R.; Salminen, J.P. & Thaler, J.S. 2013. Leaf herbivory increases plant fitness via induced resistance to seed predators. *Ecology*, 94(4): 966-975.
- Medeiros, A.S.; Conde, M.M.S.; Menezes, L.F.T. & Pereira, M.G. 2007. *Estrutura e florística de um trecho de floresta inundada na restinga da Marambaia – RJ*. *In*: Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu: SEB.
- Medeiros, J.R.; Medeiros, N.; Medeiros, H.; Davin, L.B. & Lewis, N.G. 2003. Composition of the bioactive essential oils from the leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh ssp. *sororia* from the Azores. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4): 293-295.
- Melo, R.M.; Corrêa, V.F.; Amorim, A.C.L.; Miranda, A.L.P. & Rezende, C.M. 2007. Identification of impact aroma compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) leaf essential oil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(1): 179-183.

- Meloni, F.; Lopes, N.P. & Varanda, E.M. 2012. The relationship between leaf nitrogen, nitrogen metabolites and herbivory in two species of Nyctaginaceae from the Brazilian Cerrado. *Environmental and Experimental Botany*, 75: 268-276.
- Mendes, C.C.; Cruz, F.G.; David, J.M.; Nascimento, I.P. & David, J.P. 1999. Triterpenos esterificados com ácidos graxos e ácidos triterpênicos isolados de *Byrsonima microphylla*. *Química Nova*, 22(2): 185-188.
- Metcalf, D.B.; Asner, G.P.; Martin, R.E.; Espejo, J.E.S.; Huasco, W.H.; Amézquita, F.F.F.; Carranza-Jimenez, L.; Cabrera, D.F.G.; Baca, L.D.; Sinca, F.; Quispe, L.P.H.; Taype, I.A.; Mora, L.E.; Dávila, A.R.; Solórzano, M.M.; Vilca, B.L.P.; Román, J.M.L.; Bustios, P.C.G.; Revilla, N.S.; Tupayachi, R.; Girardin, C.A.; Doughty, C.E. & Malhi, Y. 2013. Herbivory makes major contributions to ecosystem carbon and nutrient cycling in tropical forests. *Ecology Letters*, 17: 324-332.
- Meyer, B.N.; Ferringin, N.R.; Puans, J.E.; Lacobsen, L.B.; Nicholas, O.E. & Maclaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp, A convenient general bioassay for active constituents. *Planta medica*, 45: 31-32.
- Moctezuma, C.; Hammerbacher, A.; Heil, M.; Gershenzon, J.; Méndez-Alonzo, R. & Oyama, K. 2014. Specific Polyphenols and Tannins are Associated with Defense Against Insect Herbivores in the Tropical Oak *Quercus oleoides*. *Journal of Chemical Ecology*, 40: 458-467.
- Mohammed, A.; Koorbanally, N.A. & Islam, M.S. 2015. Phytochemistry, antioxidative and antidiabetic effects of various parts of *Eugenia caryophyllata* Thunb. In vitro. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 72(6): 1201-1215.
- Mohanty, S.; Hollinshead, J.; Jones, L.; Jones, P.W.; Thomas, D.; Watson, A.A.; Watson, D.G. & Gray, A.I. 2008. *Annona muricata* (Graviola): Toxic or therapeutic. *Natural Product Communications*, 3(1): 31-33.
- Monteiro, R.F.; Macedo, M.V.; Nascimento, M.S. & Cury, R.S.F. 2007. Composição, abundância e notas sobre a ecologia de espécies de larvas de lepidópteros associadas a cinco espécies de plantas hospedeiras no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, RJ. *Revista Brasileira de Entomologia*, 51: 476-483.
- Moraes, I.V.M.D.; Ribeiro, P.R.V.; Schmidt, F.L.; Canuto, K.M.; Zocolo, G.J.; Brito, E.S.D.; Luo, R.; Richards, K.M.; Tran, K. & Smith, R.E. 2016. UPLC–QTOF–MS and NMR analyses of graviola (*Annona muricata*) leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(2): 174-179.
- Moraes, M.M.D.; Camara, C.A.; Santos, M.L.D. & Fagg, C.W. 2012. Essential oil composition of *Eugenia langsdorffii* O. Berg.: relationships between some

- terpenoids and toxicity against *Tetranychus urticae*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(9): 1647-1656.
- Moraes, R.M. & Domingos, M. 1997. Elementos minerais em folhas de espécies arbóreas de Mata Atlântica e Mata de restinga, na Ilha do Cardoso, SP. *Revista Brasileira de Botânica*, 20: 133-138.
- Morante-Filho, J.C.; Arroyo-Rodríguez, V.; Lohbeck, M.; Tschardtke, T. & Faria, D. 2016 Tropical forest loss and its multitrophic effects on insect herbivory. *Ecology*, 97: 3315-3325.
- Moresco, H.H.; Colla, G.; Cavalcante, I.D.; Queiroz, G.S.; Pizzolatti, M.G. & Brighente, I.M. 2016. Chemical constituents of *Eugenia catharinae* and their antioxidant activity. *Natural Product Research*, 30(22): 2624-2628.
- Morton, T.C.; Zektzer, A.S.; Rife, J.P. & Romeo, J.T. 1991. Trans-4-methoxypipelic acid, an amino acid from *Inga paterno*. *Phytochemistry*, 30(7): 2397-2399.
- Muanda, F.N.; Dicko, A. & Soulimani, R. 2010. Chemical composition and biological activities of *Ficus capensis* leaves extracts. *Journal of Natural Products*, 3(1): 147-160.
- Mulia, K.; Winarcayho, S.W.; Krisanti, E. & Kurniasuci, D. 2013. Practical Isolation of Bullatacin from *Annona muricata* Leaves Extract Using an Open Column Chromatography Technique. *Advanced Materials Research*, 789: 545-550.
- Müller, S.D.; Florentino, D.; Ortmann, C.F.; Martins, F.A.; Danielski, L.G.; Michels, M.; Constantino, L.S.; Petronilho, F. & Reginatto, F.H. 2016. Anti-inflammatory and antioxidant activities of aqueous extract of *Cecropia glaziovii* leaves. *Journal of ethnopharmacology*, 185: 255-262
- Mundim, F.M.; Costa, A.N. & Vasconcelos, H.L. 2009. Leaf nutrient content and host plant selection by leaf-cutter ants, *Atta laevigata*, in a Neotropical savanna. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 130: 47-54
- Mustafa, J.; Gupta, A.; Agarwal, R. & Osman, S. M. 1986. *Cupania anacardioides*: A rich source of cyanolipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(5): 671-672.
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C G.; Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Nakadai R.; Murakami, M. & Hirao, T. 2014. Effects of phylogeny, leaf traits, and the altitudinal distribution of host plants on herbivore assemblages on congeneric *Acer* species. *Oecologia*, 175: 1237-1245.
- Nakamura, M.J.; Monteiro, S.S.; Bizarri, C.H.; Siani, A.C. & Ramos, M.F. 2010. Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(6): 1170-1175.

- Nascimento, A.A., Menezes, L.F.T. & Nascimento, M.T. 2017. Water content, fibres, and herbivory in leaves of two distinct and adjacent tree communities of the Brazilian Atlantic Forest. *Hoehnea*, 44: 103-110.
- Nascimento, A.A.; Vieira, A.F.; Silva, A.P.; Villela, D.M. & Nascimento, M.T. 2011. Herbivoria foliar de *Xylopia sericea* St. Hil. (Annonaceae) em sub-bosque de plantio de Eucalipto e de Mata Atlântica. *Scientia Forestalis*, 39: 77-86.
- Nascimento, M.T.; Hay, J.D. 1993. Intraspecific variation in herbivory on *Metrodorea pubescens* (Rutaceae) in two forest types in central Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 53: 143-153.
- Nascimento, M.T. & Proctor, J. 1994. Insect Defoliation of a Monodominant Amazonian Rain Forest. *Journal of Tropical Ecology*, 10: 633–636.
- Nascimento, M.T. & Proctor, J. 2001. Leaf herbivory on three species in a monodominant and two other terra firme forests on Maracá Island, Brazil. *Acta Amazonica*, 31(1): 27-38.
- Nawwar, M.; Ayoub, N.; Hussein, S.; Hashim, A.; El-Sharawy, R.; Wende, K.; Harmas, M; & Lindequist, U. 2012. Flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* Linn. *Archives of Pharmacal Research*, 35(5): 761-767.
- Neves, F.S.; Araújo, L.S.; Espírito-Santo, M.M.; Fagundes, M.; Fernandes, G.W.; Sanchez-Azofeifa, G.A. & Quesada, M. 2010. Canopy herbivory and insect herbivore diversity in a dry forest–savanna transition in Brazil. *Biotropica*, 42: 112-118.
- Neves, F.S.; Silva, J.O.; Espírito-Santo, M.M. & Fernandes, G.W. 2014. Insect Herbivores and Leaf Damage along Successional and Vertical Gradients in a Tropical Dry Forest. *Biotropica*, 46: 14-24.
- Niesenbaum, R.A. & Kluger, E.C. 2006. When studying the effects of light on herbivory, should one consider temperature? The case of *Epimecis hortaria* F. (Lepidoptera: Geometridae) feeding on *Lindera benzoin* L. (Lauraceae). *Environmental Entomology*, 35: 600-606.
- Nkounkou-Loumpangou, C.; Gouollaly, T.; Mahmout, Y.; Elouma, N.A.M.; Ouamba, J.M.; Chalchat, J.C. & Figueredo, G. 2010. Comparative study of the chemical composition of the essential oils from organs of *Annona senegalensis* Pers. *oulotricha* le Thomas subspecies (Annonaceae). *African Journal of Biotechnology*, 9(6): 887-891.
- Nuñez, K.J.M.; Nuñez, O.M. & Dupo, A.L.B. 2016: Species Richness of Lepidoptera in Bega Watershed, Prosperidad, Agusan del Sur, Philippines. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 5: 83-90.

- Núñez-Farfán, J; Fornoni, J. & Valverde, P.L. 2007. The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38: 541-566.
- Ogunwande, I.A.; Ekundayo, O.; Olawore, N.O. & Kasali, A.A. 2006. Essential oil of *Annona reticulata* L. leaves from Nigeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4): 374-376.
- Oliani, J. 2012. *Estudo químico e avaliação das atividades antiprotozoária e antimicobacteriana in vitro dos alcaloides isoquinolínicos e do óleo volátil de Annona crassiflora Mart. (Annonaceae)*. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos), Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 228p.
- Oliani, J.; Siqueira, C.A.T.; Sartoratto, A.; Queiroga, C.L.; Moreno, P.R.H.; Reimão, J.Q.R.; Tempone, A.G.; Diaz, I.E.C. & Fischer, D.C.H. 2013. Chemical composition and in vitro antiprotozoal activity of the volatile oil from leaves of *Annona crassiflora* Mart. (Annonaceae). *Pharmacology Online*, 3: 8-15.
- Oliveira, A.P; Silva, L.R.; Pinho, P.G.; Gil-Izquierdo, A.; Valentão, P.; Silva, B.M.; Pereira, J.A. & Andrade, P.B. 2010. Volatile profiling of *Ficus carica* varieties by HS-SPME and GC-IT-MS. *Food Chemistry*, 123: 548-557.
- Oliveira, B.H.; Sant'ana, A.E.G. & Bastos, D.Z. 2002. Determination of the diterpenoid, kaurenoic acid, in *Annona glabra* by HPLC. *Phytochemical Analysis*, 13(6): 368-371.
- Oliveira, C.M.; Frizzas, M.R.; Camargo, A.J.A. & Cangerana, D.A.F. 2016. Diversidade de Macrolepidoptera Noturnos em duas Fitofisionomias de Cerrado no Brasil Central. *Nucleus*, 13(2): 129-142.
- Oliveira, E.A; Zardo, C.M.L. & Nascimento, L.V. 2006. Abundance and Seasonal pattern of the Insect fauna in a estuarine sandbank island in Lagoon Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS, Brazil. *Estudos de Biologia*, 28: 27-35.
- Oliveira, P.P.; Nascimento, M.T.; Carvalho, F.A.; Villela, D.; Kierulff, M.C.M.; Veruli, V.P.; Lapenta, M.J.; Silva, A.P. 2008. Qualidade do habitat na área de ocorrência do mico-leão-dourado, 14-39p. In: Oliveira, P.P.; Grativol, A.D. & Miranda, C.R.R. (orgs.) *Conservação do mico-leão-dourado: Enfrentando os desafios de uma paisagem fragmentada*, Campos dos Goytacazes: UENF, 200p.
- Oliveira, P.S.; Sendoya, S.F. & Del-Claro, K. 2012. Defesas bióticas contra herbívoros em plantas do cerrado: interação entre formigas, nectários extraflorais e insetos trofobiontes. 155-168p. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M (Ed.). *Ecologia das Interações Planta-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva*. ed.1. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 336p.

- Oliveira, R.R.; Moraes, M.C.C.; Castilho, R.O.; Valente, A.P.; Carauta, J.P.P.; Lopes, D. & Kaplan, M.A.C. 2003. High-speed countercurrent chromatography as a valuable tool to isolate C-glycosylflavones from *Cecropia lyratiloba* Miquel. *Phytochemical Analysis*, 14(2): 96-99.
- Oliveira-Filho, A.T. & Fontes, M.A.L. 2000. Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate. *Biotropica*, 32: 793-810.
- Omar, M.H.; Mullen, W. & Crozier, A. 2011. Identification of proanthocyanidin dimers and trimers, flavone C-glycosides, and antioxidants in *Ficus deltoidea*, a malaysian herbal tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4): 1363-1369.
- Pai, R.J.; Valder, B.; Palatty, P.L.; Shivashankara, A.R. & Baliga, M.S. 2012. Gastrointestinal Protective Effects of *Eugenia jambolana* Lam. (Black Plum) and Its Phytochemicals. 369-382p. In: Watson, R.R. & Preedy, V.R. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease: Bioactive Foods in Chronic Disease States*, San Diego: Elsevier Science Publishing Co Inc, 369p.
- Paré, P.W. & Tumlinson, J.H. 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant physiology*, 121: 325-332.
- Patel, J.D. & Kumar, V. 2008. *Annona squamosa* L.: phytochemical analysis and antimicrobial screening. *Journal of Pharmacy Research*, 1(1): 34-38.
- Paul, G.S.; Montagnini, F.; Berlyn, G.P.; Craven, D.J.; Van Breugel, M. & Hall, J.S. 2012. Foliar herbivory and leaf traits of five native tree species in a young plantation of Central Panama. *New Forests*, 43: 69-87.
- Paz, J.R.L. & Pigozzo, C.M. 2012. Comparação da entomofauna coletada por armadilhas coloridas de água em um fragmento de Mata Atlântica e dois ecossistemas associados, Bahia. *Candombá – Revista Virtual*, 8(1): 63-72.
- Pélissier, Y.; Marion, C.; Kone, D.; Lamaty, G.; Menut, C. & Bessièrre, J.M. 1994. Volatile components of *Annona muricata* L. *Journal of Essential Oil Research*, 6(4): 411-414.
- Peñuelas J. & Estiarte M. 1998. CAN elevated CO₂ affect secondary metabolism and ecosystem functioning? *Trends in Ecology and Evolution*, 13:20-24.
- Peñuelas, J.; Sardans, J.; Llusia, J.; Owen, S. M. & Niinemets, Ü. 2011. Lower P contents and more widespread terpene presence in old Bornean than in young Hawaiian tropical plant species guilds. *Ecosphere*, 2: 1-19.
- Peñuelas, J.; Sardans, J.; Llusia, J.; Silva, J.; Owen, S.M.; Bala-Ola, B.; Linatoc, A. C.; Dalimin, M.N. & Niinemets, Ü. 2013. Foliar chemistry and standing folivory of

- early and late-successional species in a Bornean rainforest. *Plant Ecology & Diversity*, 6: 245-256.
- Pereira, A. 1997. Radiation regime of tropical rain forest. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, 5(2): 1-8.
- Pinto, A.C.; Silva, D.H.S.; Bolzani, V.S.; Lopes, N.P. & Epifanio, R.A. 2002. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quimica Nova*, 25: 45-61.
- Pizzamiglio, M.A. 1991. Ecologia das interações inseto-planta, 101-29p. In: Panizzi, A.R. & Parra, J.R.P. *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo: Manole, 359p.
- Poorter, L.; Van De Plassche, M.; Willems, S. & Boot, R.G.A. 2004. Leaf traits and herbivory rates of tropical tree species differing in successional status. *Plant biology*, 6: 746-754.
- Price, P.W. 2002. Species interactions and the evolution of biodiversity, 3-25p. In: Herrera, C.F. & Pellmyr, O. (eds.) *Plant-animal Interactions: an Evolutionary Approach*. Oxford: Blackwell Science, 328p.
- Primo, P.B. & Völker, C.M. 2003. Bacias hidrográficas dos rios São João e das Ostras - águas, terras e conservação ambiental. Rio de Janeiro: CILSJ, 178p.
- Rabêlo, S.V. 2014. *Revisão de Alcaloides do Gênero Annona, Estudo Fitoquímico e avaliação da atividade biológica de Atemoia (Annona cherimola x Annona squamosa)*. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, 234p.
- Radambrasil. 1983. *Rio de Janeiro/Vitória; Geologia, Geomorfologia, Pedologia, Vegetação e Uso Potencial da Terra - SF. 23/24*. Rio de Janeiro: Projeto RADAMBRASIL.
- Raj, G.; George, V. & Sethuraman, M.G. 2011. Chemical Analysis of Essential Oil from the Leaves of *Eugenia argentea* Bedd. *Journal of Essential Oil Research*, 23(3): 55-57.
- Ramakrishna, A. & Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6: 1720-1731.
- Rasband, W.S. 2006. *ImageJ*. Bethesda, Maryland: U.S. National Institutes of Health. Disponível em: <http://rsb.info.nih.gov/ij>. Acesso em: 10. Abril 2016.
- Rasmann, S. & Agrawal, A.A. 2009. Plant defense against herbivory: progress in identifying synergism, redundancy, and antagonism between resistance traits. *Current Opinion in Plant Biology*, 12: 473-478.
- Rastrelli, L.; Tommasi, N.; Berger, I.; Caceres, A.; Saravia, A. & Simone, F. 1997. Glycolipids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytochemistry*, 45(4): 647-650

- Rattmann, Y.D.; Souza, L.M.; Malquevicz-Paiva, S.M.; Dartora, N.; Sasaki, G.L.; Gorin, P.A. & Iacomini, M. 2012. Analysis of flavonoids from *Eugenia uniflora* leaves and its protective effect against murine sepsis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.
- Ribeiro, M.C.; Metzger, J.P.; Martensen, A.C.; Ponzoni, F.J.; Hirota, M.M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? *Implications for conservation. Biological Conservation*, 142: 1141-1153.
- Ribeiro, S.P. & Basset, Y. 2007. Gall-forming and free-feeding herbivory along vertical gradients in a lowland tropical rainforest: the importance of leaf sclerophylly. *Ecography*, 30: 663-672.
- Ribeiro, S.P.; Basset, Y. & Kitching, R. 2014. Density of insect galls in the forest understorey and canopy: Neotropical, Gondwana or global patterns? *Neotropical Insect Galls*, 129-141.
- Rinaldo, D.; Batista, J.M.; Rodrigues, J.; Benfatti, A.C.; Rodrigues, C.M.; Santos, L.C.; Furlan, M. & Vilegas, W. 2010. Determination of catechin diastereomers from the leaves of *Byrsonima* species using chiral HPLC-PAD-CD. *Chirality*, 22(8): 726-733.
- Rivas-Ubach, A.; Hódar, J.A.; Sardans, J.; Kyle, J.E.; Kim, Y.M.; Oravec, M.; Urban, O.; Guenther, A. & Penuelas, J. 2016. Are the metabolomic responses to folivory of closely related plant species linked to macroevolutionary and plant-folivore coevolutionary processes? *Ecology and Evolution*, 6: 4372-4386.
- Rivas-Ubach, A.; Pérez-Trujillo, M.; Sardans, J.; Gargallo-Garriga, A.; Parella, T. & Penuelas, J. 2013. Ecometabolomics: optimized NMR-based method. *Methods in Ecology and Evolution*, 4: 464-473.
- Rivas-Ubach, A.; Sardans, J.; Pérez-Trujillo, M.; Estiarte, M. & Peñuelas, J. 2012. Strong relationship between elemental stoichiometry and metabolome in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109: 4181-4186.
- Robinson, A.R.; Ukrainetz, N.K.; Kang, K.Y. & Mansfield, S.D. 2007. Metabolite profiling of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) field trials reveals strong environmental and weak genetic variation. *New Phytologist*, 174: 762-773.
- Rodrigues, A.M.; Guimarães, D.O.; Konno, T.U.; Tinoco, L.W.; Barth, T.; Aguiar, F.A.; Lopes, N.P.; Leal, I.C.; Raimundo, J.M.; Muzitano, M.F. 2017. Phytochemical Study of *Tapirira guianensis* Leaves Guided by Vasodilatory and Antioxidant Activities. *Molecules*, 22(304): 1-12.

- Rodrigues, C.M.S.C.; Dutra, L.M.; Barison, A.; Costa, E.V. & Almeida, J.R.G.S. 2016. Isoquinoline alkaloids from the leaves of *Annona leptopetala* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 69: 222-225.
- Rodrigues, J.; Michelin, D.C.; Rinaldo, D.; Zocolo, G.J.; Santos, L.C.; Vilegas, W. & Salgado, H.R.N. 2008. Antimicrobial activity of *Miconia* species (Melastomataceae). *Journal of Medicinal Food*, 11(1): 120-126.
- Rodrigues, J.; Rinaldo, D.; Santos, L.C. & Vilegas, W. 2007. An unusual C6–C6 "linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). *Phytochemistry*, 68(13): 1781-1784.
- Rodrigues, J.; Rinaldo, D.; Silva, M.A.; Santos, L.C. & Vilegas, W. 2011. Secondary metabolites of *Miconia rubiginosa*. *Journal of Medicinal Food*, 14(7-8): 834-839.
- Rodrigues, P.A.; Morais, S.M.; Souza, C.M.; Magalhães, D.V.; Vieira, Í.G.; Andrade, G.M.; Rao, V.S.; & Santos, F.A. 2012. Gastroprotective effect of *Byrsonima sericea* DC leaf extract against ethanol-induced gastric injury and its possible mechanisms of action. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84(1): 113-122.
- Rodrigues, P.J.F.P. 2004. *A vegetação da Reserva Biológica União e os efeitos de borda na Mata Atlântica fragmentada*. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacases-RJ, 136p.
- Romeh, A.A. 2013. Phytochemicals from *Ficus sycomorus* L. leaves act as insecticides and acaricides. *African Journal of Agricultural Research*, 8: 3571-3579.
- Romeo, J.T.; Saunders, J.A. & Barbosa, P. 1996. *Phytochemical Diversity and Redundancy in Ecological Interactions*. New York: Plenum Press, 319p.
- Rosenthal, R. & Rosnow, R.L. 1985. *Contrast Analysis: Focused Comparisons in the Analysis of Variance*. Cambridge University Press, New York. 120p.
- Rosatto, D.R.; Hoffmann, W.A. & Franco, A.C. 2009. Características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central. *Acta Botanica Brasilica*, 23(2): 499-508.
- Rosatto, D.R.; Hoffmann, W.A.; Silva, L.D.C.R.; Haridasan, M.; Sternberg, L.S. & Franco, A.C. 2013. Seasonal variation in leaf traits between congeneric savanna and forest trees in Central Brazil: implications for forest expansion into savanna. *Trees*, 27: 1139-1150.
- Rout, S.P. & Kar, D.M. 2014. Identification of chemical compounds present in different fractions of *Annona reticulata* L. leaf by using GC–MS. *Natural Product Research*, 28(20): 1786-1788.

- Royer, M., Larbat, R., Le Bot, J., Adamowicz, S., & Robin, C. (2013). Is the C: N ratio a reliable indicator of C allocation to primary and defence-related metabolisms in tomato?. *Phytochemistry*, 88, 25-33.
- Sá, C.F.C. & Araújo, D.S.D. 2009. Estrutura Florística de uma floresta de restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, 60(1): 147-170.
- Saad, K.A.; Roff, M.N.M.; Hallett, R.H. & Idris, A.B. 2015. Aphid-induced Defences in Chilli Affect Preferences of the Whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Scientific Reports*, 5(13697): 1-9.
- Sagers, C.L. & Coley, P.D. 1995. Benefits and costs of defense in a neotropical shrub. *Ecology*, 76(6): 835-1843.
- Saiter, F.Z.; Wendt, T.; Villela, D.M. & Nascimento, M.T. 2009. Rain Forests: Floristics, 203-228p. *In: International commission on tropical biology and natural resources. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. Oxford: Eolss Publishers.
- Sakane, W.; Hara, N.; Fujimoto, Y.; Takaishi, Y.; Acuña, R.; Osorio, C. & Duque, C. 2005. Cupaniol, a new branched polyprenol, from *Cupania latifolia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(8): 1037-1039.
- Sampaio, B.L.; Edrada-Ebel, R. & Costa, F.B. 2016. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. *Scientific Reports*, 6.
- Samy, M.N.; Sugimoto, S.; Matsunami, K.; Otsuka, H. & Kamel, M.S. 2014. Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*. *Journal of Natural Products*, 7: 37-47.
- Sannomiya, M.; Cardoso, C.R.; Figueiredo, M.E.; Rodrigues, C.M.; Santos, L.C.; Santos, F.V.; Serpeloni, J.M.; Colus, I.M.S.; Vilegas, W. & Varanda, E.A. 2007. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermedia* A. Juss. leaf extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(2): 319-326.
- Sannomiya, M.; Fonseca, V.B.; Silva, M.A.; Rocha, L.R.M.; Santos, L.D.; Hiruma-Lima, C.A.; Souza-Brito, A.R. & Vilegas, W. 2005a. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1): 1-6.
- Sannomiya, M.; Michelin, D.C.; Rodrigues, C.M.; Santos, L.C.D.; Salgado, H.R.N.; Hiruma-Lima, C.A.; Brito, A.R.S.M. & Vilegas, W. 2005b. *Byrsonima crassa* Niedenzu (IK): antimicrobial activity and chemical study. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 26(1): 71-75.
- Sannomiya, M.; Montoro, P.; Piacente, S.; Pizza, C.; Brito, A.R. & Vilegas, W. 2005c. Application of liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass

- spectrometry to the analysis of polyphenolic compounds from an infusion of *Byrsonima crassa* Niedenzu. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, 19(16): 2244-2250.
- Sannomiya, M.; Rodrigues, C.M.; Coelho, R.G.; Santos, L.C.; Hiruma-Lima, C.A.; Brito, A.R.S. & Vilegas, W. 2004. Application of preparative high-speed counter-current chromatography for the separation of flavonoids from the leaves of *Byrsonima crassa* Niedenzu (IK). *Journal of Chromatography*, 1035(1): 47-51.
- Santos, J.C.; Carneiro, M.A.A. & Fernandes, G.W. 2012. Insetos galhadores neotropicais: diversidade e ecologia evolutiva dos herbívoros mais sofisticados da natureza, 183-199p. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M (eds.). *Ecologia das Interações Planta-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva*. Ed.1. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 336p.
- Sardans, J.; Peñuelas, J. & Rivas-Ubach, A. 2011. Ecological metabolomics: overview of current developments and future challenges. *Chemoecology*, 21: 191-225.
- Saunders, M.E. & Luck, G.W. 2013. Pan trap catches of pollinator insects vary with habitat. *Australian Journal of Entomology*, 52(2): 106-113.
- Scarano, F.R. 2009. Plant communities at the periphery of the Atlantic rain forest: rare-species bias and its risks for conservation. *Biological Conservation*, 142: 1201-1208.
- Senna, L.M.; Souza, G.R.; Bizzo, H.R. & Lima Moreira, D. 2011. Composição volátil das folhas de *Eugenia racemulosa* O. Berg. (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmácia*, 92(2): 51-54.
- Severi, J.A. 2007. *Uso sustentável da biodiversidade brasileira prospecção químico-farmacológica de plantas superiores: Guapira noxia (Nyctaginaceae)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista. Araraquara-SP, 89p.
- Severi, J.A. 2010. *Uso sustentável da biodiversidade brasileira: prospecção químicofarmacológica em plantas superiores: Guapira spp.* Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara-SP, 144p.
- Shibula, K. & Velavan, S. 2015. Determination of Phytocomponents in Methanolic Extract of *Annona muricata* Leaf Using GC-MS Technique. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(6): 1251-1255
- Silva, A.P. & Villela, D.M. 2015. Nutrientes foliares de espécies arbóreas na Mata Atlântica: efeito do tamanho do fragmento. *Ciência Florestal*, 25: 17-325.
- Silva, D.M. & Batalha, M.A. 2011. Defense syndromes against herbivory in a cerrado plant community. *Plant Ecology*, 212: 181-193.

- Silva, E.P. 2011. Novos alquienil benzofuranos e perfil de ácidos graxos presentes nas sementes e folhas de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae). Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal da Bahia, 77p.
- Silva, H.R.V. 2012. Prospecção fitoquímica e avaliação das ações mutagênica, genotóxica e antioxidante de figueiras brasileiras – *Ficus subg. Pharmacosycea* (Miq.) Miq. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Vicoso-MG, 59p.
- Silva, J.O., Jesus, F.M., Fagundes, M. & Fernandes, G W. 2009. Esclerofilia, taninos e insetos herbívoros associados a *Copaifera lagsdorffii* Desf. (Fabaceae: Caesalpinioideae) em área de transição Cerrado-Caatinga no Brasil. *Ecologia Austral*, 19: 197-206.
- Silva, J.O. & Neves, F.S. 2014. Insect herbivores associated with an evergreen tree *Goniorrhachis marginata* Taub. (Leguminosae: Caesalpinioideae) in a tropical dry forest. *Brazilian Journal of Biology*, 74(3): 623-631.
- Silva, J.O.; Espírito-Santo, M.M. & Melo, G.A. 2012. Herbivory on *Handroanthus ochraceus* (Bignoniaceae) along a successional gradient in a tropical dry forest. *Arthropod-Plant Interactions*, 6: 45-57.
- Silva, J.O.; Espírito-Santo, M.M. & Morais, H.C. 2015. Leaf traits and herbivory on deciduous and evergreen trees in a tropical dry forest. *Basic and Applied Ecology*, 16: 210-219.
- Silva, L.D.B. & Medeiros, J.D. 2005. Herbivoria em *Psidium cattleianum* Sab. (Myrtaceae). *INSULA Revista de Botânica*, 34: 83-94.
- Silva-Brandão, K.L. & Freitas, A.V.L. 2012. Interações entre borboletas e plantas, 169-170p. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M (Ed.). *Ecologia das Interações Planta-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva*. Ed.1. Rio de Janeiro: Technical Books, 336p.
- Silveira, V.R.; Monteiro, R.F. & Macedo, M.V. 2008. Larvas de insetos associadas a *Clusia hilariana* Schltld. (Clusiaceae) na Restinga de Jurubatiba, RJ, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52: 57-61.
- Siqueira, C.A.; Oliani, J.; Sartoratto, A.; Queiroga, C.L.; Moreno, P.R.; Reimão, J.Q.; Tempone, A.G. & Fischer, D.C. 2011. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and in vitro antiprotozoal activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(1), 33-40.
- Siqueira, M.J.; Bomm, D.M.; Pereira, G.F.N.; Garcez, S.W. & Boaventura, D.A.M. 1998. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Aartemia salina* Leach. *Química Nova*, 21: 557-559.

- Souza, A.D.; Lopes, E.M.C.; Silva, M.C.D.; Cordeiro, I.; Young, M.C.M.; Sobral, M.E. & Moreno, P.R. 2010. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of essential oils of *Myrceugenia myrcioides* (Cambess.) O. Berg and *Eugenia riedeliana* O. Berg, Myrtaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(2): 175-179.
- Souza, D.G.; Santos, B.A., Wirth, R.; Leal, I.R. & Tabarelli, M. 2013. Community-Level Patterns of Insect Herbivory in a Fragmented Atlantic Forest Landscape. *Environmental Entomology*, 42(3): 430-437.
- Souza, D.G.; Santos, J.C.; Oliveira, M.A. & Tabarelli, M. 2016. Shifts in Plant Assemblages Reduce the Richness of Galling Insects Across Edge-Affected Habitats in the Atlantic Forest. *Environmental Entomology*, 45: 1161-1169.
- Souza, J.N.S.; Silva, E.M.; Silva, M.N.; Arruda, M.S.P.; Larondelle, Y. & Rogez, H. 2007. Identification and antioxidant activity of several flavonoids of *Inga edulis* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(6): 1276-1280.
- Souza, R.C.; Correia, M.E.F.; Pereira, M.G.; Silva, E.M.R.; Paula, R. R.; Menezes, L.F.T. 2008. Estrutura da comunidade da fauna edáfica em fragmentos florestais na Restinga da Marambaia, RJ. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 3: 49-57.
- Statsoft. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.
- Sterck, F.; Van Der Meer, P. & Bongers, F. 1992. Herbivory in two rain forest canopies in French Guyana. *Biotropica*, 24: 97-99.
- Subba, B. & Aryal, P. 2016. Study of Biological Activity and Chemical Constituent of *Annona Reticulata*. *Journal of Institute of Science and Technology*, 21(1), 157-163.
- Sucupira, N.R.; Silva, A.B.; Pereira, G. & Costa, J.N. 2015. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *Journal of Health Sciences*, 14(4).
- Suryati, S; Nurdin, H.; Dachriyanus, D. & Lajis, M.H.J. 2011. Structure elucidation of antibacterial compound from *Ficus deltoidea* Jack leaves. *Indonesian Journal of Chemistry*, 11(1): 67-70.
- Tabarelli, M.; Pinto, L.P.; Silva, J.M.C.; Hirota, M.M.; Bedê, L.C. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira: *Megadiversidade*, 1(1): 132-138.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2006. *Fisiologia vegetal*. 3ed. Porto Alegre: Artmed.
- Tanae, M.M.; Lima-Landman, M.T.R.; Lima, T.C.M.; Souccar, C. & Lapa, A.J. 2007. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth

- endowed with antihypertensive, bronchodilator, antiacid secretion and antidepressant-like activities. *Phytomedicine*, 14(5): 309-313.
- Tao, L.; Berns, A.R. & Hunter, M.D. 2014. Why does a good thing become too much? Interactions between foliar nutrients and toxins determine performance of an insect herbivore. *Functional Ecology*, 28: 190-196.
- Tchuenmogne, A.M.; Donfack, E.V.; Kongue, M.D.; Lenta, B.N.; Ngouela, S.; Tsamo, E.; Sidhu, N.; Dittrich, B.; & Laatsch, H. 2013. Ingacamerounol, A New Flavonol and Other Chemical Constituents from Leaves and Stem Bark of *Inga edulis* Mart. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 34(12): 3859-3822.
- Teles, M.N.O.; Dutra, L.M.; Barison, A. & Costa, E.V. 2015. Alkaloids from leaves of *Annona salzmannii* and *Annona vepretorum* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 61: 465-469.
- Thang, T.D.; Kuo, P.C.; Huang, G.J.; Hung, N.H.; Huang, B.S.; Yang, M.L.; Luong, N.X. & Wu, T.S. 2013. Chemical constituents from the leaves of *Annona reticulata* and their Inhibitory Effects on NO Production. *Molecules*, 18(4): 4477-4486.
- The Plant List. 2013. Version 1.1. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>> Acesso em: 1 Jan. 2017.
- Thomazi, R.D.; Rocha, R.T.; Oliveira, M.V.; Bruno, A.S. & Silva, A.G. 2013. Um panorama da vegetação das restingas do Espírito Santo no contexto do litoral brasileiro. *Natureza Online*, 11: 1-6.
- Thomazini, M.J. & Thomazini, A.P.D.B.W. 2002. *Levantamento de insetos e análise entomofaunística em floresta, capoeira e pastagem no Sudeste acreano*. Rio Branco: Embrapa, 41p.
- Townsend, A.R.; Asner, G.P. & Cleveland C.C. 2008. The biogeochemical heterogeneity of tropical forests. *Trends in Ecology and Evolution*, 23: 424-431.
- Tracanna, M.I.; Amania, S.M.; Romano, E.; Raschi, A.B.; Molina, L.H.; Piro, O.E.; Castellano, E.E. & Benaventea, A.M. 2010. Crystal structure, spectroscopic properties and antimicrobial activity of 4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-6, 8-dimethyl from *Miconia ioneura* Griseb. Melastomataceae. *Molecular Medicinal Chemistry*, 21: 94-104.
- Trigo, J.R.; Pareja, M. & Massuda, K.F. 2012. O papel das substâncias químicas nas interações entre plantas e insetos herbívoros, 67-70p. In: Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H.M. *Ecologia das Interações Planta-animais: uma abordagem ecológico-evolutiva*. Ed.1. Rio de Janeiro: Technical Books, 336p.
- Triplehorn, C.A. & Johnson, N.F. 2011. *Estudo dos insetos*. São Paulo: Cengage Learning. 816p.

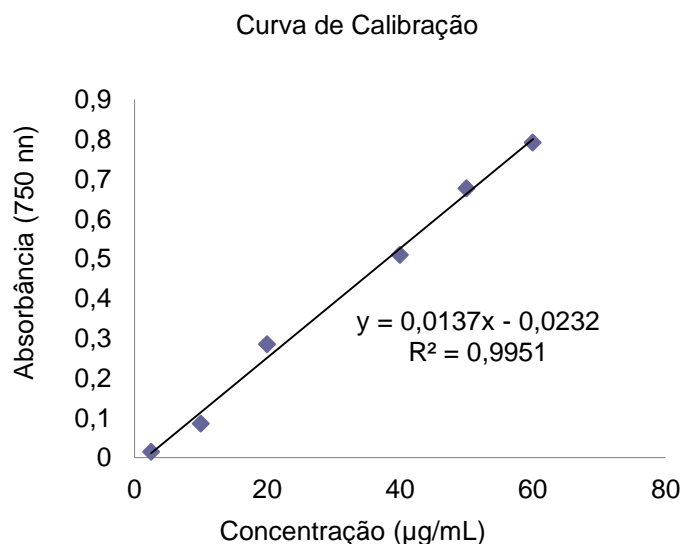
- Türker-Kaya, S. & Huck, C.W. 2017. A Review of mid-infrared and near-infrared imaging: principles, concepts and applications in plant tissue analysis. *Molecules*, 22 (168): 1-20.
- Van Asch, M. & Visser, M.E. 2007. Phenology of forest caterpillars and their host trees: The importance of synchrony. *Annual Review of Entomology*, 52: 37-55.
- Vanitha, V.; Umadevi, K.J. & Vijayalakshmi, K. 2011. Determination of bioactive components of *Annona squamosa* L leaf by GC-MS analysis. *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research*, 3(4): 309-312.
- Varanda, E.M.; Costa, A.A.; & Barosela, J.R. 2008. Leaf development in *Xylopia aromatica* (Lam) Mart. (Annonaceae): implications for palatability to *Stenoma scitiorella* Walker 1864 (Lepidoptera: Elachistidae). *Brazilian Journal of Biology*, 68: 831-836.
- Vega, M.R.G.; Esteves-Souza, A.; Vieira, I.J.C.; Mathias, L.; Braz-Filho, R. & Echevarria, A. 2007. Flavonoids from *Annona dioica* leaves and their effects in Ehrlich carcinoma cells, DNA-topoisomerase I and II. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(8): 1554-1559.
- Vendramin, M.E.; Costa, E.V.; Santos, E.P.; Pinheiro, M.L.B.; Barison, A. & Campos, F.R. 2013. Chemical constituents from the leaves of *Annona rugulosa* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 49: 152-155.
- Verdam, M.C.D.S; Guilhon-Simplicio, F.; Andrade, K.C.D.; Fernandes, K.L.M.; Machado, T.M.; Silva, F.M.A; Souza, M.P.; Koolen, H.H.F.; Paula, C.S.; Hirota, B.C.K.; Oliveira, V.B.; Miyazaki, C.M.S.; Kalegari, M.; Miguel, M.D.; Stuelp-Campelo, P.M. & Miguel, O.G. 2017. Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities of *Byrsonima duckeana* WR Anderson (Malpighiaceae). *The Scientific World Journal*, 1-8.
- Vila, R.; Iglesias, J.; Cañigüeral, S.; Santana, A.I.; Solís, P.N. & Gupta, M.P. 2004. Constituents and Biological Activity of the Essential Oil of *Eugenia acapulcensis* Steud. *Journal of Essential Oil Research*, 16(4): 384-386.
- Vila-Nova, N.S.; Morais, S.M.D.; Falcão, M.J.C.; Machado, L.K.A.; Beviláqua, C.M.L.; Costa, I.R.S.; Brasil, N.V.G.P.S. & Andrade Júnior, H.F.D. 2011. Leishmanicidal activity and cytotoxicity of compounds from two Annonacea species cultivated in Northeastern Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(5): 567-571.
- Villas-Bôas, S.G. & Gombert, A.K. 2006. Análise do metaboloma. Uma ferramenta biotecnológica emergente na era pós-genômica. *Biociência*, 36: 58-69.

- Vitousek, P.M. & Howarth R.W. 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea-how can it occur. *Biogeochemistry*, 13:87-115.
- Vivot, E.; Muñoz, J.D.; Cruaños, M.D.C.; Cruaños, M.J.; Tapia, A.; Hirschmann, G.S.; Martínez, E.; Sapio, O.D.; Gattuso, M. & Zacchino, S. 2001. Inhibitory activity of xanthine-oxidase and superoxide scavenger properties of *Inga verna* subsp. *affinis*. Its morphological and micrographic characteristics. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(1): 65-71.
- Wang, L.Q.; Min, B.S.; Li, Y.; Nakamura, N.; Qin, G.W.; Li, C.J. & Hattori, M. 2002. Annonaceous acetogenins from the leaves of *Annona montana*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(3): 561-565.
- Webb, C.O.; Ackerly, D.D.; Mcpeek, M.A. & Donoghue, M.J. 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 475-505.
- Whittaker, R.H. 1972. Evolution and measurement of species diversity. *Taxon*, 21: 213-251.
- WIDARTO, H.T.; MEIJDEN, E.V.D.; LEFEBER, A.W.M.; ERKELENS, C.; KIM, H.K.; CHOI, Y.H. & VERPOORTE, R. 2006. Metabolomic Differentiation of *Brassica rapa* Following Herbivory by Different Insect Instars using Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Chemical Ecology*, 32: 2417-2428.
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64: 3-19.
- Wink, M. 2008. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. *Natural Product Communications*, 3: 1205-1216.
- Witkowski, E.T.F. & Lamont, B.B., 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, 88: 486-493.
- Wolda, H. 1988. Seasonality: Why? *Annual Review of Ecology and Systematics*, 19: 1-18.
- Wu, C.C; Tsui, C.C; Hseih, C.F.; Asio, V.C. & Chen, Z.S. 2007. Mineral nutrient status of tree species in relation to environmental factors in the subtropical rain forest of Taiwan. *Forest Ecology and Management*, 239: 81-91.
- Wu, F.E.; Gu, Z.M.; Zeng, L.U.; Zhao, G.X.; Zhang, Y.; Mclaughlin, J.L. & Sastrodihardjo, S. 1995a. Two new cytotoxic monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins, annomuricins A and B, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, 58(6): 830-836.
- Wu, F.E.; Zeng, L.; Gu, Z.M.; Zhao, G.X.; Zhang, Y.; Schwedler, J.T.; Mclaughlin, J.L. & Sastrodihardjo, S. 1995b. Muricatocins A and B, two new bioactive

- monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins from the leaves of *Annona muricata*. *Journal Of Natural Products*, 58(6): 902-908.
- Wu, F.E.; Zeng, L.; Gu, Z.M.; Zhao, G.X.; Zhang, Y.; Schwedler, J.T.; Mclaughlin, J.L. & Sastrodihardjo, S. 1995c. New bioactive monotetrahydrofuran Annonaceous acetogenins, annomuricin C and muricatocin C, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, 58(6): 909-915.
- Wu, F.E.; Zhao, G.X.; Zeng, L.; Zhang, Y.; Schwedler, J.T.; Mclaughlin, J.L. & Sastrodihardjo, S. 1995d. Additional bioactive acetogenins, annomutacin and (2, 4-trans and cis)-10R-annonacin-A-ones, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal Of Natural Products*, 58(9): 1430-1437.
- Wu, Y.C.; Chang, G.Y.; Chang-Yih, D. & Shang-Kwei, W. 1993. Cytotoxic alkaloids of *Annona montana*. *Phytochemistry*, 33(2): 497-500.
- Yang, Y.C.; Lee, S.H.; Lee, W.J.; Choi, D.H. & Ahn, Y.J. 2003. Ovicidal and adulticidal effects of *Eugenia caryophyllata* bud and leaf oil compounds on *Pediculus capitis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17): 4884-4888.
- Zatelli, G.A. 2015. Investigação fitoquímica e biológica de *Eugenia hiemalis* Cambessèdes (Myrtaceae). Dissertação (Mestrado em Farmácia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 217p.
- Zeng, L.; Wu, F.E. & Mclaughlin, J.L. 1995a. Annohexocin, a novel mono-THF acetogenin with six hydroxyls, from *Annona muricata* (Annonaceae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 5(16): 1865-1868.
- Zeng, L.; Wu, F.E.; Gu, Z.M. & Mclaughlin, J.L. 1995b. Murihexocins A and B, two novel mono-THF acetogenins with six hydroxyls, from *Annona muricata* (Annonaceae). *Tetrahedron Letters*, 36(30): 5291-5294.
- Zeng, L.; Wu, F.E.; Oberlies, N.H.; Mclaughlin, J.L. & Sastrodihardjo, S. 1996. Five new monotetrahydrofuran ring acetogenins from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, 59(11): 1035-1042.
- Zhang, Z.; Elsohly, H.N.; Li, X.C.; Khan, S.I.; Broedel, S.E.; Raulli, R.E.; Cihlar, L.R. & Walker, L.A. 2003. Flavanone glycosides from *Miconia trailii*. *Journal of Natural Products*, 66(1): 39-41.
- Zimmermann, T.G.; Andrade, A. & Richardson, D.M. 2016. Experimental assessment of factors mediating the naturalization of a globally invasive tree on sandy coastal plains: a case study from Brazil. *AoB Plants*, 8: plw042.
- Zoghbi, M.D.G.B.; Pereira, R.A.; Lima, G.D.S.L.D. & Bastos, M.D.N.D.C. 2014. Variation of essential oil composition of *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae) from two sandbank forests, north of Brazil. *Química Nova*, 37: 1188-1192.

ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibração de ácido gálico em µg/mL utilizada nas análises de fenóis totais. (melhorar a figura).



Anexo 2. Classes de metabólitos especiais presentes em folhas dos gêneros utilizados no presente estudo até abril de 2017.

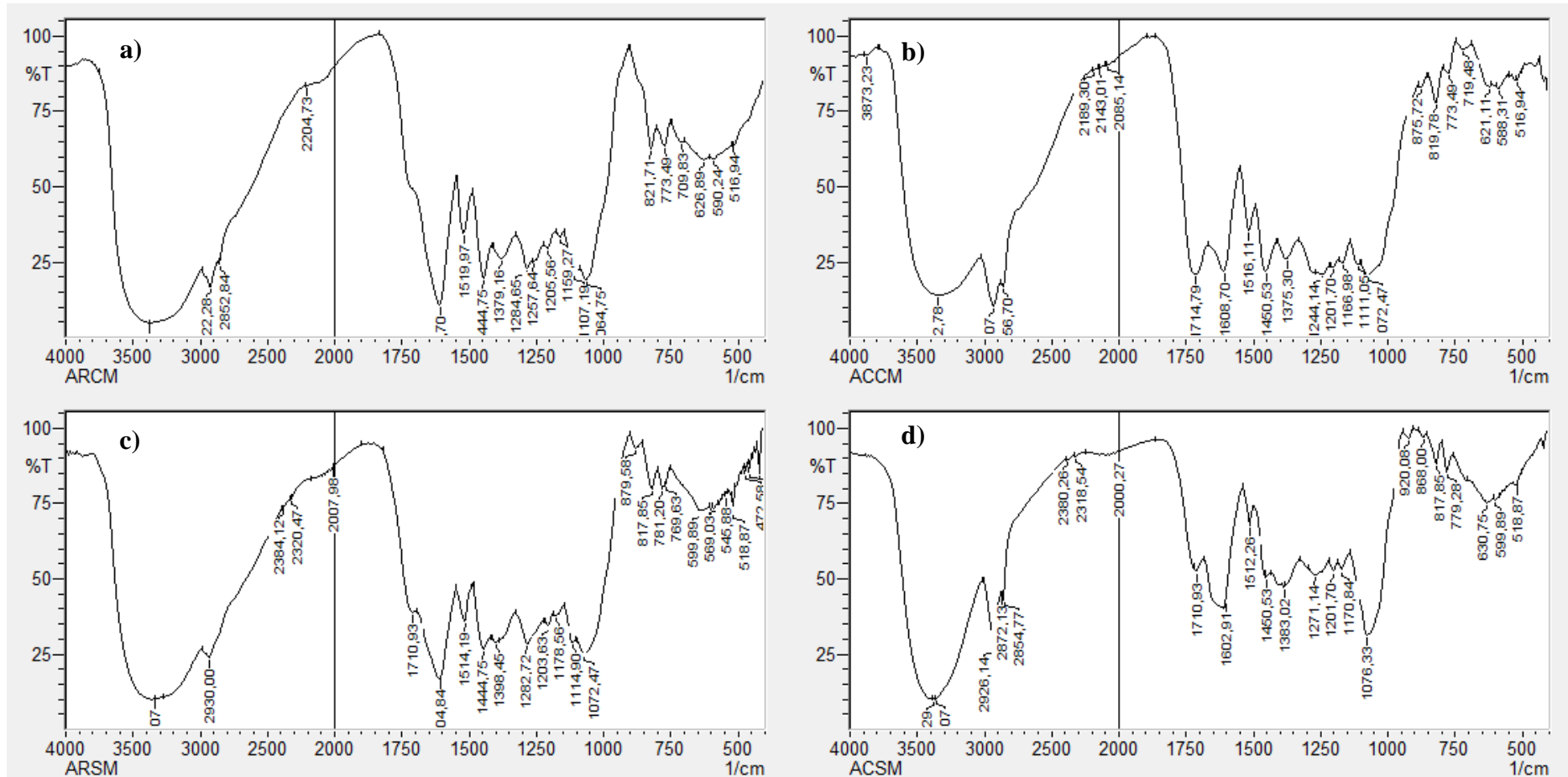
Gênero	Classes de compostos	Referências
<i>Annona</i>	Compostos fenólicos	Vega <i>et al.</i> , 2007; Vanitha <i>et al.</i> , 2011; Bicacho <i>et al.</i> , 2012; Dutra <i>et al.</i> , 2012; Matsushige <i>et al.</i> 2012; Nawwar <i>et al.</i> 2012; Araújo <i>et al.</i> , 2014a; Lage <i>et al.</i> , 2014
	Terpenos	Ekundayo & Oguntimein, 1986; Wu <i>et al.</i> , 1993; Pélissier <i>et al.</i> , 1994; Joy & Rao, 1997; Oliveira <i>et al.</i> , 2002; Ríos <i>et al.</i> , 2003; López-Rubalcava <i>et al.</i> , 2006; Ogunwande <i>et al.</i> , 2006; Kossouh <i>et al.</i> , 2007; Patel & Kumar, 2008; Costa <i>et al.</i> , 2009b; Ahmed <i>et al.</i> , 2010; Nkounkou-Loumpangou <i>et al.</i> , 2010; Ameen <i>et al.</i> , 2011; Siqueira <i>et al.</i> , 2011; Vanitha <i>et al.</i> , 2011; Dutra <i>et al.</i> , 2012; Matsushige <i>et al.</i> , 2012; Oliani, 2012; Formagio <i>et al.</i> , 2013; Oliani <i>et al.</i> , 2013; Thang <i>et al.</i> , 2013; Vendramin <i>et al.</i> , 2013; Matsumoto <i>et al.</i> , 2014; Shibula & Velavan, 2015; Subba & Aryal, 2016

	Alcaloides	Wu <i>et al.</i> , 1993; Luna <i>et al.</i> , 2006; Mohanty <i>et al.</i> , 2008; Magadula <i>et al.</i> , 2009; Vila-Nova <i>et al.</i> , 2011; Dutra <i>et al.</i> , 2012; Matsushige <i>et al.</i> , 2012; Oliani, 2012; Vendramin <i>et al.</i> , 2013; Rabêlo, 2014; Shibula & Velavan, 2015; Teles <i>et al.</i> , 2015; Rodrigues <i>et al.</i> , 2016
	Acetogeninas	WU <i>et al.</i> , 1995a; WU <i>et al.</i> , 1995b; WU <i>et al.</i> , 1995c; WU <i>et al.</i> , 1995d; Zeng & McLaughlin, 1995; Zeng <i>et al.</i> , 1995; Zeng <i>et al.</i> , 1996; Kim <i>et al.</i> , 1998a; Kim <i>et al.</i> , 1998b; Liu <i>et al.</i> , 1999; Liaw <i>et al.</i> , 2002; Wang <i>et al.</i> , 2002; Chang <i>et al.</i> , 2003; Mulia <i>et al.</i> , 2013; Araújo <i>et al.</i> , 2014a; Moraes <i>et al.</i> , 2016
	Outros	Pélissier <i>et al.</i> , 1994; Ogunwande <i>et al.</i> , 2006; Kossouh <i>et al.</i> 2007; Ahmed <i>et al.</i> , 2010; Vanitha <i>et al.</i> 2011; Nawwar <i>et al.</i> , 2012; Abubacker & Deepalakshmi, 2013; Rout & Kar, 2014; Gavamukulya <i>et al.</i> , 2015; Shibula & Velavan, 2015
<i>Ficus</i>	Compostos fenólicos	el-Kholy & Shaban, 1966; Innocenti <i>et al.</i> , 1982; Ahmed <i>et al.</i> , 1988; Deraniyagala <i>et al.</i> , 1998; Basudan <i>et al.</i> , 2005; Chang <i>et al.</i> , 2005; Farag, 2005; Greenham <i>et al.</i> , 2007; El-Sayed <i>et al.</i> , 2010; El-Fishawy <i>et al.</i> , 2011; Liu <i>et al.</i> , 2011; Omar <i>et al.</i> , 2011; Choo <i>et al.</i> , 2012; Aly <i>et al.</i> , 2013; Alqasoumi <i>et al.</i> , 2014; Badgujar <i>et al.</i> , 2014
	Terpenos	Mohd <i>et al.</i> , 2009; El-Sayed <i>et al.</i> , 2010; Oliveira <i>et al.</i> , 2010; Muanda <i>et al.</i> , 2010; El-Fishawy <i>et al.</i> , 2011; Suryati <i>et al.</i> , 2011; Romeh, 2013; Alqasoumi <i>et al.</i> , 2014; Badgujar <i>et al.</i> , 2014; Essien <i>et al.</i> , 2016
	Alcaloides	Baumgartner <i>et al.</i> , 1990
	Outros	Farag, 2005; Muanda <i>et al.</i> , 2010; Oliveira <i>et al.</i> , 2010; Aly <i>et al.</i> , 2013; Romeh, 2013, Badgujar <i>et al.</i> , 2014; Essien <i>et al.</i> , 2016

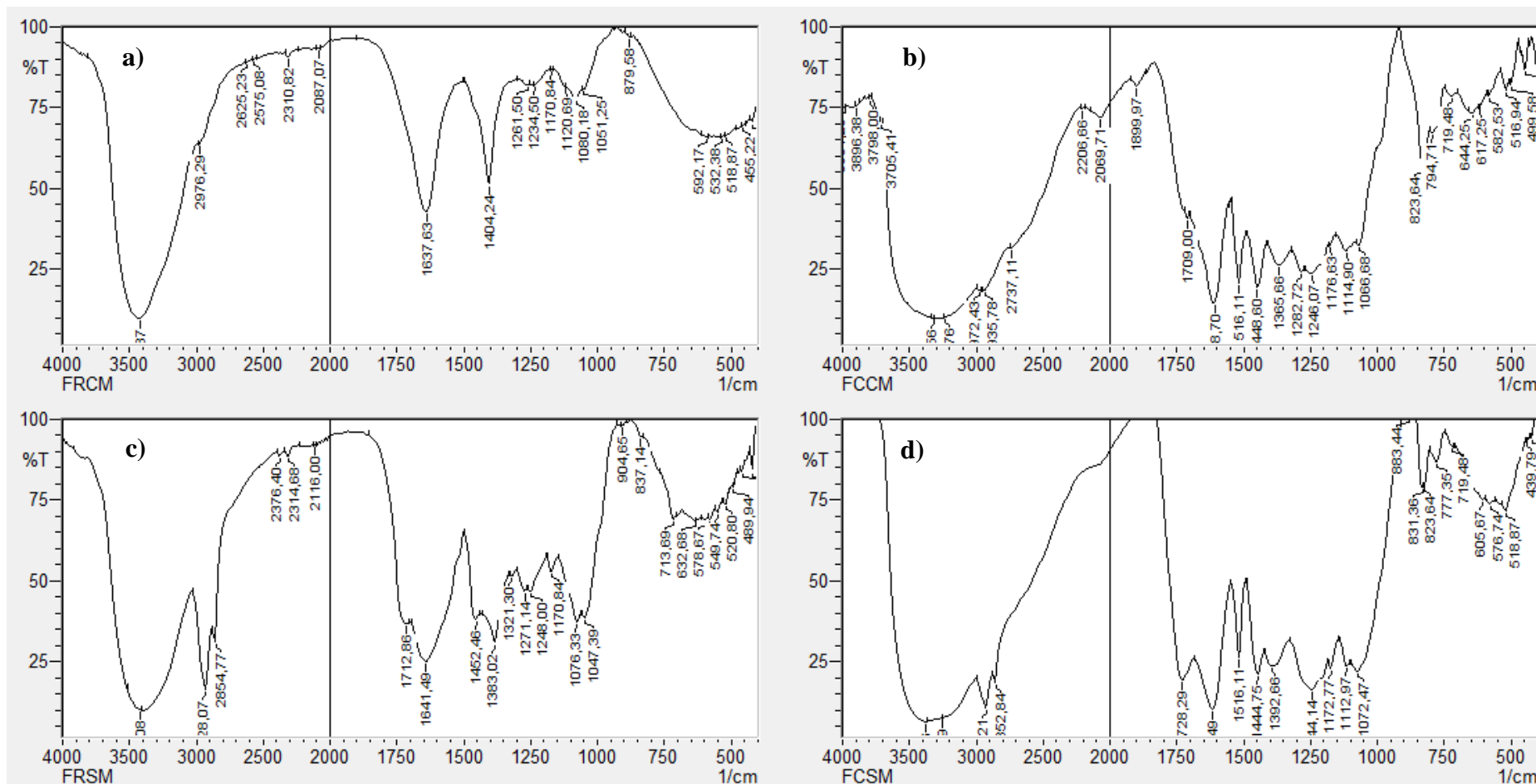
<i>Cecropia</i>	Compostos fenólicos	Andrade-Cetto & Wiedenfeld, 2001; Oliveira <i>et al.</i> , 2003; Lokvam <i>et al.</i> , 2004; Kursar <i>et al.</i> 2009; Costa <i>et al.</i> , 2011; Li <i>et al.</i> , 2013; Brango-Vanegas <i>et al.</i> 2014; Müller <i>et al.</i> , 2016
	Terpenos	Li <i>et al.</i> , 2013
	Outros	Tanae <i>et al.</i> , 2007
<i>Inga</i>	Compostos fenólicos	Vivot <i>et al.</i> , 2001; Coley <i>et al.</i> , 2005; Lokvam & Kursar, 2005; Souza <i>et al.</i> , 2007; Kursar <i>et al.</i> , 2009; Dias <i>et al.</i> , 2010; Tchuenmogne <i>et al.</i> , 2013
	Terpenos	Tchuenmogne <i>et al.</i> , 2013; Furtado, 2014
	Aminoácidos não proteicos	Morton <i>et al.</i> , 1991; Coley <i>et al.</i> , 2005
	Outros	Tchuenmogne <i>et al.</i> , 2013; Furtado, 2014
<i>Byrsonima</i>	Compostos fenólicos	Dosseh <i>et al.</i> , 1980; Bejar <i>et al.</i> , 1995; Mendes <i>et al.</i> , 1999; Sannomiya <i>et al.</i> , 2004; Figueiredo <i>et al.</i> , 2005; Sannomiya <i>et al.</i> , 2005a, 2005b, 2005c; Sannomiy <i>et al.</i> , 2005c; Cardoso <i>et al.</i> , 2006; Sannomiya <i>et al.</i> , 2007; Lira <i>et al.</i> , 2008; Castillo-Avila <i>et al.</i> , 2009; Rinaldo <i>et al.</i> , 2010; Rodrigues <i>et al.</i> , 2012; Verdam <i>et al.</i> 2017
	Terpenos	Dosseh <i>et al.</i> , 1980; Bejar <i>et al.</i> , 1995; Mendes <i>et al.</i> , 1999; Higuchi <i>et al.</i> , 2008; Lira <i>et al.</i> , 2008; Verdam <i>et al.</i> , 2017
	Outros	Amarquaye <i>et al.</i> , 1994; Bejar <i>et al.</i> , 1995; Rastrelli <i>et al.</i> , 1997; Lira <i>et al.</i> , 2008
<i>Cupania</i>	Terpenos	Sakane <i>et al.</i> , 2005
<i>Tapirira</i>	Compostos fenólicos	Compagnone <i>et al.</i> , 1997; Correia <i>et al.</i> , 2008; Silva, 2011; Rodrigues <i>et al.</i> , 2017
	Terpenos	Correia <i>et al.</i> , 2008; Silva, 2011; Bichara <i>et al.</i> , 2014

<i>Eugenia</i>	Compostos fenólicos	Kim <i>et al.</i> , 2001; Kala <i>et al.</i> , 2011; Kala <i>et al.</i> , 2012; Pai <i>et al.</i> , 2012; Rattmann <i>et al.</i> , 2012; Carvalho, 2013; Dametto, 2014; Samy <i>et al.</i> , 2014; Zatelli, 2015; Costa <i>et al.</i> , 2016
	Terpenos	Craveiro <i>et al.</i> , 1983; Dellacassa <i>et al.</i> , 1997; Junges <i>et al.</i> , 1999; Medeiros <i>et al.</i> , 2003; Yang <i>et al.</i> , 2003; Vila <i>et al.</i> , 2004; Fischer <i>et al.</i> , 2005; Melo <i>et al.</i> , 2007; Costa <i>et al.</i> , 2009a; Nakamura <i>et al.</i> , 2010; Souza <i>et al.</i> , 2010; Armstrong, 2011; Defaveri <i>et al.</i> , 2011; Kala <i>et al.</i> , 2011; Raj <i>et al.</i> , 2011; Senna <i>et al.</i> , 2011; Kala <i>et al.</i> , 2012; Moraes <i>et al.</i> , 2012; Pai <i>et al.</i> , 2012; Samy <i>et al.</i> , 2014; Cunha <i>et al.</i> , 2015; Mohammed <i>et al.</i> , 2015; Moresco <i>et al.</i> , 2016
	Outros	Dellacassa <i>et al.</i> , 1997; Yang <i>et al.</i> , 2003; Fischer <i>et al.</i> , 2005; Armstrong, 2011; Defaveri <i>et al.</i> , 2011; Kala <i>et al.</i> , 2011; Kala <i>et al.</i> , 2012; Mohammed <i>et al.</i> , 2015; Zatelli, 2015
<i>Miconia</i>	Compostos fenólicos	Li <i>et al.</i> , 2001; Zhang <i>et al.</i> , 2003; Rodrigues <i>et al.</i> , 2007; Rodrigues <i>et al.</i> , 2008; Tracanna <i>et al.</i> , 2010; Rodrigues <i>et al.</i> , 2011
	Terpenos	Chan <i>et al.</i> , 1992; Diniz <i>et al.</i> , 2006
	Outros	Gunatilaka <i>et al.</i> , 2001.
<i>Guapira</i>	Compostos fenólicos	Severi, 2007; Severi, 2010, Severi <i>et al.</i> , 2010; Alves, 2015; Almeida, 2016
	Terpenos	Severi, 2010
	Saponinas	Severi, 2010; Severi <i>et al.</i> , 2010
	Outros	Severi, 2007; Severi, 2010; Severi <i>et al.</i> , 2010

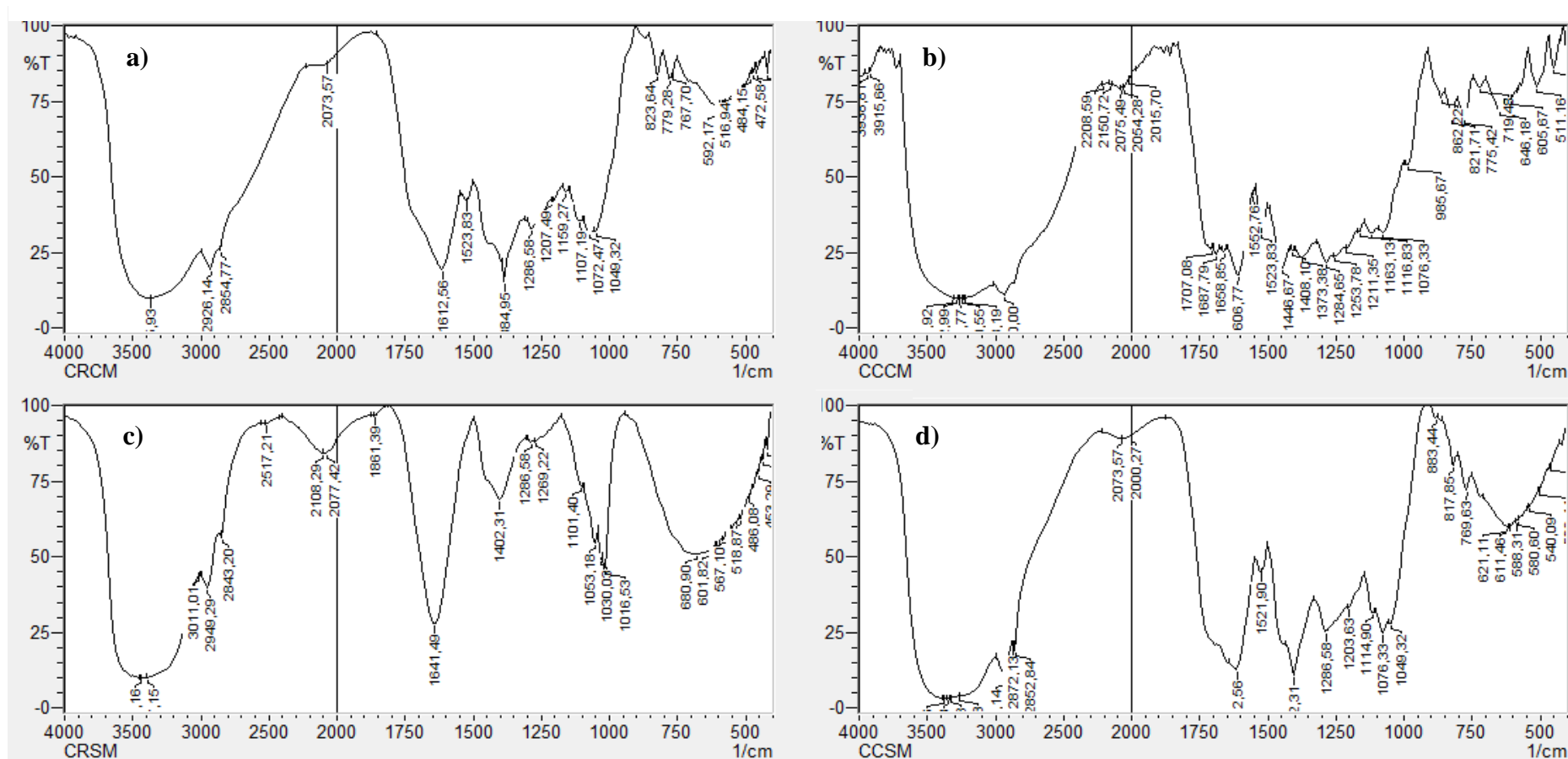
Anexo 3. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Annona* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na floresta de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



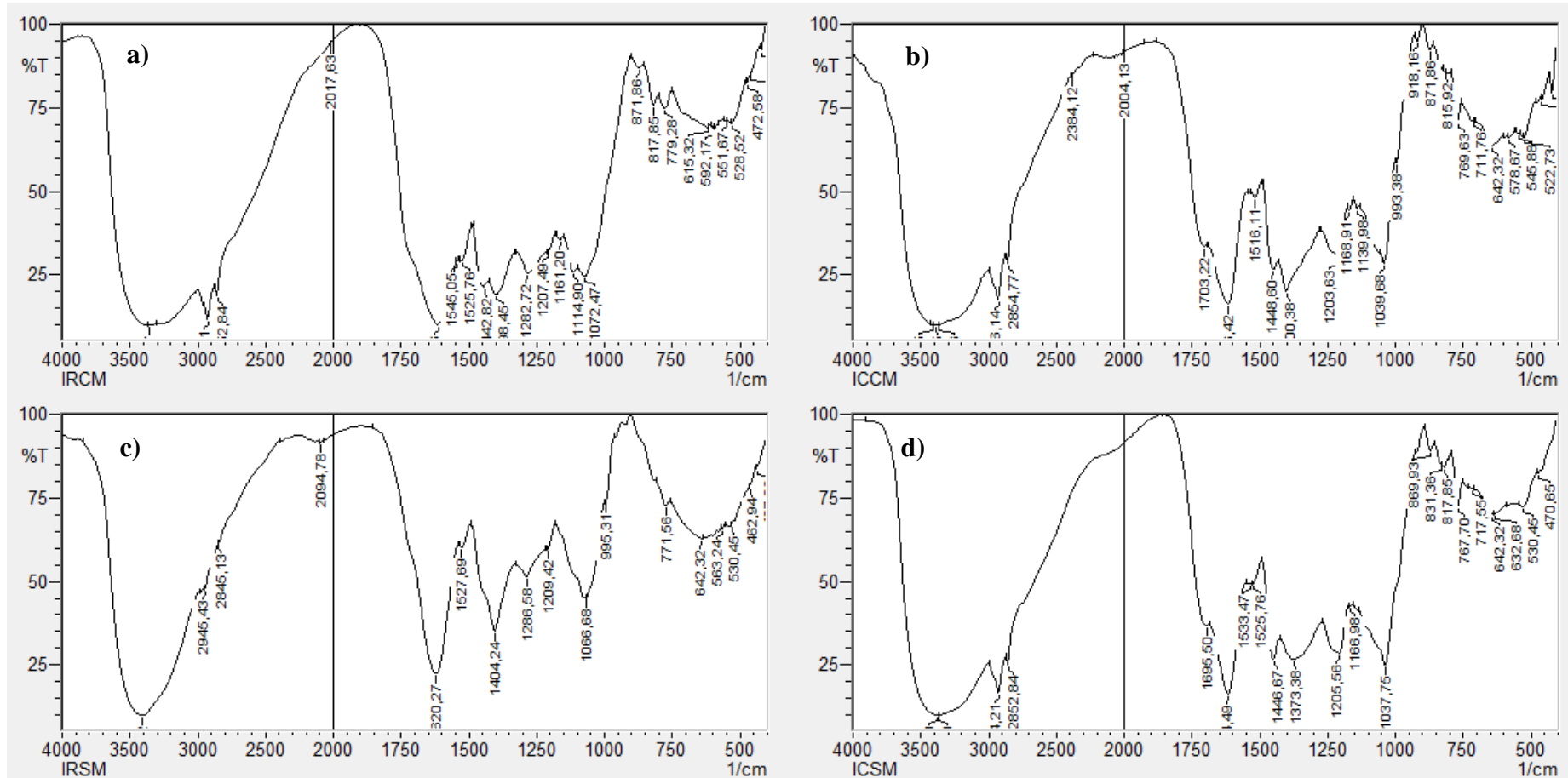
Anexo 4. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Ficus* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na floresta de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



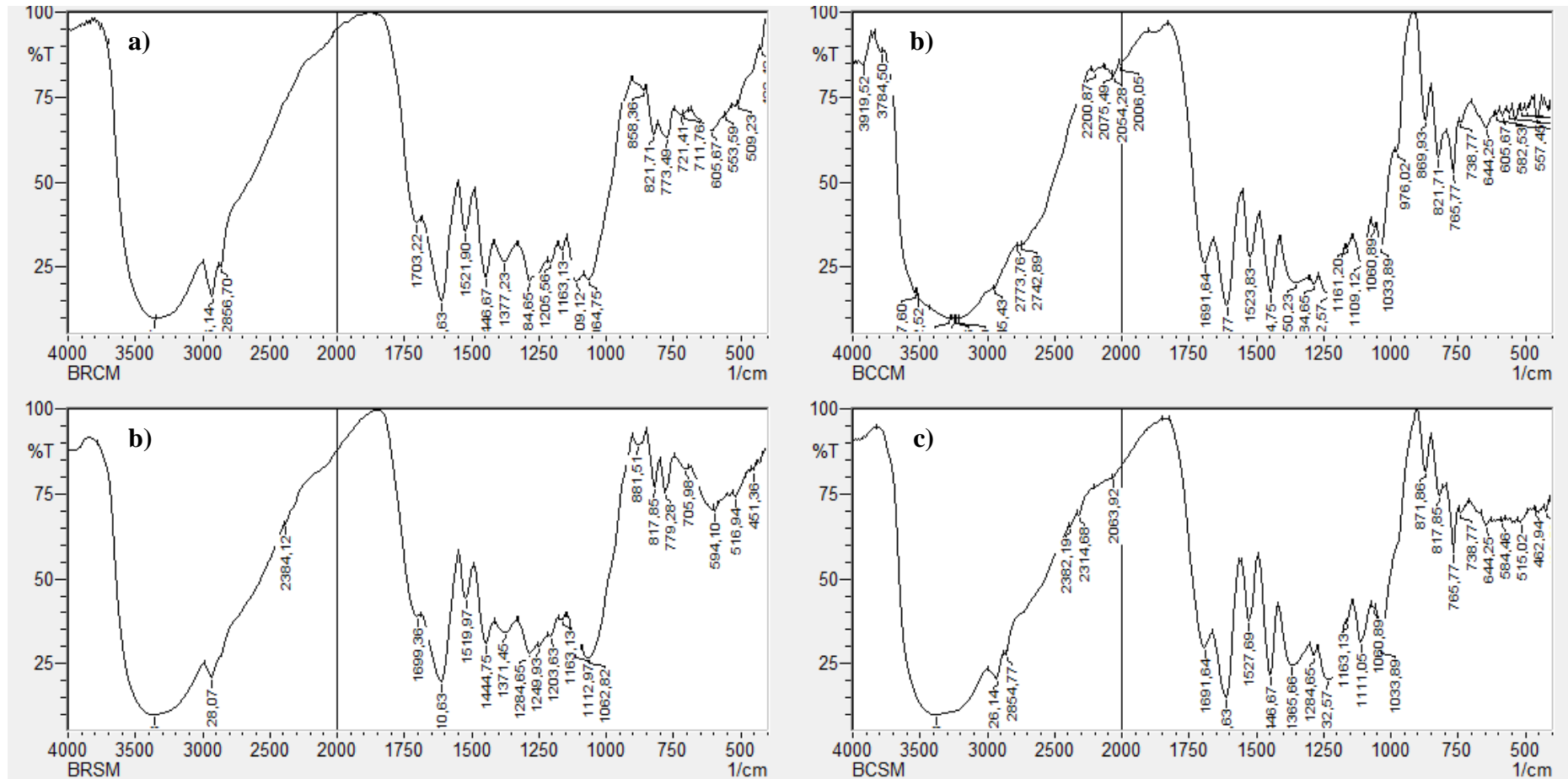
Anexo 5. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Cecropia* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na floresta de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



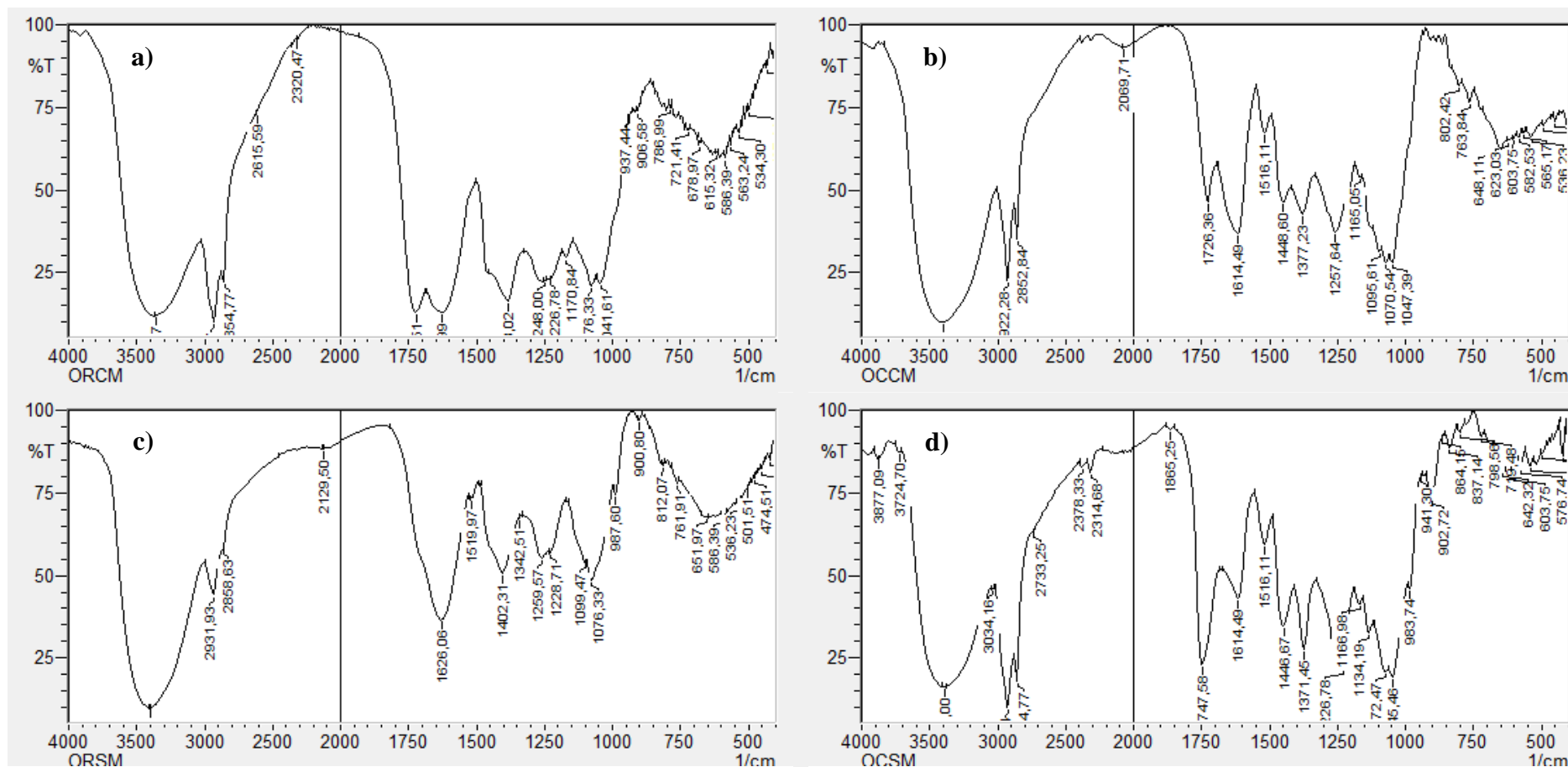
Anexo 6. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Inga* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na floresta de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



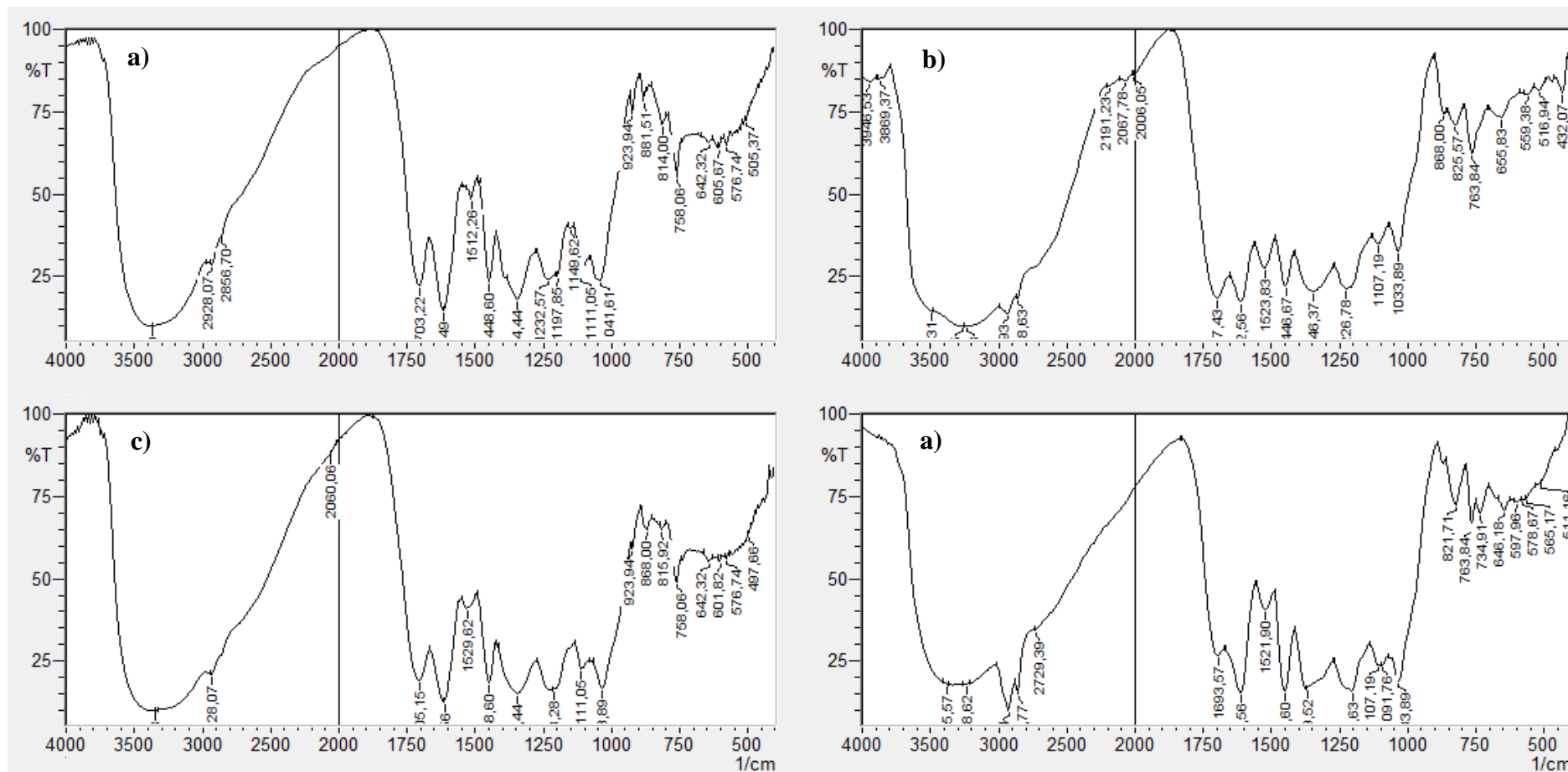
Anexo 7. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas de *Byrsonima sericea* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



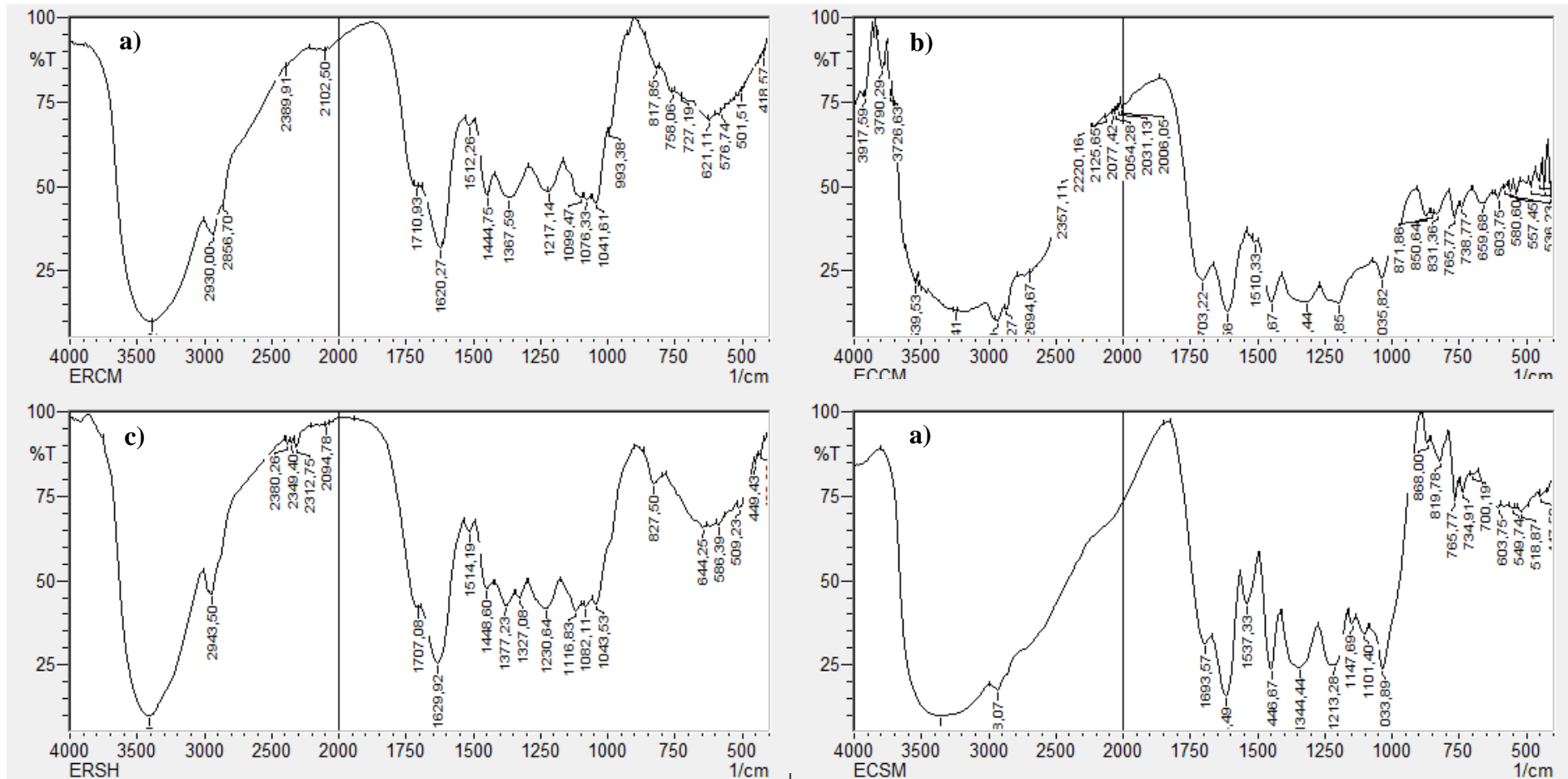
Anexo 8. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Cupania* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



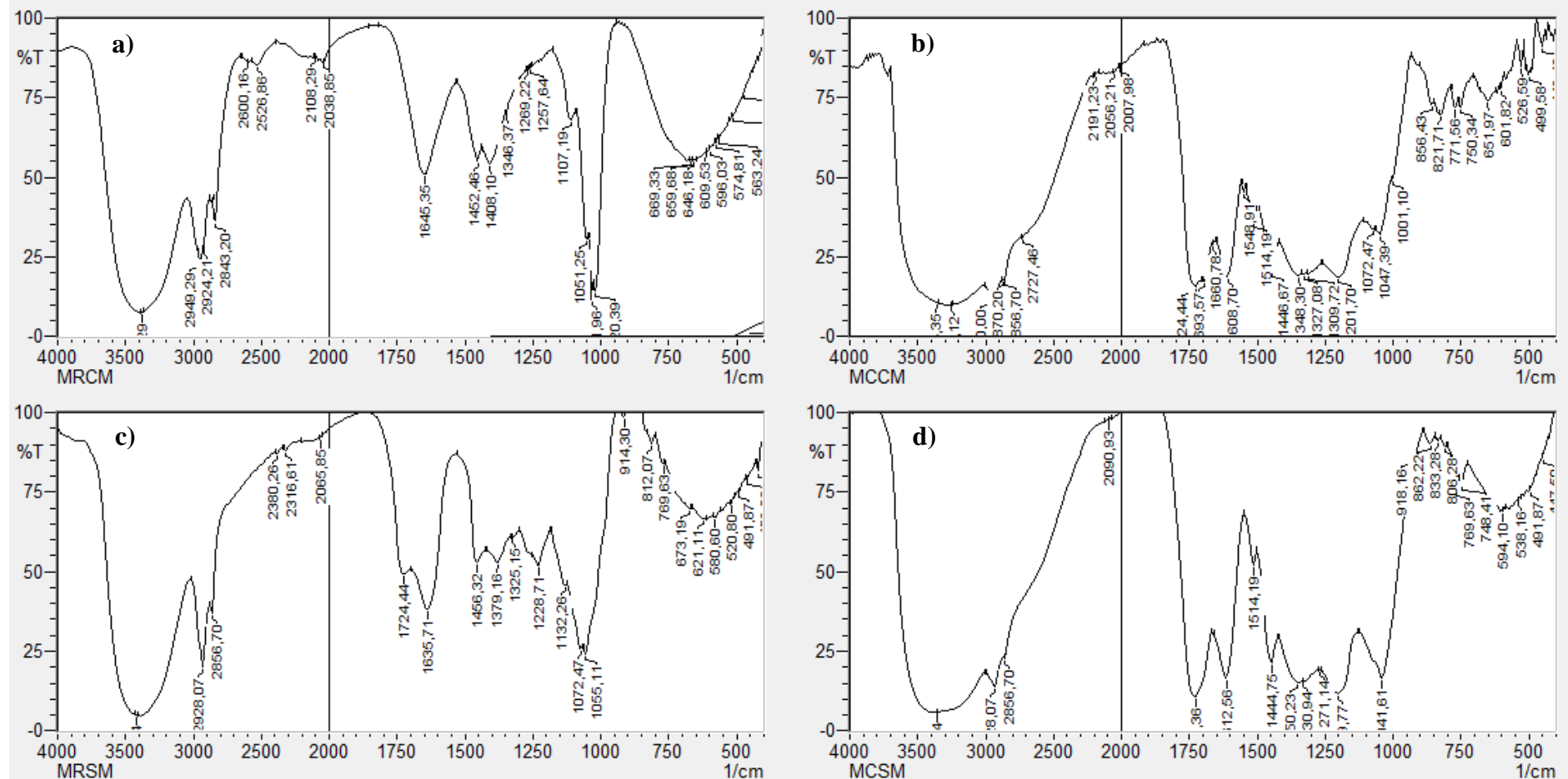
Anexo 9. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas de *Tapirira guianensis* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



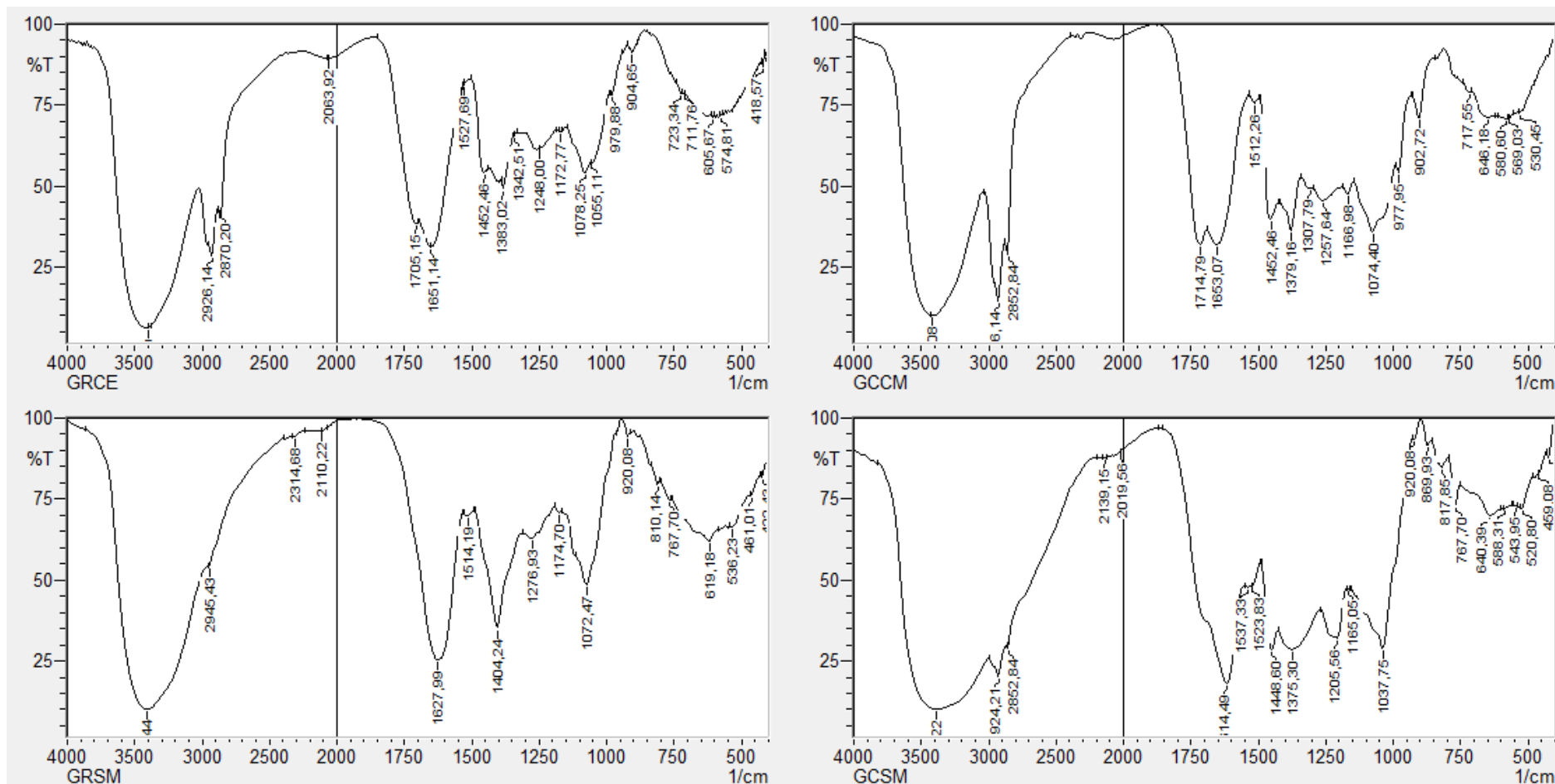
Anexo 10. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Eugenia* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. a= FOD chuvosa; b= REST chuvosa, c= FOD seca; d= REST seca.



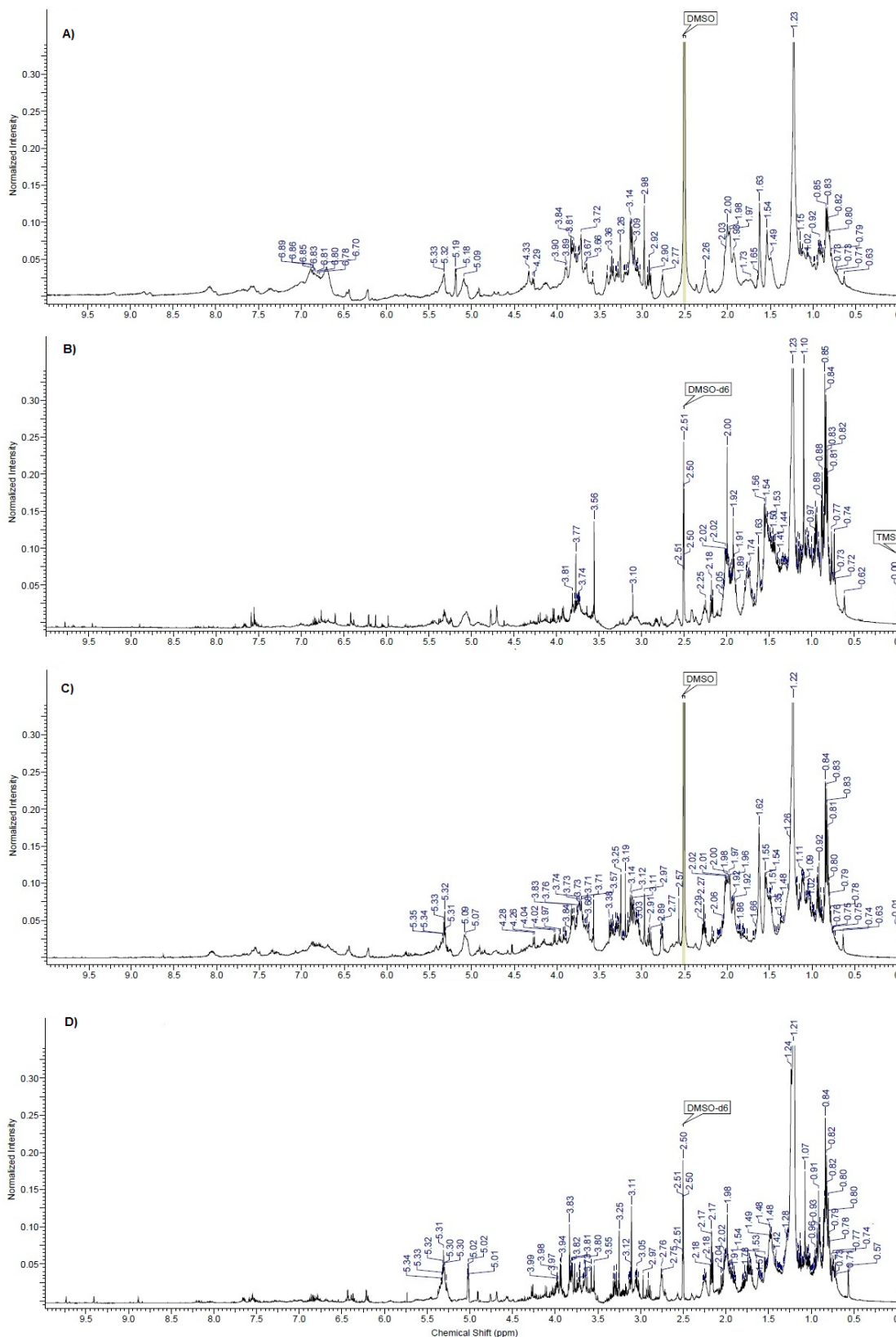
Anexo 11. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Miconia* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



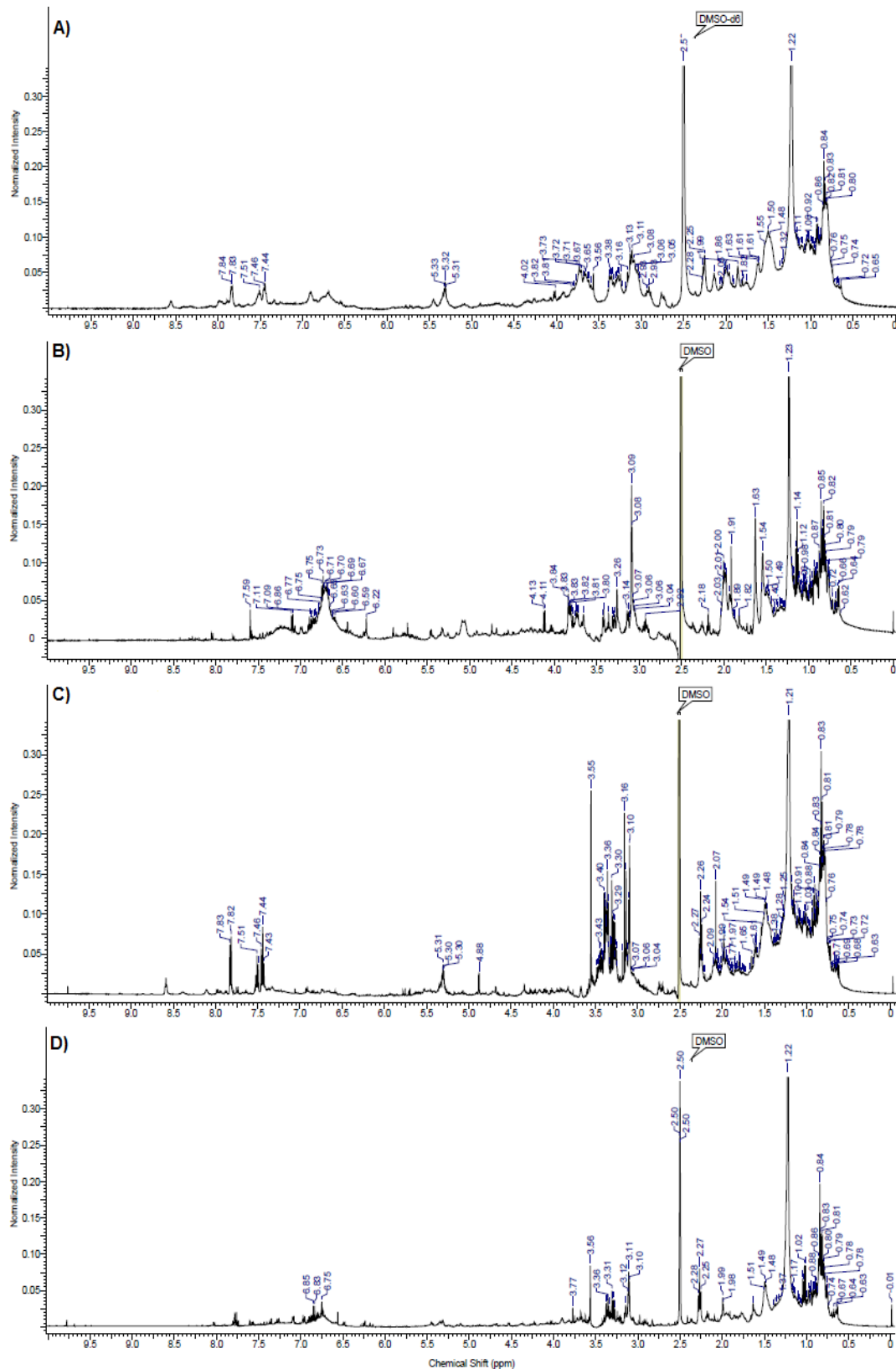
Anexo 12. Espectros de infravermelho de extratos brutos de folhas do gênero *Guapira* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



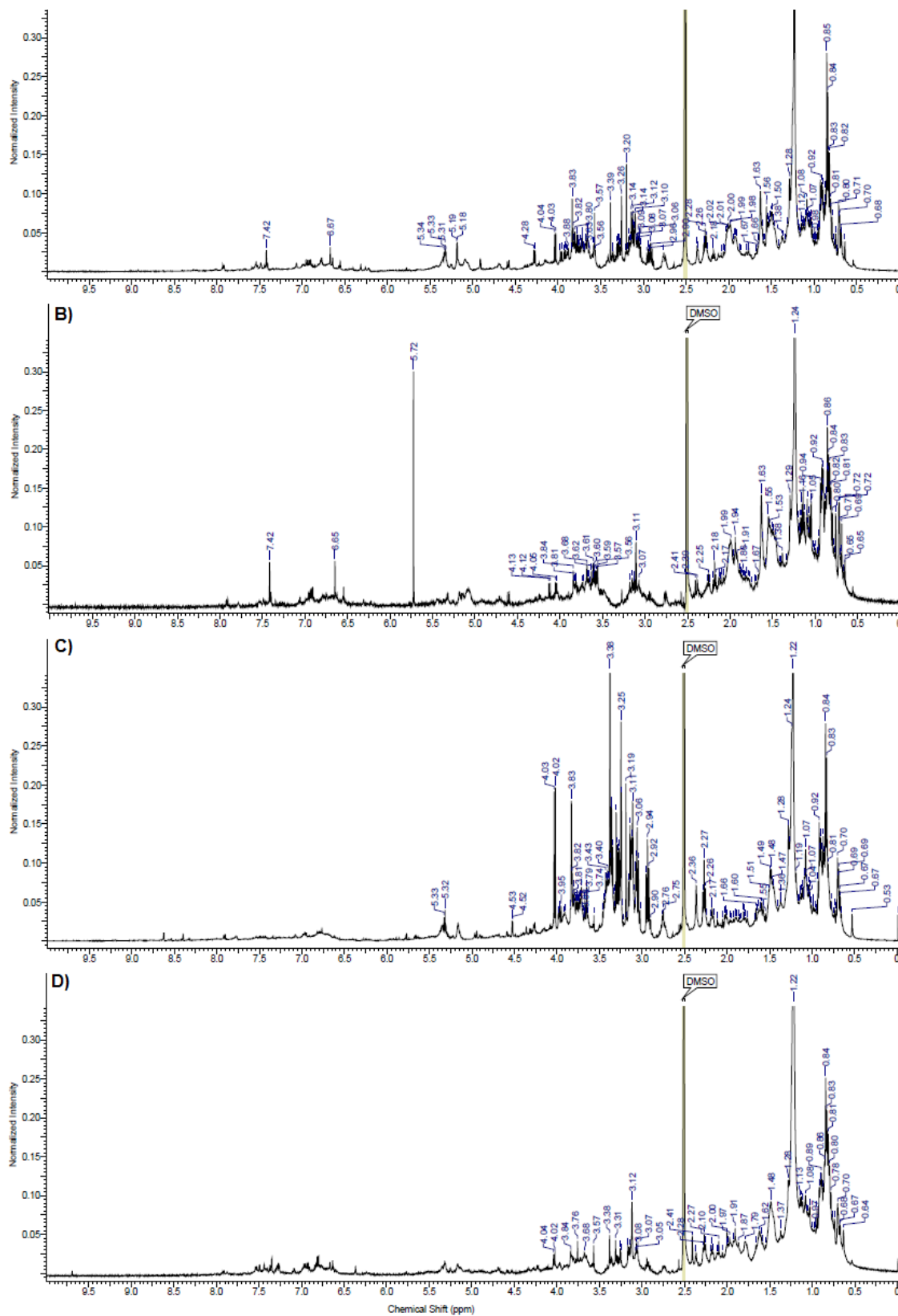
Anexo 13. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Annona* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



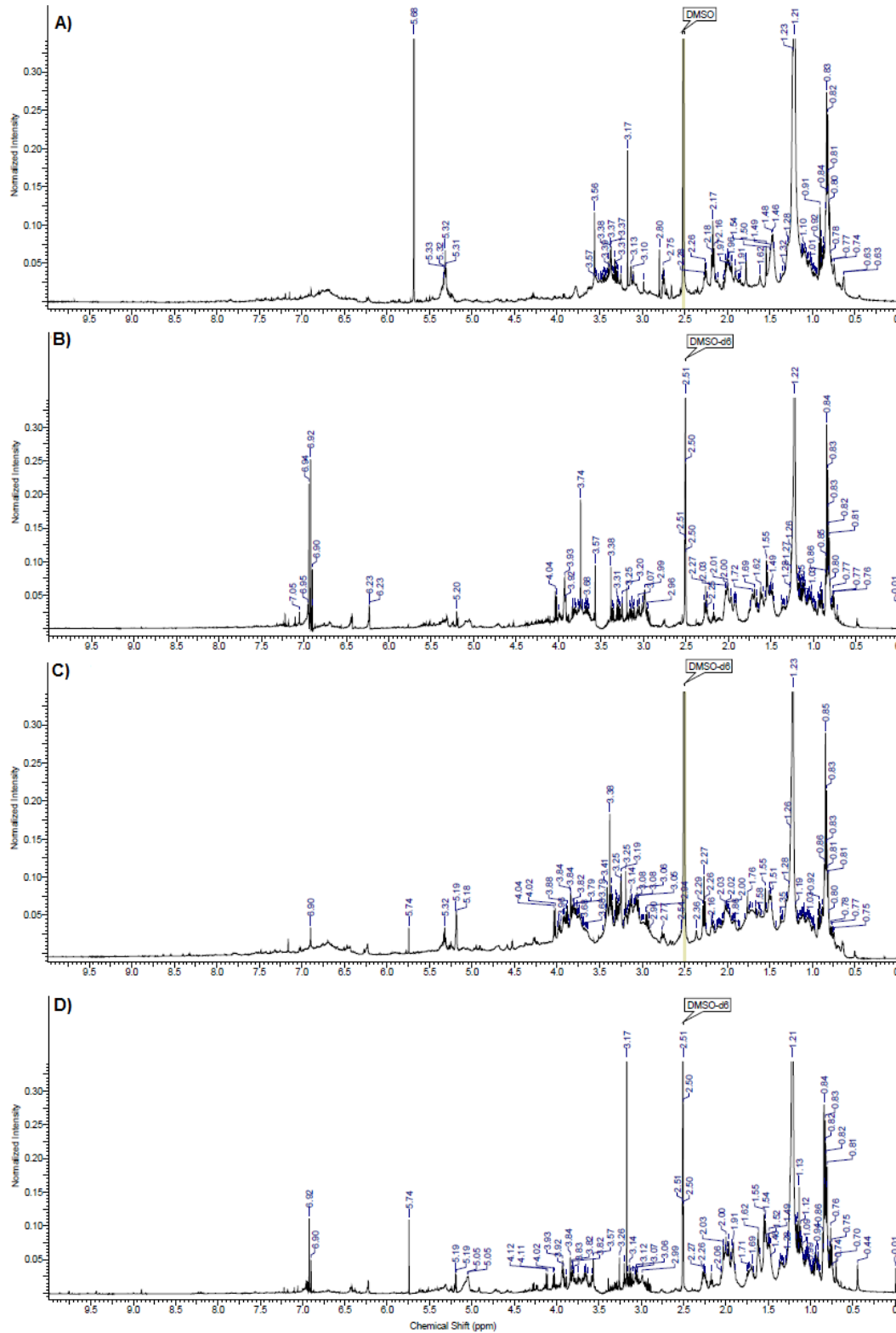
Anexo 14. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Ficus* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



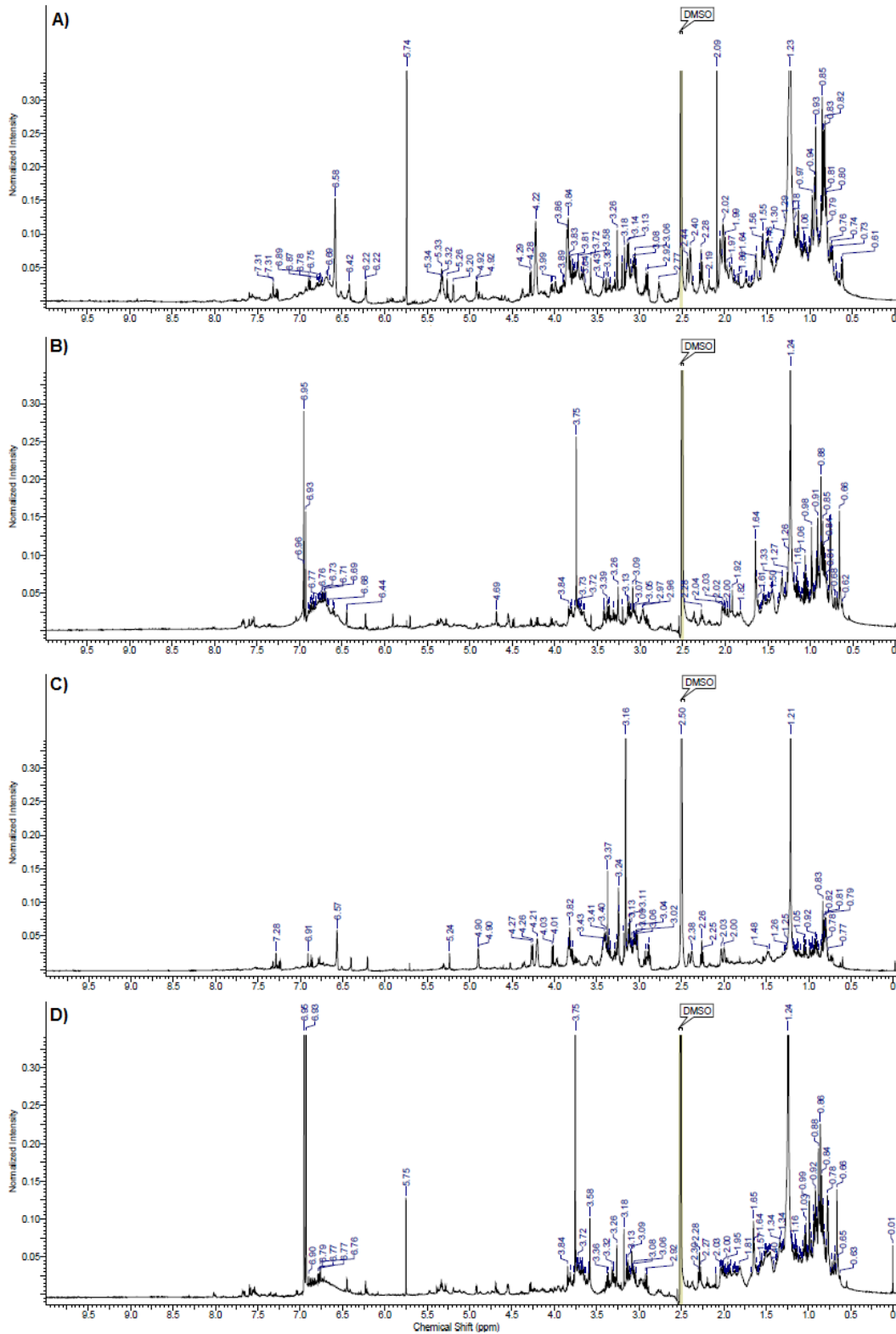
Anexo 15. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Cecropia* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



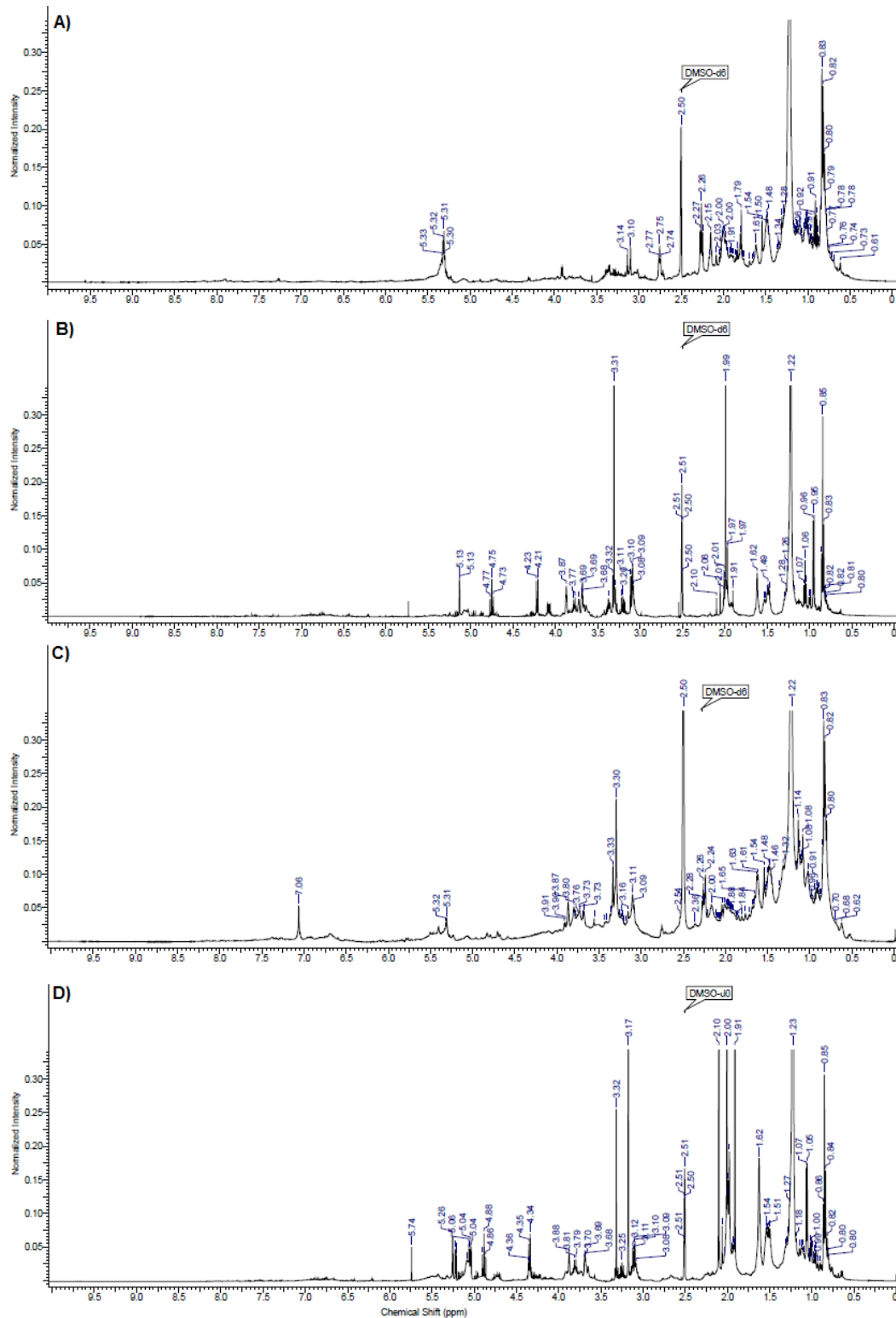
Anexo 16. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Inga* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



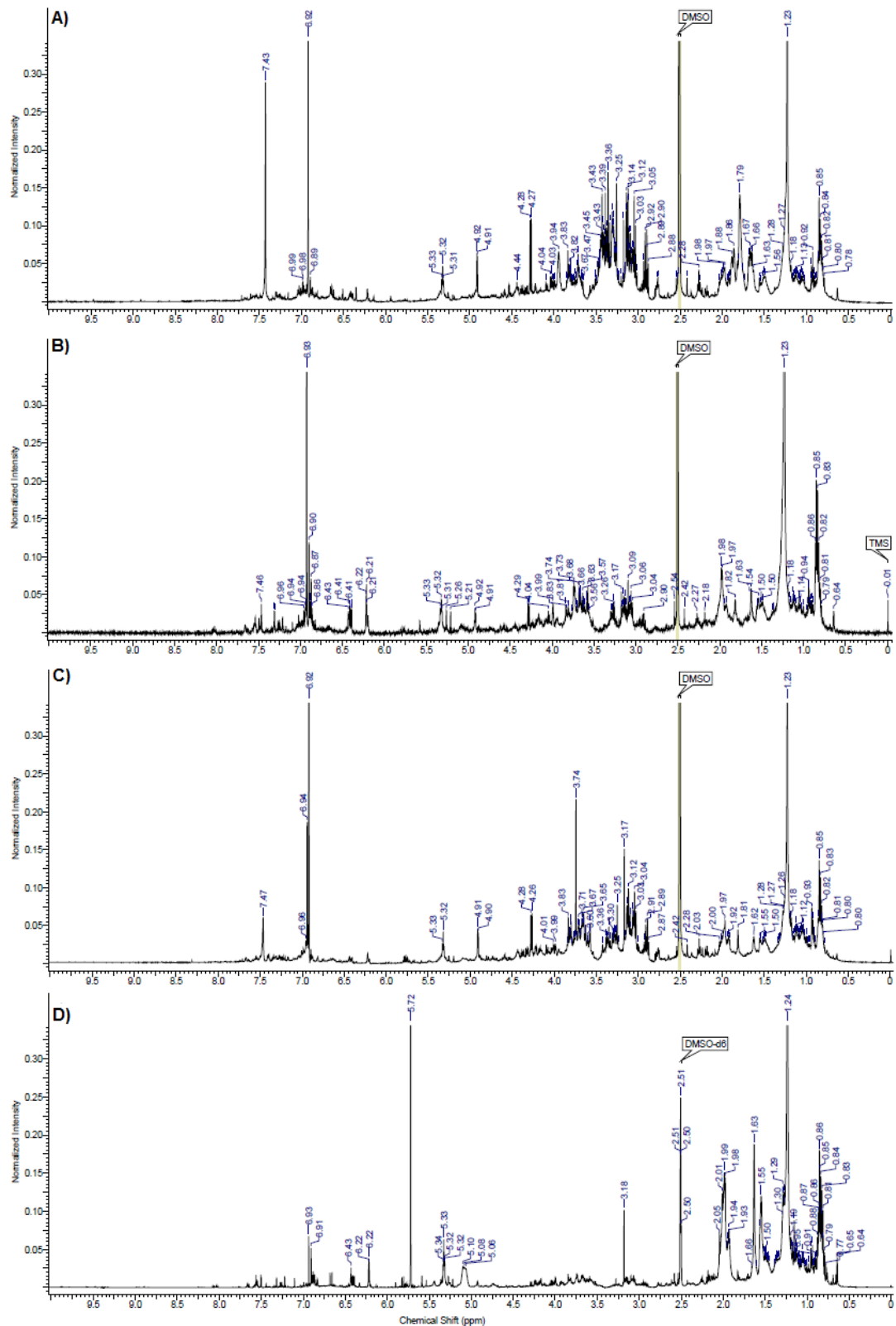
Anexo 17. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas da espécie *Byrsonima sericea* amostrada na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



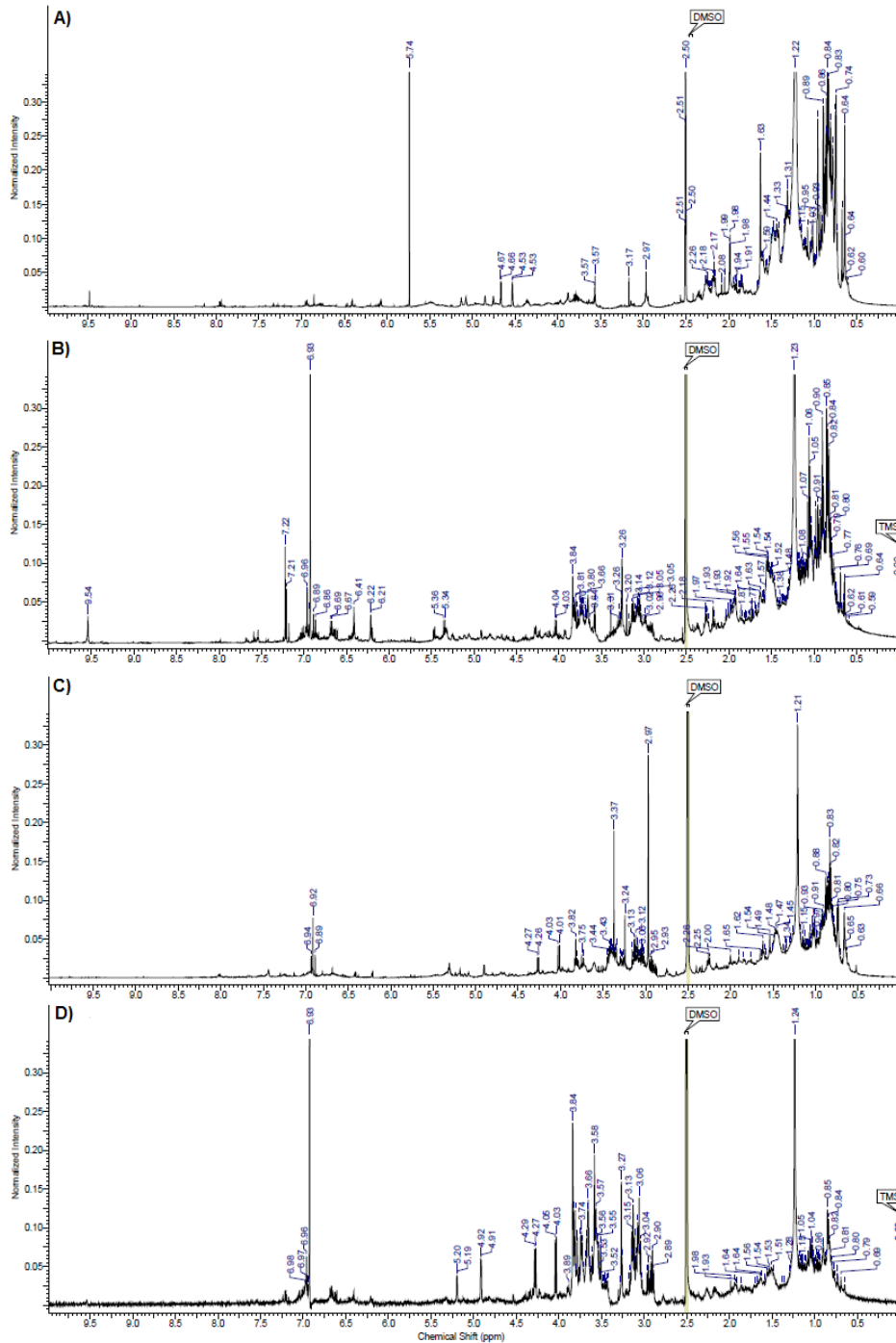
Anexo 18. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Cupania* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



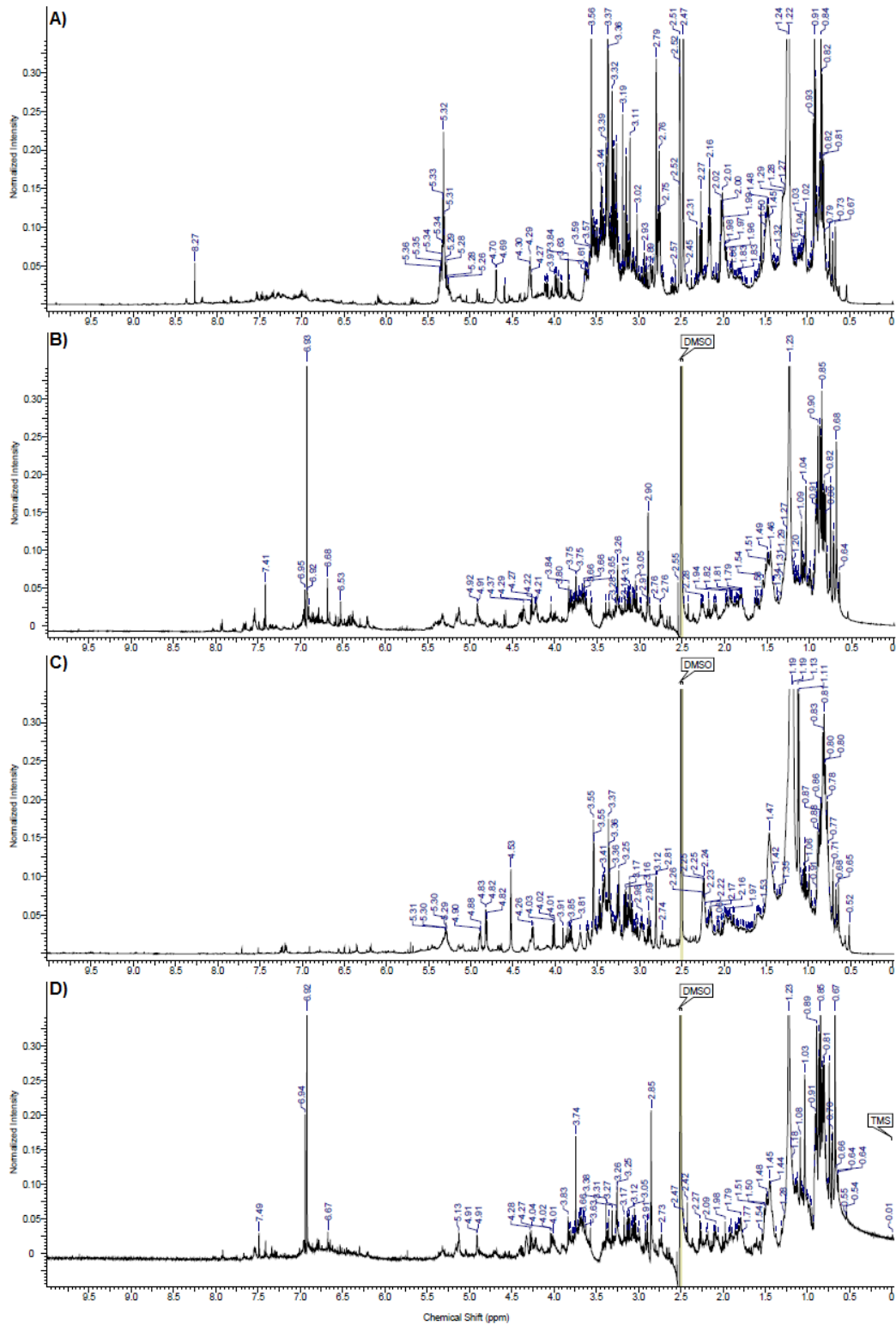
Anexo 19. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas da espécie *Tapirira guianensis* amostrada na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



Anexo 20. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Eugenia* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



Anexo 21. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Miconia* amostradas na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.



Anexo 22. Espectros de ressonância magnética de hidrogênio de extratos brutos de folhas do gênero *Guapira* amostrados na Floresta Ombrófila Densa (FOD) e na mata de restinga (REST) nas estações chuvosa (maio) e seca (setembro) de 2013. A= FOD chuvosa; B= REST chuvosa, C= FOD seca; D= REST seca.

