Lucas Paradizo Roma

**Composição química e morfologia das ceras cuticulares foliares
de diferentes espécies de *Simaba* Aubl. sensu stricto e
Homalolepis Turcz. (Simaroubaceae)**

São Paulo, 2018

Lucas Paradizo Roma

**Composição química e morfologia das ceras cuticulares foliares
de diferentes espécies de *Simaba* Aubl. sensu stricto e
Homalolepis Turcz. (Simaroubaceae)**

Chemical composition and morphology of foliar cuticular waxes
of different species of *Simaba* Aubl. sensu stricto and *Homalolepis*
Turcz. (Simaroubaceae)

São Paulo, 2018

Lucas Paradizo Roma

**Composição química e morfologia das ceras cuticulares foliares
de diferentes espécies de *Simaba* Aubl. sensu stricto e
Homalolepis Turcz. (Simaroubaceae)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para a obtenção de
Título de Mestre em Ciências, na Área de Botânica.

Orientadora: Prof^a Dra. Déborah Yara Alves Cursino dos Santos

São Paulo, 2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Roma, Lucas Paradizo

Composição química e morfologia das ceras cuticulares foliares de diferentes espécies de *Simaba* Aubl. sensu stricto e *Homalolepis* Turcz. (Simaroubaceae)

175 páginas

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica.

1. Cera cuticular 2. Quimiotaxonomia. 3. Cera e ambiente

Instituto de Biociências. Departamento de Botânica

COMISSÃO JULGADORA

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Déborah Y. A. C. dos Santos

Orientadora

Dedico este trabalho à minha família, à minha namorada e aos meus amigos.
Todos foram como pilares que me sustentaram ao longo da vida.

Agradecimentos

Agradeço acima de tudo à professora Déborah, que foi a grande maestrina ao longo destes anos. Muito obrigado pela orientação, confiança, paciência e ensinamentos.

Ao professor Pirani e ao Marcelo Devecchi pelo total apoio para o desenvolvimento deste trabalho, boas conversas e grande aprendizado.

Ao professor Marcelo por todas as boas conversas, apoio e ensinamentos.

Aos professores Salatino, Maria Luiza e Cláudia pelos bons momentos e ensinamentos.

Aos técnicos Leandro, Mourisa e Aline, pelo grande apoio desde meu primeiro dia. Por toda a ajuda, conversas e diversão que tive ao lado de vocês.

Ao Irwandro pelas ótimas imagens realizadas no MEV e pela paciência ao longo de todas as seções.

À todos os amigos e colegas que tive a oportunidade de conhecer no laboratório e no departamento ao longo deste tempo. Por todos os bons momentos, risadas e ajuda. Com certeza cada um de vocês agregou uma porção de coisas a mim que não irei esquecer.

Aos funcionários do IB-USP.

À FAPESP pelo auxílio financeiro e oportunidade.

E por último, porém não menos importante, à minha família, à minha namorada e sua família, que nunca me deixaram sem apoio mesmo nos dias mais tenebrosos.

Sinceramente, muito obrigado!

"If i have seen further it is by standing on the shoulders of Giants"

Se eu vi mais longe foi por estar de pé sobre os ombros de Gigantes

-Isaac Newton

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	iii
1. Introdução	1
1.1 Evolução das plantas verdes – transição do ambiente aquático para o terrestre	1
1.2 Cutícula vegetal – Localização, estrutura e funções	4
1.3 Composição química e estrutural da cutina e ceras cuticulares	6
1.4 Caracterização morfológica das ceras epicuticulares	10
1.5 Biossíntese dos componentes graxos das ceras e monômeros da cutina	12
1.6 Biossíntese dos compostos cíclicos de via única das ceras – Triterpenos e esteroides	21
1.7 Biossíntese dos compostos cíclicos de via mista das ceras – Flavonóides e tocoferóis	27
1.8 Fatores intrínsecos e exógenos capazes de interferir sobre as ceras cuticulares	35
1.9 Caracterização das ceras cuticulares em Sapindales	37
1.10 Caracterização geral de Simaroubaceae	43
1.11 Recente divisão de <i>Simaba</i> sensu lato em <i>Simaba</i> sensu stricto e <i>Homalolepis</i>	45
1.12 Caracterização e plasticidade em <i>Simaba</i> s.s. e <i>Homalolepis</i>	48
2. Justificativa	51
3. Objetivos	52
3.1 Objetivo geral	52
3.1 Objetivos específicos	52
4. Materiais e Métodos	53
4.1 Coleta do material botânico	53
4.2 Preparo das folhas para a extração das ceras, processo de extração e cálculo do teor total	53
4.3 Análise dos componentes de cera	55
4.4 Identificação das substâncias por padrão de fragmentação	56
4.5 Quantificação das substâncias presentes nas ceras	58
4.6 Preparo das folhas para microscopia eletrônica de varredura (MEV), obtenção das imagens e identificação das morfologias das ceras epicuticulares	59
4.7 Caracterização ambiental dos locais de coleta	59
4.8 Obtenção dos dados climáticos das regiões de coleta	60
4.9 Análises estatísticas de variância	61
4.10 Análises estatísticas multivariadas	61
4.10.1 Análise multivariada de dispersão	62
4.10.2 Análise multivariada de agrupamento	62
5. Resultados e Discussão	64
5.1 Teor total de cera	64
5.2 Composição química geral das ceras de <i>Simaba</i> s.s. e <i>Homalolepis</i>	68
5.3 Composição química de cada classe de componentes das ceras de <i>Simaba</i> s.s. e <i>Homalolepis</i>	70
5.3.1 Ácidos graxos	70
5.3.2 Álcoois primários graxos	74
5.3.3 Alcanos	76
5.3.4 Ésteres graxos e fitol	78
5.3.5 Substâncias cíclicas	82
5.3.6 Utilização da composição química das ceras na separação taxonômica dos indivíduos	110
5.4 Morfologia das ceras epicuticulares de <i>Homalolepis</i>	114
5.5 Relação dos domínios de coleta com as ceras cuticulares de <i>Homalolepis</i> e <i>Simaba</i> s.s.	119
6. Considerações finais	125
7. Referências	126
8. Anexos	145

RESUMO

Recentemente houve a divisão de *Simaba* sensu lato em *Simaba* sensu stricto e *Homalolepis* (Simaroubaceae), dois gêneros Sul-Americanos que estão presentes em diferentes domínios morfoclimáticos e biomas. Apesar de suas filogenias estarem quase que totalmente esclarecidas, algumas espécies ainda necessitam de atenção. Em alguns estudos, as ceras cuticulares mostraram-se úteis na resolução de algumas filogenias. Há décadas, diferentes espécies de Simaroubaceae vêm sendo estudadas devido à presença de substâncias amargas com grande atividade biológica. Entretanto, não há estudos na família voltados a caracterização química e morfológica das ceras cuticulares. Deste modo, este trabalho analisou a composição química e morfologia das ceras cuticulares foliares de 119 indivíduos pertencentes a 20 espécies de *Homalolepis*, quatro de *Simaba* s.s. e três de grupos próximos. As ceras foram extraídas em diclorometano e analisadas através de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas. O estudo da morfologia das ceras epicuticulares foi realizado através de microscopia eletrônica de varredura. Foram identificadas 71 substâncias nas ceras, pertencendo principalmente à classe dos ácidos graxos, alcanos, álcoois primários, esteroides e tocoferóis. As classes mais abundantes encontradas nas ceras foram os ácidos graxos e alcanos, sendo que a primeira estava presente em maior quantidade nas espécies de *Homalolepis* e a segunda nas de *Simaba* s.s. Esta diferença de proporção permitiu a diferenciação destes dois gêneros. Entretanto, qualitativamente, as ceras das diferentes espécies estudadas mostraram-se bastante semelhantes, assim como sua caracterização morfológica, não sendo possível a distinção dos indivíduos em nível de espécie. A partir das análises das ceras em relação aos domínios morfoclimáticos, observou-se que os indivíduos coletados nos domínios Atlântico e Amazônico apresentaram teores menores que os coletados no Cerrado. Entretanto, não foi possível, de maneira geral, o estabelecimento da relação das classes de substâncias das ceras com os domínios de coleta, exceto aquelas coletadas no domínio Amazônico que apresentaram maior proporção de alcanos em relação às outras classes.

Palavras-chave: *Homalolepis*, *Simaba* s.s., quimiotaxonomia, interação planta-ambiente.

ABSTRACT

Simaba sensu lato was recently split into two distinct genera, *Simaba* sensu strictu and *Homalolepis*, both with South American distribution occurring in different environments and morphoclimatic areas. Although their phylogenies are almost fully understood, some species still require attention. Studies with cuticular waxes have showed the usefulness of these characters in some phylogenies. Despite the great number of data concerning the chemical analysis of species of Simaroubaceae related to quassinoid composition, for the best of our knowledge there is no study with the chemical and morphological characterization of the cuticular waxes on this family. Therefore, in the present study, the chemical composition and the morphology of the leaf cuticular waxes of 119 specimens belonging to 20 species of *Homalolepis*, four from *Simaba* s.s. and three from related genera were analyzed. The waxes were extracted with dichloromethane and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The morphology of the epicuticular waxes was analyzed by scanning electron microscopy. Seventy-one compounds were identified in the waxes, comprising fatty acids, alkanes, primary alcohols, steroids and tocopherols. The most abundant classes were the fatty acids and alkanes. While fatty acids were the major class in *Homalolepis*, alkanes were more abundant in *Simaba* s.s. This quantitative distinction allowed the differentiation of the two genera. Notwithstanding, the composition of the waxes were very similar, as well as their morphology. Consequently, these data were not helpful in distinguishing the species. Concerning the wax composition in relation to the morphoclimatic areas, the specimens collected in the Atlantic and Amazonian domains had thinner wax loads than those collected in the Cerrado. However, almost none correlation was found between wax chemical classes and the morphoclimatic area, except for the predominance of alkanes in the specimens collected in the Amazonian domain.

Keywords: *Homalolepis*, *Simaba* s.s., chemotaxonomy, plant-environment relationship.

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Evolução das plantas verdes – transição do ambiente aquático para o terrestre

As plantas verdes, denominadas de Viridiplantae, compreendem um grande clado de eucariotos que abrange mais de 300 mil espécies (cerca de um sexto das espécies da Terra) de organismos fotossintetizantes. Pertencem a esse clado diversas divisões de algas¹, comumente denominadas de “algas verdes” (Chlorophyta e Charophyta), e também todas as plantas terrestres² (Embryophyta) (Judd et al., 2008). Viridiplantae encontra-se dividida em duas grandes divisões: Chlorophyta e Streptophyta (figura 1).

Figura 1. Filogenia de Viridiplantae (adaptado de Leliaert, 2012).

As clorófitas (Chlorophyta) englobam uma grande diversidade de algas pertencentes a quatro classes: Ulvophyceae (ex. Ulvales), Chlorophyceae (ex. Chlamydomonadales), Trebouxiophyceae (ex. Trebouxiales) e Prasinophyceae (ex. Prasinococcales).

¹O termo “algas” refere-se a diferentes organismos fotossintetizantes, majoritariamente marinhos, que não originaram-se a partir de uma única linhagem evolutiva, não constituindo portanto um grupo monofilético (Lewis et al., 2004).

²Apesar do termo “plantas terrestres” ser usualmente usado como sinônimo para Embryophyta, vale ressaltar que outras linhagens de organismos marinhos fotossintetizantes, como *Chloroidium* Nadson (Trebouxiophyceae), também evoluíram para o ambiente terrestre, porém de maneira menos exuberante (Darienkov et al., 2010).

As estreptófitas (Streptophyta) compreendem uma divisão composta por algumas classes de algas pertencentes à divisão Charophyta (ex. Charophyceae, Zygnematophyceae e Choleochaetophyceae) e pelas embriófitas (Embryophyta), que compreendem todas as plantas terrestres desde os grupos estruturalmente mais simples como as briófitas sensu lato, até os mais complexos como as angiospermas (Judd et al., 2008; Simpson, 2010; Leliaert, 2012).

Fortes evidências moleculares a partir do sequenciamento de DNA nuclear e de organelas (como os cloroplastos) evidenciam que o grupo das plantas verdes seja monofilético. Além dos caracteres moleculares, a presença de algumas sinapomorfias químicas e morfológicas também corrobora com sua monofilia. A principal sinapomorfia que distingue todas as divisões de plantas verdes do restante dos eucariontes fotossintetizantes é a presença de um cloroplasto diferenciado (Graham, 1996; Judd et al., 2008). Os cloroplastos presentes nas viridófitas tem sua origem a partir de um processo de endossimbiose primária, assim como o das rodófitas, por exemplo. Entretanto, algumas modificações estão presentes tornando singulares dentre as plantas, como a presença de clorofila *b* em adição a clorofila *a*; perda das ficobilinas; formação das membranas tilacoides, que se encontram empilhadas formando a grana; e armazenamento de carboidratos na forma de amido (Judd et al., 2008; Simpson, 2010).

As primeiras plantas a colonizar o ambiente terrestre datam de aproximadamente 450 milhões de anos atrás, no meio da Era Paleozoica, mais especificamente no final do período Ordoviciano, início do período Siluriano (Oliveira, 2003; Yeats & Rose, 2013). Estudos a partir de microfósseis mostram que neste período houve o surgimento e ocorrência global de esporos e estruturas a ele relacionadas muito próximas aos encontrados nas embriófitas basais (Graham, 1996).

Não se sabe exatamente quem são os parentes vivos mais próximos das embriófitas, porém há evidências a partir de dados moleculares que indicam que algas carófitas das classes Choleochaetophyceae (especificamente do gênero *Choleochaete*) ou Zygnematophyceae, podem ser os parentes atuais mais próximos das plantas terrestres (figura 1) (Leliaert et al., 2012; Bateman et al., 2016). Também não há certeza de quem sejam os parentes terrestres mais próximos aos seus antepassados aquáticos, porém estudos a partir de dados moleculares apontam que sejam as hepáticas (Hepatophyta) (figura 2), consideradas como o grupo mais basal dentro de Bryophyta sensu lato (Graham, 1996; Qiu et al., 2006; Judd, 2008; Bateman, 2016).

As primeiras populações de plantas terrestres que surgiram, passaram a explorar novos nichos que apresentavam vantagens em relação ao ambiente aquático, como maior disponibilidade de luz e dióxido de carbono. Entretanto, este novo ambiente apresentava uma série de adversidades que, no ambiente aquático, não havia, como relativa escassez de água, risco de dessecação, maior dificuldade de sustentação, extremos de temperaturas e maior incidência de radiações nocivas como a ultravioleta (Doyle, 2013; Yeats & Rose, 2013).

Figura 2. Relações filogenéticas em Embryophyta a partir de dados moleculares. Traços horizontais representam exemplos de importantes novidades evolutivas. † Clados extintos (adaptado de Judd et al., 2008).

Ao longo do processo evolutivo das plantas verdes diversas inovações evolutivas morfológicas e fisiológicas (figura 2) foram surgindo e sendo selecionadas, permitindo que cada vez mais as adversidades existentes no ambiente terrestre fossem superadas (Doyle, 2013; Yeats & Rose, 2013). O início deste processo foi marcado pelo surgimento de importantes sinapomorfias que permitiram que as embriófitas ancestrais possuísem relativa independência do ambiente aquático (Simpson, 2010; Bateman, 2016). Dentre estas sinapomorfias pode-se citar, por exemplo, a alternância de gerações (ciclo haplodiplobionte), caracterizado por apresentar uma fase de seu ciclo de vida gametofítica haploide responsável pela geração mitótica de gametas e outra esporofítica diploide que, por meiose, originará grande quantidade de esporos haploides com paredes espessadas de dispersão aérea; surgimento do embrião, que seria um esporófito jovem ligado ao gametófito; e aparecimento de rizoides auxiliando na fixação das plantas no substrato. Outra importante sinapomorfia de

Embryophyta é a presença de uma camada lipídica protetora denominada de cutícula vegetal (Judd et al., 2008; Doyle, 2013; Bateman, 2016).

1.2 Cutícula vegetal – Localização, estrutura e funções

Evolutivamente, a retenção de água pelos organismos foi um dos principais desafios a serem superados para que fosse possível a conquista do ambiente terrestre. Nas plantas, diferentes revestimentos foram responsáveis por auxiliar nesta função protegendo-as do meio externo (Heredia et al., 1998; Yeats & Rose, 2013; Renault et al., 2017).

Um destes revestimentos é o polímero da suberina (figura 3A), popularmente conhecido por formar a cortiça e cascas de árvores. Ele é constituído por diversos monômeros fenólicos (principalmente derivados do ácido cinâmico, figura 3B) e alifáticos (principalmente derivados de ácidos graxos com 20 ou mais carbonos), que se encontram associados à parede celular secundária da epiderme de alguns órgãos vegetais, como na periderme de caules e raízes com crescimento secundário e em áreas de abscisão. Também está presente na endoderme das raízes formando as estrias de Caspary, na bainha de diferentes gramíneas, entre outros. A suberina tem outras funções além de proteger tais tecidos contra a perda excessiva de água, como por exemplo, resistir contra a penetração de fitopatógenos (Eastman et al., 1988; Kulattukudy, 2001; Beisson et al., 2012; Carpita et al., 2015).

Figura 3. Revestimentos vegetais. **A:** Imagem realizada com microscopia óptica acoplada à iluminação UV da parede celular da epiderme e exoderme de raiz de cebola (*Allium cepa*), evidenciando em azul a suberina, corada com Anilina Azul (Retirado de Carpita et al., 2015. Fonte original Bundrett et al., 2008). **B:** representação do ácido ferúlico, um derivado do ácido cinâmico, muito comum presente no poliéster da suberina. **C:** Imagem realizada com microscopia óptica evidenciando (em alaranjado) a cutícula vegetal corada com Vermelho de Sudan em células epidérmicas de frutos verdes de tomate. Em azul está representada a parede celular, corada com Azul de Alcian. Barra = 50 µm (Yeats & Rose, 2013).

Outro importante revestimento que protege as plantas contra a dessecação é a cutícula vegetal. A cutícula (figura 3C) está presente nas embriófitas, desde os grupos mais basais (briófitas) até os grupos mais recentes (poliesporangiófitas) (figura 2). Nas embriófitas mais recentes a cutícula encontra-se na epiderme das partes aéreas de todos os tecidos que possuem crescimento primário, tais como folhas (em ambas as superfícies), flores, frutos e caules (Taiz & Zeiger, 2006); não sendo encontrada na epiderme das raízes (Jefree, 2006) e

em caules com crescimento secundário (Müller & Riederer, 2005). Nas embriófitas basais a cutícula encontra-se presente tanto nos gametófitos, como nos filóides, quanto nos esporófitos, como na capsula. Ela também está presente na caliptra, uma estrutura gametofítica que se encontra envolvendo a capsula do esporófito (Budke et al., 2012; Busta et al., 2016; Renault et al., 2017).

Ela é composta principalmente por uma matriz de poliéster denominada de cutina (compreendendo de 40 a 80% da massa da cutícula) e por uma variedade de lipídeos solúveis chamados de ceras cuticulares, que também podem apresentar diferentes metabólitos secundários. Estas substâncias formam uma deposição contínua e transparente entre o meio externo e a parede celular das células epidérmicas, não cobrindo apenas a abertura dos estômatos (Heredia, 2003; Kunst & Samules, 2003; Müller & Riederer, 2005; Jeffree, 2006).

A cutina e as ceras se combinam de diferentes formas compondo a estrutura cuticular (figura 4). Esta estrutura é estratificada, dividida genericamente em três partes: a parte mais externa à epiderme é formada apenas por ceras, denominadas de ceras epicuticulares, que podem assumir diferentes morfologias; abaixo da cobertura de cera epicuticular encontra-se uma camada intermediária, formada por cutina embebida por cera, chamada de cutícula propriamente dita; por fim, há uma espessa camada que fica mais próxima à parede celular, formada por cutina e ceras, que se encontra mais associada à camada de pectina localizada entre a cutícula e a parede celular, denominada de camada cuticular. Esta última é muito rica em polissacarídeos e tem como função unir a cutícula à parede celular. As ceras presentes na camada da cutícula propriamente dita e na camada cuticular também podem ser referidas como ceras intracuticulares, em contra partida às ceras epicuticulares (Heredia et al., 1998; Taiz & Zeiger, 2006; Koch & Barthlott, 2009; Bernard & Joubès, 2013).

Figura 4. Representação estrutural da cutícula vegetal (adaptado de Juniper & Jeffree, 1983).

A cutícula é uma estrutura multifuncional, responsável por desempenhar diversas funções cruciais para a sobrevivência das plantas devido às suas características químicas e morfológicas. Dentre essas funções estão (i) proteger e isolar as folhas, flores, frutos e caules em crescimento primário da perda excessiva de água através da transpiração cuticular, principalmente quando os estômatos encontram-se fechados; (ii) constituir uma barreira mecânica contra injúrias físicas e penetração de fitopatógenos, como fungos e bactérias, ou mesmo influenciar na capacidade de adesão desses organismos na superfície vegetal; (iii) mediar a interação com outros organismos, desde microrganismos como fungos e bactérias, a organismos macroscópicos como artrópodes (destacando-se os insetos), que dependendo da composição cuticular, podem apresentar diferentes comportamentos de herbivoria e oviposição; (iv) reduzir os danos causados pela insolação excessiva e radiação UV; (v) ter uma função alelopática como fungicida e microbicida devido a presença de alguns metabólitos secundários; (vi) prevenir a formação de filmes de água na superfície foliar através de sua característica hidrofóbica, dificultando a formação de colônias de microrganismos, entre outras. Em alguns casos a cutícula pode possuir uma característica hiperhidrofóbica (também chamado de efeito Lótus), levando a formações de gotículas de água na superfície foliar (figura 5) que ao deslizarem em direção ao solo carregam consigo pequenas partículas de poeira, areia e mesmo alguns microrganismos propiciando uma autolimpeza da superfície foliar (Juniper & Jeffree, 1983; Eigenbrode & Espelie, 1995; Heredia et al., 1998; Müller & Riederer 2005; Müller, 2006; Riederer, 2006; Koch & Barthlott, 2009; Báez-Sañudo et al., 2013).

Figura 5. Hiperhidrofobicidade cuticular (efeito Lótus). A: fotografia de uma superfície foliar apresentando gotículas derivadas do efeito Lótus (Koch & Ensikat, 2008). Ele é causado quando as características físico-químicas da cutícula propiciam a formação de um ângulo maior que 150° entre as gotículas de água e a superfície vegetal (modificado de Koch & Barthlott, 2009).

1.3 Composição química e estrutural da cutina e ceras cuticulares

O termo cutina refere-se a um biopolímero composto por uma variedade de monômeros graxos com 16 e 18 carbonos que se encontram esterificados entre si e com outras substâncias tais como glicerol, fenilpropanoides e ácidos dicarboxílicos. Este biopolímero forma uma matriz de poliésteres, que se une a parede celular através de ligações

tipo éster ou mesmo éter através de polissacarídeos da camada de pectina (figura 6). Os monômeros graxos de 16 e 18 carbonos são originados, respectivamente, do ácido palmítico (16:0) e do ácido oleico (18:1) que sofrem modificações em sua cadeia, através de hidroxilações e epoxilações, formando diferentes hidróxi e epóxi-hidróxi ácidos graxos. (Kolattukudy, 2001; Beisson et al., 2012; Yeats & Rose, 2013). O poliéster formado pela cutina e pela suberina muitas vezes podem apresentar composições químicas semelhantes, entretanto a cutina é caracterizada pela abundante presença de hidróxi e hidróxi-epóxi ácidos graxos enquanto que a suberina apresenta grandes quantidades de ácidos hidroxicinâmicos, como o ácido ferúlico (figura 2B), maior abundância de álcoois graxos e de moléculas alifáticas saturadas de cadeia longa (Beisson et al., 2012).

Figura 6. Diferentes constituintes e modelo proposto para a estrutura da cutina. **A**: Diferentes monômeros derivados do acil-CoA de 16 carbonos. **B**: Diferentes monômeros derivados do acil-CoA de 18 carbonos com uma instauração entre os carbonos 9 e 10. **C**: Um dos modelos propostos para o polímero da cutina, setas vermelhas indicam ligação do tipo éster e azuis do éter. Itens **A** e **B** modificados de Domínguez et al., 2011 e **C** modificado de Fich et al., 2016.

Em algumas espécies atuais e também fósseis, foi registrada a presença de outro biopolímero lipídico denominado de cutano, em adição a cutina. Diferente do que ocorre com a cutina que tem suas esterificações clivadas, por exemplo, por processos de saponificação, o cutano se mantém recalcitrante. Não se sabe muito sobre a composição química do cutano nem sobre sua estrutura, porém sabe-se que ele possui muitas ligações entre carbonos e é rico em éteres (Nip et al., 1986; Yeats & Rose 2013; Fich et al., 2016).

As ceras cuticulares são formadas por uma grande variedade de substâncias hidrofóbicas, capazes de serem extraídas através de breves imersões em solventes orgânicos tais como hexano, diclorometano e clorofórmio. Essas substâncias pertencem a diferentes classes que podem ser divididas em dois grupos, um que compreende uma grande variedade de substâncias graxas de cadeia longa e outro que compreende diferentes substâncias cíclicas (Post-Beittenmiller, 1996; Kunst & Samuels, 2009).

Entre as substâncias graxas das ceras encontram-se diversas classes de compostos que tem sua origem a partir de moléculas graxas de cadeia longa como, por exemplo, ácidos graxos livres, alcanos, álcoois primários e secundários, cetonas, ésteres e aldeídos, que podem ser encontradas distribuídas em diferentes séries homólogas. A proporção e o tamanho da cadeia carbônica destas substâncias podem variar de espécie para espécie e também nos diferentes órgãos vegetais, como demonstrado pela tabela 1 (Post-Beittenmiller, 1996; Kunst & Samules, 2003).

Tabela 1. Principais classes alifáticas das ceras cuticulares*.

Classe	Tamanhos comuns nas plantas ^a	Tamanhos predominantes no caule de <i>Arabidopsis thaliana</i> ^b	Porcentagem relativa no caule de <i>Arabidopsis thaliana</i> ^b	Porcentagem relativa em folhas de <i>Arabidopsis thaliana</i> ^b	Porcentagem relativa em folhas de <i>Brassica oleracea</i> ^c	Porcentagem relativa em folhas de <i>Arachis hypogaea</i> ^d	Porcentagem relativa em folhas de <i>Medicago sativa</i> ^e
Alcanos	C21-C35	C29, C31, C27**	38,0	73,6	40,3	35,7	20
Cetonas	C21-C35	C29	30,4	1,2	36,1	ND	ND
Álcoois primários	C22-C34	C28, C30, C26	11,8	18,5	1,9	23,8	48,4
Álcoois secundários	C21-C35	C29, C31, C27	10,3	0,7	11,9	ND	ND
Aldeídos	C21-C35	C30, C28	5,9	2,1	3,9	2,4	20,5
Ácidos graxos livres	C16-C34	C30, C28	3,2	3,6	1,9	38,1	ND
Ésteres	C32-C64	NN	0,8	0,2	3,9	ND	11

*Modificado de Kunst & Samules, 2003; Post-Beittenmiller, 1996; **Listadas de acordo com a abundância relativa; ND: não detectado. NN: dados não disponíveis.

^a A partir de diversas espécies.

^b *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., ecótipo Landsberg *erecta*.

^c *Brassica oleracea* L. var. *carpita* 'Market Prize', cultivada em casa de vegetação.

^d *Arachis hypogaea* L. var. Southern Runner, variedade cultivada de amendoim.

^e *Mendicago sativa* L., diferentes variedades.

As principais classes de substâncias cíclicas que podem ser encontradas nas ceras são os terpenos (como os esteroides e triterpenoides) e fenólicos (como flavonoides e tocoferóis), que já foram isolados em diferentes espécies de plantas (figura 7). As substâncias cíclicas das ceras são sintetizadas a partir de diferentes vias do metabolismo secundário vegetal (Kunst & Samules, 2003; Griffiths et al., 2000).

Figura 7. Exemplos de substâncias cíclicas encontradas em ceras. **A:** ácido ursólico (Griffiths et al., 2000). **B:** β -sitosterol (Shepherd et al., 1999a). **C:** eucaliptina (Wollenweber & Kohorst, 1981).

As ceras são muito importantes para as plantas, pois são elas as principais responsáveis pela resistência à perda de água na transpiração cuticular. Antigamente, supunha-se que quanto mais espessa a camada de cera, mais eficiente era sua retenção de água, porém estudos mais recentes mostraram que esta correlação não é muito clara (Bernard & Joubès, 2013). Um exemplo pode ser visto em um estudo realizado por Riederer e Schreiber (2001), que realizaram um experimento com diferentes espécies de plantas, em que correlacionaram a espessura da camada de cera cuticular com a permeabilidade à água e notaram que camadas de cera com espessuras muito semelhantes apresentavam diferentes permeabilidades a água.

Essa diferença encontrada pode ser explicada pelo fato de que nem todas as substâncias presentes na cutícula apresentam a mesma eficiência em reter água. Oliveira et al. (2003), mostraram que determinadas substâncias ou classe de substâncias encontradas nas ceras são menos permeáveis que outras. Dentre as substâncias estudadas, os alcanos apresentaram a menor permeabilidade a água, em contraposição ao ácido ursólico (triterpeno) que mostrou a maior permeabilidade a água, ambas substâncias testadas em uma mesma quantidade.

Uma possível explicação para o fato de algumas substâncias nas ceras serem melhores que outras em reter água, é a conformação espacial destas moléculas de cera na cutícula (Kerstiens, 2006; Barthlott et al., 2017). Em um cenário tridimensional, as moléculas das ceras acomodam-se preenchendo os espaços dentro da cutícula. Dependendo da estrutura espacial destas moléculas de cera e como elas se agrupam, são criadas regiões com maior ou menor mobilidade e aproximação entre as cadeias carbônicas dessas moléculas. Quanto mais regiões ordenadas de modo que as cadeias carbônicas das moléculas estejam próximas umas das outras e que haja baixa mobilidade entre suas cadeias, menores serão os espaços disponíveis que as moléculas de água terão para transpor a cutícula (Kerstiens, 1996; Kerstiens, 2006). Sendo assim, moléculas como alcanos, por exemplo, que são planas e lineares, possuem mais

facilidade em aproximar suas cadeias carbônicas e formar estas regiões que bloqueiam a passagem das moléculas de água.

1.4 Caracterização morfológica das ceras epicuticulares

Os primeiros estudos com as morfologias das ceras epicuticulares datam de 1871, realizados por A. de Bary, que através de microscopia ótica conseguiu discernir ao longo de seu trabalho quatro morfologias diferentes para as ceras epicuticulares. Com o advento da microscopia eletrônica de transmissão os estudos com as ceras epicuticulares deram um novo passo em 1958, com estudos realizados por B. E. Juniper e D. E. Bradley, entretanto esta técnica era muito lenta e trabalhosa. Apenas posteriormente com o uso da microscopia eletrônica de varredura na botânica que os estudos com as ceras epicuticulares se tornaram mais comuns e mais espécies passaram a ser estudadas (Barthlott et al., 1998).

A camada de ceras epicuticulares apresenta diferentes tipos de morfologias (figura 8), que podem apresentar, ou não, diversos tipos diferentes de ornamentações podendo variar em forma e/ou padrão de deposição (Koch et al., 2006a).

De acordo com Barthlott e colaboradores (1998) e Jeffree (2006), são conhecidos mais de 20 diferentes tipos e subtipos de morfologias e ornamentos presentes nas ceras epicuticulares, que podem ser separados em dois grupos. O primeiro grupo é composto pelas morfologias amorfas, responsáveis pela formação do “fundo” da camada epicuticular. Este grupo é formado por três tipos básicos de morfologias: os filmes, que são coberturas contínuas, delgadas e sem camadas sobressaltantes (figura 8A); as “camadas”, que formam uma cobertura craquelada com diferentes espessuras (figura 8B e C); e as crostas, que formam camadas espessas com superfícies mais ou menos esculpidas (figura 8D).

O outro grupo é formado por diferentes tipos e subtipos de morfologias que formam ornamentos acima do “fundo” epicuticular, denominadas de morfologias cristaloides. Este grupo é bastante diversificado, apresentando diversos subtipos de cristaloides que podem estar ordenados de diferentes formas, como por exemplo, em roseta ou paralelo. Os principais tipos presentes neste grupo são os grânulos, as lâminas (figura 8E e F), as plaquetas, os túbulos e os bastonetes (8G). Em algumas espécies também é comum a presença de uma estrutura cerosa ao redor dos estômatos, formando as chaminés estomatais (figura 8H). Nem sempre é encontrado apenas um tipo de cristalóide em uma mesma região da cutícula, podendo ocorrer misturas entre diferentes tipos (figura 8I). Esta característica é denominada de sintopismo (Barthlott et al., 1998; Jeffree, 2006).

Figura 8. Exemplos de morfologias das ceras epicuticulares (modificado de Barthlott et al., 1998). **A:** Morfologia amorfa tipo filme [*Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Apiaceae)]; **B:** morfologia amorfa tipo camadas suaves [*Terminalia* cf. *seyrigii* (H. Perrier) Capuron (Combretaceae)]; **C:** morfologia amorfa tipo camadas fissuradas [*Frerea indica* Dalzell (Asclepiadaceae)]; **D:** morfologia amorfa tipo crosta [*Cynanchum sarcostemma* Lillo (Asclepiadaceae)]; **E:** morfologia cristalóide tipo lâminas com padrão aleatório de ordenação [*Lecythis chartacea* Berg (Lecythidaceae)]; **F:** morfologia cristalóide tipo lâminas com padrão paralelo de ordenação [*Convallaria majalis* L. (Convallariaceae)]; **G:** morfologia cristalóide tipo bastonetes enrolados [*Buxus sempervirens* L. (Buxaceae)]; **H:** chaminé estomatal [*Heliconia collinsiana* Griggs (Heliconiaceae)]; **I:** sintopismo entre lâminas e plaquetas [*Benthamia alyxifolia* (F. Muell. ex Benth.) Tiegh. (Loranthaceae)].

Estudos realizados a partir da extração das ceras seguidos de sua recristalização em outra superfície mostraram que as estruturas cristalinas formadas naturalmente e artificialmente muitas vezes não diferiam entre si, evidenciando que há uma grande associação entre a composição química das ceras epicuticulares com o tipo de morfologia apresentada (Jeffree et al., 1975; Jeffree, 2006; Koch et al., 2006b; Koch & Ensikat, 2008). Em alguns casos esta associação é tão forte que a morfologia observada é devido à presença de uma única substância majoritária presente na cera, como por exemplo, os túbulos de nonacosan-10-ol encontrados nas ceras de folhas de lótus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), tulipa (*Tulipa gesneriana* L.), *Ginkgo biloba* L., entre outras (figura 9A). Entretanto, também pode ocorrer a associação de uma substância minoritária a determinada morfologia, como ocorre com os bastões

transversais rígidos, que estão associados à hentriacontan-16-ona (palmitona), encontrada nas folhas de *Sassafras albidum* (Nutt.) Nees (figura 9B) (Barthlott et al., 2017).

Figura 9. Exemplos de morfologias cristaloides de ceras altamente associadas a sua composição química (modificado de Barthlott et al., 2017). **A:** morfologia cristalóide tipo túbulos de nonacosan-10-ol [*Nelumbo nucifera* Gaertn. (Nelumbonaceae)]; **B:** morfologia cristalóide tipo bastões rígidos transversais [*Sassafras albidum* (Nutt.) Nees (Lauraceae)].

Além da composição química das ceras, o padrão de deposição e a morfologia das ceras epicuticulares na superfície foliar também são um fator importante funcional e ecologicamente. Um exemplo pode ser encontrado nas ceras cuticulares das paredes internas dos jarros de captura presentes em diferentes espécies de *Nepenthes* L. (Nepenthaceae). Essas ceras epicuticulares possuem um ordenamento e uma estrutura que associados a suas propriedades hiperhidrofóbicas evitam que haja a adesão do sistema aderente dos pés dos insetos às paredes internas do jarro. Se por ventura os insetos caírem dentro dos jarros destas plantas, as propriedades cuticulares das paredes internas destes jarros dificultam que o inseto escale os jarros e escape de sua armadilha (Riedel et al., 2003; Baumgartner et al., 2010).

1.5 Biossíntese dos componentes graxos das ceras e dos monômeros da cutina

As plantas através da fotossíntese são capazes de transformar água e carbonos inorgânicos presentes no dióxido de carbono atmosférico em diversas moléculas orgânicas denominadas de carboidratos. Para cumprir este objetivo, elas contam com um complexo aparato biossintético que está envolvido em numerosas reações e ciclos. Estes processos encontram-se agrupados no metabolismo primário do carbono (Krishna et al., 2015).

Entretanto, as plantas também são responsáveis pela síntese de uma infinidade de outras moléculas orgânicas, que podem ou não estar envolvidas nos processos de crescimento e desenvolvimento vegetal, e que tem papel fundamental para sua sobrevivência no ambiente (Heartmann, 2007). Estas moléculas são chamadas de metabólitos especiais (ou secundários) e

são sintetizadas a partir de algumas rotas metabólicas que têm como precursores subprodutos derivados do metabolismo primário do carbono (figura 10). Este conjunto de rotas derivadas do metabolismo primário do carbono é chamado de metabolismo especial ou metabolismo secundário do carbono (Taiz & Zeiger, 2006).

Figura 10. Metabolismo secundário do carbono (modificado de Taiz & Zeiger, 2006).

Os metabólitos especiais sintetizados encontram-se distribuídos de maneira heterogênea nas plantas e encontram-se divididos em basicamente quatro grandes grupos de substâncias, os terpenos, produtos secundários nitrogenados, compostos fenólicos e substâncias graxas, as quais se incluem as substâncias graxas das ceras e os monômeros da cutina (Taiz & Zeiger, 2006).

A biossíntese dos monômeros da cutina e das substâncias graxas das ceras possuem como precursores moléculas graxas de cadeia curta (entre 16 e 18 carbonos) e moléculas graxas de cadeia longa (entre 24 a 36 carbonos), respectivamente. As moléculas graxas de cadeia curta são sintetizadas nas células de diferentes tecidos vegetais, através de um processo denominado de síntese *de novo* dos ácidos graxos. Entretanto, exclusivamente nas células epidérmicas, estas moléculas graxas de cadeia curta sintetizadas podem sofrer

processos de diferenciação para formação dos monômeros da cutina, ou elas podem passar por um processo de alongamento para a formação das moléculas graxas de cadeia longa, que posteriormente sofrerão diferenciações, originando as diferentes substâncias graxas das ceras. Tanto a síntese *de novo* quanto o alongamento dos ácidos graxos, fazem parte da rota do acetato malonato (Kunst & Samuel, 2003; Ohlrogge et al., 2015).

A síntese *de novo* (figura 11) ocorre especificamente no estroma dos plastídios e é coordenada por um complexo enzimático denominado de FAS II (*fatty acid synthase type II*) e por uma enzima inicial denominada de ACCase plastidial (*plastidial acetyl-CoA carboxylase*). O cofator ACP (*acyl carrier protein*) também é essencial para esta rota, podendo ser considerado como parte do FAS II e é responsável por “segurar” as substâncias graxas que estão sendo sintetizadas através da ligação tiol presente no átomo de enxofre (Shepherd & Griffiths, 2006; Ohlrogge et al., 2015).

Uma molécula de acetil-CoA, um dos produtos finais da glicólise, é o substrato inicial para a síntese das substâncias graxas de cadeia curta que tem como primeira reação sua união a uma molécula de dióxido de carbono (oriunda de um bicarbonato), mediada pela enzima ACCase plastidial formando uma molécula de malonil-CoA. Em seguida, o grupo malonil é transferido do cofator CoA para o cofator ACP, pela enzima MCATase (*malonyl-CoA-ACP transilase*) (figura 11, traços azuis [síntese de malonil-ACP]) (Shepherd & Griffiths, 2006; Ohlrogge et al., 2015).

A partir da formação do malonil-ACP ocorre uma série de reações cíclicas catalisadas pelo complexo enzimático FAS II. O primeiro ciclo tem início com a condensação de uma molécula de acetil-CoA (molécula com dois carbonos) a uma molécula de malonil-ACP mediada pela enzima KAS III (*ketoacyl synthase III*) seguida da liberação de um dióxido de carbono, levando a formação de uma cetoacil-ACP denominada de 3-cetobutiril-ACP (figura 11, traços verdes [primeira etapa de condensação]). A 3-cetobutiril-ACP passa então por uma sequência de reações, iniciando-se por uma redução, seguida de uma desidratação e finalmente, uma nova redução formando o butiril-ACP, uma molécula com dois carbonos a mais que a molécula inicial de acetil-CoA, finalizando o primeiro ciclo (figura 11, traços laranjas [reações sequenciais]) (Shepherd & Griffiths, 2006; Ohlrogge et al., 2015).

Figura 11. Síntese *de novo* dos ácidos graxos (modificado de Shepherd & Griffiths, 2006; Ohlrogge et al., 2015). **Traços azuis:** síntese de malonil-ACP; **traços verdes:** primeira etapa de condensação; **traços laranjas:** reações sequenciais; **traços vermelhos:** adições secundárias de malonil-ACP; **linhas tracejadas:** etapas repetitivas; **traços violetas:** adição final de malonil-ACP. **ACCCase plastidial:** *plastidial acetyl-CoA carboxylase*; **MCATase:** *malonyl-CoA-ACP transilase*; **KAS I, II e III:** *ketoacyl synthase I, II e III*; **Redutase 1:** *3-ketoacyl-ACP reductase*; **Deidratase:** *3-hydroxyacyl-ACP dehydratase*; **Redutase 2:** *enoyl-ACP reductase*. Nomes em **negrito** correspondem às enzimas envolvidas na síntese *de novo*, sendo que as com nome preto são pertencentes ao complexo enzimático FAS II.

Esta molécula de acil-ACP formada (butiril-ACP) passa novamente por este ciclo de reações, se iniciando com a condensação de um novo malonil-ACP (unidade extensora), porém, desta vez mediada pela enzima KAS I (*ketoacyl synthase I*) com a perda de um dióxido de carbono (figura 11, traços vermelhos [adições secundárias de malonil-ACP]) seguido das reações de redução, desidratação e redução levando a formação de um de um novo acil-ACP com dois carbonos a mais que a molécula inicial deste ciclo. Estes ciclos se repetem várias vezes, resultando em subprodutos com dois carbonos a mais que os iniciais até a formação de uma molécula de acil-ACP com 16 carbonos (figura 11, linhas tracejadas [etapas repetitivas]). Esta molécula de acil-ACP de 16 carbonos pode passar uma última vez por este ciclo de reações, porém com a enzima KAS II (*ketoacyl synthase II*) mediando a condensação do malonil-ACP, resultando em uma molécula de acil-ACP com 18 carbonos (figura 11, traços roxos [adição final de malonil-ACP]). A formação de moléculas de acil-ACP de cadeia curta com 16 e 18 carbonos marca o fim da síntese *de novo*. Estas moléculas graxas formadas pela síntese

de novo nos plastídios sofrem reações com diferentes tioesterases seguindo diversos caminhos na célula. Um exemplo é a hidrólise destes acil-ACP resultando na remoção do grupo ACP e na formação de ácidos graxos livres, através da enzima *acyl-ACP thioesterase* (FATB) (Shepherd & Griffiths, 2006; Dewick, 2009; Kunst & Samuels, 2009; Ohlrogge et al., 2015).

Outras moléculas além do acetil-CoA podem atuar como unidades iniciais durante a síntese *de novo*, porém de forma menos expressiva, como o propionato-CoA, uma molécula com três carbonos. Se a unidade inicial de síntese for no caso o propionato-CoA, com as extensões a partir de pares de carbonos a cada ciclo, serão formadas moléculas graxas ímpares, com até 17 e 19 carbonos (Shepherd et al., 1995).

Nas células epidérmicas, onde estas substâncias são precursoras para a síntese dos monômeros da cutina e substâncias graxas das ceras, é necessário que haja seu transporte do plastídio para o retículo endoplasmático, onde ocorrerão as próximas etapas de síntese e diferenciação. Para isto, enzimas tioesterases especializadas denominadas de LACS (*long chain acyl-CoA synthase*) substituem o grupo ACP pelo grupo CoA, necessário para que seja possível o transporte destes acil-graxos do plastídio até o retículo endoplasmático, atravessando o citoplasma (Beisson et al., 2012; Ohlrogge et al., 2015).

Ainda não se sabe ao certo como o transporte dos acil-CoA ocorre, porém foram propostos dois caminhos possíveis. O primeiro seria através do transporte direto entre o plastídio e o retículo endoplasmático através da proximidade entre as duas organelas. O segundo seria através de proteínas transportadoras ACBPs (*acyl-CoA binding proteins*) que seriam encarregadas de transportar estes acil-CoA pelo citoplasma (Báez-Sañudo et al. 2013).

No retículo endoplasmático das células epidérmicas, moléculas de acil-CoA com 16 carbonos saturadas (16:0) e com 18 carbonos com uma instauração (*cis* 9 – 18:1), podem passar por diversas reações de hidroxilação e epoxilação originando os diferentes monômeros da cutina, como por exemplo, ω -hidroxiácidos, polihidroxiácidos, e ácidos α,ω -dicarboxílicos (figura 12) (Kunst & Samuels, 2003; Beisson et al., 2012). Estudos *in vitro* também sugerem que os ácidos graxos equivalentes a estes acil-CoA também podem participar destas reações de hidroxilação e epoxilação após a atuação das FATBs (Beisson et al., 2012).

Figura 12. Biossíntese dos monômeros da cutina derivados das moléculas graxas 16:0 e cis 9 – 18:1 (adaptado de Beisson et al., 2012). Experimentos realizados *in vitro*, em que R pode ser igual a um H ou CoA, por exemplo. Nomes em **negrito** indicam enzimas que participam nestas etapas biossintéticas.

Para a síntese das substâncias graxas das ceras, as moléculas de acil-CoA de cadeias curtas, precisam passar por um processo de alongamento resultando em moléculas graxas de cadeia longa. Estas últimas, ainda no retículo endoplasmático, sofrem modificações em suas estruturas originando as diferentes classes de substâncias graxas das ceras (Kunst & Samuels, 2003 e 2009; Ohlrogge et al., 2015).

O processo de alongamento dos acil-CoA de cadeia curta é muito semelhante ao processo de síntese *de novo* (figura 13). Nele, um complexo enzimático denominado de FAE (*fatty acid elongase*), de maneira análoga ao que ocorre com o FAS II, através de reações cíclicas adiciona um par de carbonos às moléculas iniciais de cada ciclo (Kunst & Samuels, 2009; Kunst & Haslam, 2013). Antes das reações de alongamento propriamente dito, há a formação de moléculas de malonil-CoA no citosol (figura 13, traços azuis [etapas que antecedem o alongamento propriamente dito]), que ocorre a partir da condensação de um dióxido de carbono a uma molécula de acetil-CoA mediada por ACCases citosólicas.

A primeira etapa do processo de alongamento dos acil-CoA de cadeia curta ocorre com a condensação de um malonil-CoA a um acil-CoA inicial mediado pela enzima KCR (*ketoacyl-CoA synthase*), ocorrendo a liberação de um dióxido de carbono (figura 13, traços verdes [primeira etapa de condensação]). A partir desta primeira condensação é formado uma β -cetoacil-CoA, que passará pela sequência de reações de redução, desidratação e redução

originando uma molécula de acil-CoA com dois carbonos a mais que a molécula inicial do ciclo (figura 13, traços laranjas [reações sequenciais]). Este ciclo de condensação, redução, desidratação e nova redução se repete até a formação de moléculas de acil-CoA com cerca de 24 a 36 carbonos (figura 13, traços vermelhos [adições secundárias de malonil-CoA] e traços laranjas) (Dewick 2009; Kunst & Haslam, 2013; Ohlrogge et al., 2015). Os acil-CoA de cadeias longas sintetizados são os precursores das vias de diferenciação de ácidos graxos nas diferentes classes de substâncias encontradas nas ceras.

Figura 13. Alongamento dos ácidos graxos (modificado de Kunst & Haslam, 2013). **Traços azuis:** etapas que antecedem o alongamento propriamente dito; **traços verdes:** primeira etapa de condensação; **traços laranjas:** reações sequenciais; **traços vermelhos:** adições secundárias de malonil-CoA; **linhas tracejadas:** etapas repetitivas; **traço violeta:** formação de ácidos graxos de cadeia longa. **LACS:** long chain acyl-CoA synthase; **ACCCase citosólica:** cytosolic acetyl-CoA carboxylase; **KCS:** ketoacyl-CoA synthase; **KCR:** β-ketoacyl-CoA reductase; **HCD:** β-ketoacyl-CoA dehidratase; **ECR:** enoyl-CoA reductase. *Molécula com dois carbonos a mais que a molécula inicial do ciclo. Nomes em **negrito** correspondem às enzimas envolvidas no alongamento dos ácidos graxos, sendo que as com nome preto são pertencentes ao complexo enzimático FAE.

Na maioria das plantas, existem duas vias principais de síntese das substâncias graxas das ceras a partir dos acil graxos de cadeia longa, a via da redução do grupo acil, que leva a formação dos álcoois primários e ésteres e a via da descarboxilação, responsável pela síntese dos aldeídos, alcanos, álcoois secundários e cetonas (Figura 14) (Kunst & Samuels, 2003 e 2009).

Figura 14. Diagrama da síntese das substâncias graxas das ceras (adaptado de Kunst & Samuels, 2003 e 2009; Ohlrogge et al., 2015). **FATB**: *acyl-ACP thioesterase*. Nomes em **negrito** correspondem às enzimas envolvidas nas vias de redução do grupo acil e da descarbonilação. As setas tracejadas correspondem a etapas ainda não elucidadas completamente.

Na via de redução do grupo acil, os acil graxos de cadeia longa são reduzidos a álcoois primários através de duas reações consecutivas, ocorrendo a formação de um aldeído intermediário que não é liberado em sua forma livre. A primeira reação é mediada pela enzima *NADH-dependent acyl-CoA reductase*, que reduz o acil graxo de cadeia longa para um aldeído intermediário, que em seguida é reduzido novamente, através da enzima *NADPH-dependent aldehyde reductase*, formando os álcoois primários. Os ésteres são formados a partir da junção de um álcool primário com um acil graxo (formado durante as etapas de síntese *de novo* ou alongamento) catalisada pela enzima *fatty acyl-CoA: fatty alcohol acyltransferase WSD1* (Kunst & Samuels, 2003 e 2009; Yeats & Rose, 2013).

Ao contrário do que ocorre para a via da redução do grupo acil, a via da descarbonilação ainda não está completamente esclarecida. Existem ainda dúvidas sobre quais enzimas estão envolvidas e como ocorre a formação dos alcanos a partir dos acil graxos de cadeia longa. Uma via proposta é a redução dos acil graxos de cadeia longa a aldeídos que podem ser liberados na forma livre, pela ação de uma enzima diferente da *NADH-dependent acyl-CoA reductase*, que está envolvida em um processo semelhante na via da redução do grupo acil. Estes aldeídos formados podem então ser descarbonilados, ocorrendo a perda de um monóxido de carbono, formando os alcanos. A enzima envolvida nesta possível descarbonilação também não foi esclarecida, há hipóteses de que seja uma descarbonilase voltada para o aldeído (*VLC-aldehyde decarboxylase*). A partir dos alcanos podem ser formados os álcoois secundários e destes as cetonas. A enzima envolvida nestes processos já é conhecida, é a *midchain alkane hydroxylase MAH1*, que atua tanto na hidroxilação dos alcanos para a formação dos álcoois secundários, quanto na oxidação dos álcoois secundários para a formação das cetonas (Kunst & Samuels, 2003 e 2009; Bernard & Joubès, 2013; Yeats & Rose, 2013).

As enzimas *WSD1* e *MAH1*, que catalisam as etapas finais da síntese das ceras, são encontradas na membrana do retículo endoplasmático, já o restante das enzimas envolvidas na síntese das ceras, incluindo as enzimas relacionadas ao FAE, LACS e as outras enzimas da via de redução do grupo acil e da descarbonilação, são encontradas na região interna do retículo endoplasmático (Kunst & Samuels, 2009).

Interessante notar que devido a reação de descarbonilação que ocorre na formação dos alcanos, eles e seus sucessores (álcoois secundários e cetonas) formam a priori, considerando como unidade inicial da síntese *de novo* moléculas de acetil-CoA, séries homólogas de cadeias ímpares, enquanto que as outras classes formam séries homólogas de cadeias pares. Isto pode ser melhor observado através do exemplo da tabela 1 na coluna dos “Tamanhos predominantes no caule de *Arabidopsis*”.

Após a biossíntese dos monômeros da cutina e das ceras no retículo endoplasmático das células epidérmicas, é necessário que haja o transporte destas substâncias do interior da célula até seu local de deposição. Para isto, elas devem atravessar a membrana plasmática e a parede celular. Assim como foi visto para o transporte dos acil-CoA de cadeia curta, também não se sabe exatamente como este processo ocorre.

Duas hipóteses tentam explicar como ocorre o transporte destas substâncias do retículo endoplasmático através da membrana plasmática. A primeira seria através do

transporte facilitado por proteínas FABPs (*fatty acid binding protein*) através do citoplasma e em seguida por proteínas do tipo ABC (*ATP binding cassette*) através da membrana plasmática. A outra hipótese consiste no transporte destas substâncias para o golgi, onde seriam envolvidos por vesículas lipídicas, que atravessariam o citoplasma e as transportariam através da membrana plasmática ao unir-se a ela (Kunst & Samuels, 2009; Báez-Sañudo *et al.*, 2013; Yeats & Rose, 2013).

Outras duas hipóteses foram propostas para explicar como ocorreria o transporte destes lipídeos pela parede celular até chegar na camada cuticular. A primeira hipótese propõe que estes lipídeos atravessariam a parede celular por difusão. A segunda propõe que estes lipídeos seriam transportados pela parede celular através de proteínas denominadas de LTP (*lipid transfer protein*) até chegar à camada cuticular (Kunst & Samuels, 2009; Báez-Sañudo *et al.*, 2013; Yeats & Rose, 2013).

1.6 Biossíntese dos compostos cíclicos de via única das ceras – Triterpenoides e esteroides

Os triterpenos e os esteroides, ambos pertencentes aos terpenoides, são formados a partir de unidades básicas denominadas de isoprenos, que apresentam cinco carbonos em sua estrutura, sendo eles o isopentenil difosfato (IPP) e o dimetilalil difosfato (DMAPP) (figura 15). Os terpenoides podem ser classificados de acordo com o número de carbonos em sua molécula: cinco carbonos (hemiterpenos), 10 carbonos (monoterpenos), 15 carbonos (sesquiterpenos), 20 carbonos (diterpenos), 25 carbonos (sesterterpenos), 30 carbonos (triterpenos), 40 carbonos (tertaterpenos) e quando possuem estruturas maiores denominam-se de politerpenos. Entretanto, modificações metabólicas podem alterar o número de carbonos de sua estrutura original (Taiz & Zeiger, 2006; Dewick, 2009).

A biossíntese dos isoprenos é basicamente realizada através de duas rotas metabólicas diferentes, a do acetato-mevalonato (citossólica) e a do metileritritol fosfato, conhecida também como MEP (plastídica). Na rota do acetato-mevalonato três moléculas de acetil-CoA são condensadas a partir de algumas reações para formar o 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), através da enzima *HMG-CoA synthase*. O HMG-CoA é transformado em ácido mevalônico a partir de duas reações de redução mediadas pela enzima *HMG-CoA reductase*. O ácido mevalônico em seguida sofre pirofosforilação, descarboxilação e desidratação até finalmente formar moléculas de isopentenil difosfato (IPP). As moléculas de IPP podem ser isomerizadas em dimetilalil difosfato (DMAPP) através da enzima *isopentenyl diphosphate isomerase*. O IPP e o DMAPP são as unidades pentacarbonadas básicas para a formação das cadeias terpênicas (Heldt & Heldt, 1997; Taiz & Zeiger, 2006; Dewick, 2009).

Figura 15. Unidades básicas formadoras das cadeias terpênicas. **IPP**: isopentenil difosfato; **DMAPP**: dimetilalil difosfato (modificado de Dewick, 2009).

A rota do metileritritol fosfato (MEP) ocorre nos plastídios a partir do gliceraldeído-3-fosfato e dois carbonos da molécula do piruvato, que se condensam formando o 1-deoxi-D-xilulose-5-P. Este por sua vez através de algumas reações e de redução forma o 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (metileritritol fosfato). O 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato através de uma série de reações é transformado em 4-hidroxi-3-metil-but-2-enil difosfato que por redução forma o IPP ou DMAPP (Heldt & Heldt, 1997; Taiz & Zeiger, 2006; Dewick, 2009). Esta última etapa ainda não está com os mecanismos bem claros, porém sabe-se que é formado IPP em maior proporção que o DMAPP. Entretanto um equilíbrio é alcançado através da isomerização entre as moléculas de IPP e DMAPP (Dewick, 2009).

O DMAPP é o precursor dos terpenos formados a partir de uma única unidade isoprênica, denominados de hemiterpenos (cinco carbonos em sua estrutura), entretanto alguns hemiterpenos mais simples podem ser originados também do aminoácido leucina (Vickery & Vickery, 1981; Dewick, 2009).

A formação das cadeias terpênicas ocorre através da condensação cabeça-cauda de unidades iniciais para formação de cadeias maiores. Ela se inicia a partir da condensação de uma molécula de IPP com uma de DMAPP catalisada pela enzima *geranyl diphosphate synthase* para formar o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos precursora de quase todos monoterpênicos (figura 16). A este GPP formado pode ser condensada uma nova molécula de IPP catalisada pela enzima *farnesyl diphosphate synthase* para formar o farnesil difosfato (FPP), que possui 15 carbonos e é precursor da maioria dos sesquiterpenos. Ao FPP pode ligar-se outro IPP catalisado pela enzima *geranylgeranyl diphosphate synthase*, para formar o geranylgeranyl difosfato (GGPP), molécula de 20 carbonos precursor dos diterpenos. O GGPP, por exemplo, é modificado em fitol, que é a base para a formação da cadeia terpênica associada às moléculas de tocoferol e da clorofila. Um novo IPP pode ser ligado a este GGPP formando o geranilfarnesil difosfato, precursor de 25 carbonos dos sesterterpenos. Esta classe de metabólitos não é comum em plantas terrestres, ela é mais comum em organismos marinhos e fungos (Taiz & Zeiger, 2006; Dewick, 2009).

Figura 16. Síntese resumida de uma molécula de geranylgeranil difosfato, exemplificando a condensação cabeça-cauda (modificado de Dewick, 2009). **IPP**: isopentenil difosfato; **DMAPP**: dimetilalil difosfato; **GPP**: geranylgeranil difosfato; **[PP]**: P_2O_3 ; As setas duplas indicam que este passo envolve mais de uma reação. Em **negrito** encontra-se o nome da enzima envolvida nestas reações.

A condensação de dois FPP cabeça-cauda, catalisada pela enzima *squalene synthase*, forma o esqualeno, uma molécula linear com 30 carbonos, precursora dos triterpenos, (figura 17). Esta não é uma reação direta, ela possui como intermediário a formação de presqualeno difosfato e também há a perda de próton, perda de difosfato e rearranjos estruturais (figura 17 [etapas intermediárias]) (Dewick, 2009).

Para formar os triterpenos, que possuem moléculas cíclicas, é necessário que o esqualeno passe por uma série de modificações em sua cadeia a partir de um processo de ciclização ou dobramento. Este processo ocorre através da epoxidação de uma das extremidades de sua cadeia formando o epóxi-esqualeno (2,3-oxidoesqualeno), mediado pela enzima *squalene epoxidase* (figura 17) (Dewick, 2009).

Figura 17. Biossíntese dos precursores dos triterpenos, protosteril cátion e damarenil cátion (modificado de Dewick, 2009). Nomes em **negrito** correspondem às enzimas envolvidas nos processos. Setas duplas correspondem a reações que envolvem mais de um passo. A seta em cinza apenas demonstra um dobramento da molécula, sem que haja um rearranjo de sua estrutura propriamente dito. Os processos entre [] estão detalhados ao longo do texto.

O epóxi-esqualeno dobra-se e não passa mais a apresentar conformação linear plana, ficando na forma do epóxi-esqualeno "dobrado". O epóxi-esqualeno "dobrado" passa então por um complexo processo de ciclização aproximando as metilas à cadeia carbônica principal. Ao final da ciclização, há a formação de dois possíveis cátions intermediários instáveis, que são estereoisômeros, o protosteril cátion ou o damarenil cátion (figura 17 [etapas de ciclização]). Estes dois cátions são a base para a síntese dos triterpenos (figura 18) (Dewick, 2009; Kutchan et al., 2015).

Figura 18. Exemplos de derivados do protosteril cátion e damarenil cátion (modificado de Dewick, 2009). **A:** formação do lanosterol e cicloartenol a partir da perda do próton do protosteril cátion. **B:** derivados do damarenil cátion. Formação do damarenediol a partir da neutralização do próton por uma água, formação do eufol pela perda do próton e formação do ácido ursólico, passando pela α -amirina. **[etapa 1]:** durante esta etapa ocorre a formação de quatro precursores catiônicos mediados pelas enzimas *dammarenediol-II synthase* e *oxysqualene:lupeol cyclase*. Setas duplas correspondem a reações que envolvem mais de um passo.

A partir dos cátions protosteril e damarenil, outros cátions derivados podem ser formados, entretanto a formação de um triterpeno propriamente dito é caracterizada pela perda ou neutralização do próton de seu precursor catiônico, originando uma molécula neutra estável. Podem ocorrer diferentes rearranjos intermediários com estes dois cátions iniciais, como uma nova ciclização, por exemplo. Alguns triterpenos mais básicos, por assim dizer, são sintetizados diretamente a partir do protosteril cátion, como o lanosterol e cicloartenol, que são formados a partir da perda do próton do protosteril cátion (figura 18A); e a partir do

damarenil cátion, que pode perder seu próton formando o eufol ou pode ter seu próton neutralizado por uma molécula de água formando o damarenediol. Todos estes triterpenos citados possuem apenas quatro anéis carbônicos em sua estrutura, sendo caracterizados como triterpenos tetracíclicos (Gosh, 2016).

Já outros triterpenos requerem maiores modificações estruturais destes cátions iniciais levando a formação de outros cátions intermediários, como ocorre com a α -amirina, que tem como base o damarenil cátion, que durante sua síntese são formados outros quatro cátions intermediários e são necessárias duas enzimas. A α -amirina ainda pode ser oxidada para formar o ácido ursólico, um triterpeno bastante comum nas plantas (figura 18B) (Dewick, 2009). Tanto a α -amirina quanto o ácido ursólico, possuem em sua estrutura cinco anéis carbônicos e são representantes dos denominados triterpenos pentacíclicos (Gosh, 2016).

Por fim, a dimerização de dois GGPPs forma o precursor de 40 carbonos dos tetraterpenos, como por exemplo, os carotenoides (Dewick, 2009).

Os esteroides correspondem a uma classe de substâncias que tem como precursores os triterpenos tetracíclicos lanosterol e cicloartenol. Os triterpenos e os esteroides apresentam estruturas muito semelhantes entre si, entretanto os esteroides não possuem três metilas em seu esqueleto básico (figura 19), duas no carbono 4 presente no anel A e uma no carbono 14 presente entre os anéis C e D (Dewick, 2009).

Um esteroide bastante conhecido, e usado como exemplo estrutural de esteroides é o colesterol (figura 19) que pode ter origem tanto a partir do lanosterol (animais e fungos), quanto do cicloartenol (plantas). A síntese do colesterol para ambos precursores é bastante longa e envolve uma série de reações, moléculas intermediárias e diversas enzimas, que são responsáveis, por exemplo, por remover as metilas dos carbonos 4 e 14 (processo semelhante ao demonstrado pela figura 20) (Dewick, 2009).

Figura 19. Esqueleto básico de um esteroide e estrutura do colesterol (adaptado de Dewick, 2009). A partir da estrutura básica dos esteroides, que se encontra com alguns carbonos numerados e anéis identificados, é possível observar que a estrutura do colesterol é bastante simples, diferindo apenas por ter uma hidroxila no carbono quatro e uma dupla ligação entre os carbonos 5 e 6.

Por bastante tempo acreditou-se que o colesterol não se encontrava nas plantas. Entretanto, de acordo com Behrman e Gopalan (2006) as plantas contém colesterol, que está presente em pequenas quantidades como componentes de membrana e nas ceras cuticulares. Um trabalho realizado por Noda e colaboradores (1988), mostra que o colesterol pode estar presente nas ceras de diferentes espécies, tais como espinafre (*Spinacia oleracea* L.), couve (*Brassica oleraceae* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.). No caso da colza (*Brassica napus*), o colesterol é o principal esteroide das ceras, chegando a uma porcentagem relativa de mais de 70% da composição total de esteroides.

Nas plantas e também em fungos e algas, os esteroides mais comuns são os chamados de fitoesteróis, que são caracterizados por possuir um ou dois carbonos extras formando uma cadeia lateral no carbono 24, numerados como 28 e 29. A biossíntese dos fitoesteróis, nas plantas, é um processo bastante complexo que envolve uma série de etapas, rearranjos e moléculas intermediárias. Os fitoesteróis mais comuns encontrados nas plantas e que também podem estar presentes nas ceras cuticulares, são o campesterol e o β -sitosterol (este último com a síntese resumida descrita na figura 20), derivados a partir do cicloartenol (Dewick, 2009; Becker et al., 2017; Tomasi et al., 2017).

1.7 Biossíntese dos compostos cíclicos de via mista das ceras - Flavonoides e tocoferóis

Os flavonoides e os tocoferóis são ditos substâncias de via mista, pois mais de uma via biossintética está envolvida para a formação do esqueleto básico de suas moléculas. Na biossíntese dos flavonoides estão envolvidas a via do acetato-malonato e a via do ácido chiquímico (figura 21) e na biossíntese dos tocoferóis a via do acetato-mevalonato e via do ácido chiquímico (DellaPenna & Pogson, 2006; Kutchan et al., 2015).

Figura 20. Biossíntese resumida do β-sitosterol em plantas, a partir do cicloartenol (baseado em Dewick, 2009). O triterpeno cicloartenol inicia a biossíntese do β-sitosterol nas plantas, passando por diferentes intermediários. Inicialmente a **enzima 1** (*sterol C-24 methyltransferase*) metila o carbono 24, resultando na formação de uma dupla ligação entre o carbono 24 e 28 e a perda da dupla entre os carbonos 24 e 25. Em seguida, o intermediário 1, através das **enzimas 2, 3 e 4** (2: *methylsterol monooxygenase*; 3: *sterol-4α-carboxylate 3-dehydrogenase*; 4: *3-ketosteroid reductase*) perde uma das metilas do carbono 4 (anel A). O intermediário 4 através da **enzima 5** (*cycloeucalenol cycloisomerase*) tem o ciclo propano ligado aos carbonos 9 e 10 (anel B) aberto, resultando na formação de uma dupla ligação entre os carbonos 8 e 9 (entre os anéis C e D) e formação de uma metila no carbono 10. O intermediário 7 catalisado pelas **enzimas 6 e 7** (6: *sterol 14-demethylase*; 7: *sterol Δ¹⁴-reductase*) tem a metila do carbono 14 (entre os anéis C e D) removida. O intermediário 9, novamente através das enzimas 2, 3 e 4, tem a segunda metila do carbono 4 (anel A) removida. Em seguida, a dupla ligação entre os carbonos 8 e 9 (entre os anéis B e C) do intermediário 12, sofre um processo de migração se estabelecendo entre os carbonos 5 e 6 (anel B), através das **enzimas 8, 9 e 10** (8: *sterol Δ⁸-Δ⁷-isomerase*; 9: *Δ⁷-sterol Δ⁵-dehydrogenase*; 10: *sterol Δ⁷-reductase*). Por último, o intermediário 15 através das **enzimas 11 e 12** (11: *24-methylsterol C-methyltransferase*; 12: *Δ²⁴ sterol reductase*) é metilado no carbono 28, formando o β-sitosterol. Setas duplas correspondem a reações que envolvem mais de um passo.

A via do ácido chiquímico recebe este nome por apresentar o ácido chiquímico como um importante intermediário. Ela está presente em plantas e bactérias, entretanto encontra-se ausente em animais. A partir desta via importantes substâncias e classes de substâncias são

sintetizadas, como os aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano. Além dos flavonoides e tocoferóis, ela também está envolvida na síntese dos lignoides, cumarinas e estilbenos (Dewick, 2009).

Figura 21. Diagrama resumido da biossíntese do ácido prefênico (baseado no Dewick, 2009). **PEP**: fosfoenolpiruvato; **DAHP**: ácido 3-deoxi-D-arabino-eptulosônico 7-fosfato. **Enzima 1**: DAHP synthase; **enzima 2**: 3-dehydroquinase synthase; **enzima 3**: 3-dehydroquinase; **enzima 4**: shikimate dehydrogenase; **enzima 5**: shikimate kinase; **enzima 6**: 5-enolpyruvylshikimate acid 3-phosphate synthase; **enzima 7**: chorismate synthase; **enzima 8**: chorismate mutase. Setas duplas correspondem a reações que envolvem mais de um passo.

A via do ácido chiquímico tem início a partir da D-eritrose-4-fosfato (formado na via das pentoses fosfato) e do fosfoenolpiruvato (PEP) (formado durante a glicólise), que são condensados para formar o ácido 3-deoxi-D-arabino-eptulosônico 7-fosfato (DAHP) através da ação da enzima DAHP synthase (figura 21). Através das enzimas 3-dehydroquinase synthase e 3-dehydroquinase são formados os ácidos 3-deidroquínico e 3-deidrochiquímico respectivamente. Este último é reduzido formando o ácido chiquímico através da enzima shikimate dehydrogenase. O ácido chiquímico através de uma sequência de reações, a qual se inclui uma desfosforilação, da origem ao ácido corísmico. Esta sequência de reações é mediada

por três enzimas diferentes, a *shikimate kinase*, a *5-enolpyruvylshikimate acid 3-phosphate synthase* e a *chorismate synthase*, respectivamente. O ácido corísmico é então rearranjado através da enzima *chorismate mutase* ao ácido prefênico (Dewick, 2009).

Figura 22. Biossíntese da L-fenilalanina e L-tirosina (modificado de Dewick, 2009). **Enzima 1:** *prephenate aminotransferase*; **enzima 2:** *arogenate dehydratase*; **enzima 3:** *arogenate dehydrogenase*; **enzima 4:** *prephenate dehydratase*; **enzima 5:** *phenylpyruvate aminotransferase*; **enzima 6:** *prephenate dehydrogenase*; **enzima 7:** *4-hydroxyphenylpyruvate aminotransferase*.

O ácido prefênico é o substrato para a formação dos aminoácidos aromáticos L-fenilalanina e L-tirosina, que são precursores para a formação de parte do esqueleto dos flavonoides e parte do esqueleto dos tocoferóis, respectivamente, em plantas. A partir do ácido prefênico, estes aminoácidos podem ser formados via ácido L-arogênico ou através de derivados do ácido pirúvico, sendo que em ambas as possibilidades há uma etapa de adição de nitrogênio (figura 22) (Dewick, 2009).

A fenilalanina através da enzima *phenylalanine ammonia lyase* (PAL) tem o nitrogênio removido e é convertida em ácido cinâmico (figura 23). Este é hidroxilado para formar o ácido *p*-cumárico (ácido 4-cumárico), através da enzima *cinnamate 4-hydroxylase*. Em bactérias a L-tirosina também pode ser a precursora do ácido *p*-cumárico através da remoção do grupo amônia pela enzima *tyrosine ammonia lyase* (TAL). O ácido *p*-cumárico através da enzima *4-coumarate:CoA ligase*, é ligado a uma coenzima A, formando o *p*-cumaroil-CoA (figura 23) (Dewick, 2009; Kutchan et al., 2015).

Figura 23. Biossíntese do *p*-cumaroil-CoA (modificado de Dewick, 2009). **Enzima 1:** *phenylalanine ammonia lyase* (PAL); **enzima 2:** *cinnamate 4-hydroxylase*; **enzima 3:** *4-coumarate:CoA ligase*.

Os derivados da L-fenilalanina como os ácidos cinâmico e *p*-cumárico e o *p*-cumaroil-CoA, que possuem em sua estrutura um anel aromático ligado a uma cadeia lateral com três carbonos, são chamados de fenilpropanoides. Os fenilpropanoides podem seguir por duas vias biossintéticas possíveis que continuarão a biossíntese das substâncias fenólicas. A via dos fenilpropanoides, que originará as substâncias derivadas do esqueleto C₆-C₃ (figura 24A) como as ligninas e cumarinas; e a via mista dos fenilpropanoides e acetato-malonato (fenilpropanoide-acetato) as quais originarão os denominados policetídeos, que são as substâncias derivadas do esqueleto C₆-C₃-C₆ como os flavonoides (figura 24B) e estilbenos (Kutchan et al., 2015).

Figura 24. Esqueletos básicos dos fenilpropanoides e flavonoides (modificado de Kutchan et al., 2015). **A**: esqueleto básico de um fenilpropanoide (C_6-C_3); **B**: esqueleto básico de um flavonoide ($C_6-C_3-C_6$), evidenciando em cinza o anel A e um oxigênio de origem da via do acetato-malonato e em preto o anel B junto a ponte carbônica de origem da via do ácido chiquímico.

Os policetídeos são moléculas caracterizadas por possuir como unidade inicial de síntese, um derivado cinâmico ligado a uma coenzima A, como o *p*-cumaroil-CoA (via do ácido chiquímico), que são estendidos de uma a muitas vezes com unidades de malonil-CoA (via do acetato-malonato). Esse processo de extensão é mediado por enzimas denominadas de *polyketide synthases* (PKSs), que compreendem três tipos diferentes. No caso da síntese dos flavonoides as enzimas mediadoras são as do PKS III, também denominadas de *chalcone synthase-like PKSs*. Deste modo, o início da síntese dos flavonoides ocorre através da adição de três unidades de malonil-CoA a molécula de *p*-cumaroil-CoA, mediada pelas enzimas do PKS III (figura 25). Esse processo de extensão é bastante complexo, entretanto é análogo ao processo de síntese *de novo* dos ácidos graxos, ocorrendo por meio de ciclos de extensão de dois carbonos por molécula de malonil-CoA adicionadas e tem como intermediárias moléculas de β -cetoesters, semelhantes à síntese *de novo* (Dewick, 2009; Kutchan et al., 2015).

Este processo de extensão é responsável pela formação de um policetídeo inicial, composto por uma unidade de fenilpropanoide acrescido de seis carbonos. Em seguida, ocorre um processo de dobramento, ainda mediado pela PKS III, originando as chalconas, que é a primeira subclasse de flavonoides formada. Estas chalconas podem ser isomerizadas, através da enzima *chalcone isomerase*, formando a segunda subclasse de flavonoides, as flavanonas (figura 25). A partir das flavanonas, através de diferentes enzimas e reações, são sintetizadas as principais subclasses de flavonoides, como as flavonas, flavonóis, antocianidinas e catequinas. Estas subclasses de flavonoides formadas são distinguidas entre si a partir de diferenças encontradas na ponte carbônica entre os anéis A e B. Posteriormente estas subclasses também podem sofrer outras reações, como hidroxilação, isomerização e

glicosilação, por exemplo, originando os mais diversos flavonoides (Dewick, 2009; Kutchan et al., 2015).

Figura 25. Biossíntese de flavonoides pela via fenilpropanoide-acetato (modificado de Dewick, 2009). **Enzima 1:** *chalcone synthase* (PKS III); **enzima 2:** *chalcone isomerase*. A partir das flavanonas foram colocados dois exemplos de subclasses derivadas. Setas duplas correspondem a reações que envolvem mais de um passo.

Os tocoferóis, também chamados de vitamina E, pertencem a uma classe de substâncias chamadas de quinonas terpênicas. Estas substâncias são caracterizadas por apresentar em seu esqueleto uma parte cíclica oxigenada, originada pela oxidação de determinadas substâncias fenólicas, que tem origem na via do ácido chiquímico, e uma parte terpênica, de origem das vias do MEP e do acetato-mevalonato.

A parte oxigenada cíclica dos tocoferóis tem origem a partir do ácido prefênico (figura 21), o qual é desidratado formando o ácido 4-hidroxifenil pirúvico (figura 22). A partir do ácido 4-hidroxifenil pirúvico ocorre uma complexa sequência de reações levando a oxigenação e eliminação de dióxido de carbono, mediada pela enzima *4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase*, originando o ácido homogentísico (figura 26) (DellaPenna & Pogson, 2006; Dewick, 2009). Ao ácido homogentísico é condensada uma cadeia lateral carbônica, denominada de fitil difosfato. O fitil difosfato é sintetizado a partir da redução de uma molécula de gernilgeranil difosfato (GGPP) mediado pela enzima *geranylgeranyl reductase* (Grimm et al., 1999). A união do fitil difosfato ao ácido homogentísico é mediada pela enzima

homogentisate phytyltransferase, ocorrendo a perda do grupo difosfato e eliminação de dióxido de carbono (DellaPenna & Pogson, 2006; Dewick, 2009).

Figura 26. Diagrama de síntese dos tocoferóis (baseado em DellaPenna & Pogson, 2006; Dewick, 2009). **MPBQL**: 2-metil-6-fitol-1,4-benzoquinol; **O[PP]**: difosfato; **SAM**: coenzima S-adenosilmetionina. **Enzima 1**: 4-hydroxyphenyl-pyruvate dioxygenase; **enzima 2**: geranylgeranyl reductase; **enzima 3**: homogentase phytyltransferase; **enzima 4**: 2-methyl-6-phytyl-1,4-benzoquinol methyltransferase; **enzima 5**: tocopherol cyclase; **enzima 6**: γ-tocopherol methyltransferase.

A união do ácido homogentísico e do fitil difosfato dá origem a uma molécula denominada de 2-metil-6-fitol-1,4-benzoquinol (MPBQL), molécula básica para a síntese dos tocoferóis (DellaPenna & Pogson, 2006). O MPBQL pode ser metilado através do auxílio da coenzima SAM (S-adenosilmetionina) e da enzima *2-methyl-6-phytyl-1,4-benzoquinol methyltransferase* dando origem a um intermediário metilado, que sofrerá um processo de ciclização através da enzima *tocopherol cyclase* formando o γ-tocoferol. O γ-tocoferol através da coenzima SAM e da enzima *γ-tocopherol methyltransferase* será novamente metilado formando o α-tocoferol (figura 26) (DellaPenna & Pogson, 2006; Dewick, 2009).

O MPBQL também pode seguir por outra rota, sendo diretamente ciclizado para formar o δ-tocoferol, através da enzima *tocopherol cyclase* (figura 26). O δ-tocoferol com o auxílio da SAM e da enzima *γ-tocopherol methyltransferase* é metilado formando o β-tocoferol (Dewick, 2009).

1.8 Fatores intrínsecos e exógenos capazes de interferir sobre as ceras cuticulares

As plantas, diferentes dos animais, são incapazes de se locomover para evitar os diversos estresses ambientais. Porém, ao longo de seu processo evolutivo diversos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e estruturais foram selecionados tornando-as capazes de sobreviver às condições de extremos de temperatura, dessecação, congelamento, altos e baixos níveis de luminosidade, efeitos nocivos provenientes de radiações solares, falta de nutrientes no solo, pressões bióticas, entre outros (Shepherd & Griffiths, 2006; Bernard & Joubès, 2013). A cutícula é uma destas estruturas, possuindo um papel muito importante na interação da planta com o meio externo principalmente devido à presença das ceras cuticulares.

As ceras, como visto nos tópicos anteriores, podem apresentar grande diversidade química e estrutural entre as plantas. Entretanto, seu teor, composição e morfologia não são imutáveis, existindo diversos fatores capazes de alterar estas características. Estes fatores podem ser divididos basicamente em dois grupos: fatores intrínsecos, que compreendem os fatores genéticos e os fatores exógenos, que compreendem os fatores ambientais.

Os fatores genéticos atuam sobre a variabilidade natural das ceras cuticulares nos diferentes indivíduos e espécies. O teor de cera, sua composição química e morfologia podem variar entre as diferentes espécies (Baker et al., 1975; Post-Beittenmiller, 1996), mesmo quando coletadas em um mesmo ambiente (Salatino et al., 1991; Carr et al., 2014). Além do genótipo como um todo, a regulação gênica da biossíntese das ceras também pode interferir em suas características. Por exemplo, diferentes órgãos vegetais podem apresentar composições e morfologias distintas (Baker et al., 1975; Bourdenx et al., 2011; Bernard & Joubès, 2013). Ademais, o teor e a composição química das ceras também podem variar de acordo com o estágio de desenvolvimento do indivíduo (Atkin & Hamilton, 1982; Gülz et al., 1991; Hauke & Schreiber, 1998).

São conhecidos diversos fatores ambientais que são capazes de interferir nas características das ceras cuticulares, entre eles estão os fatores naturais como a temperatura, umidade, luminosidade e altitude; os fatores bióticos como a pressão de herbivoria; e os fatores antrópicos como a poluição atmosférica.

Baker (1974) fez um grande estudo com quatro mutantes de *Brassica oleracea* L. no qual mostrou que altos índices de luminosidade associados a baixos níveis de umidade ou ao aumento de temperatura são capazes de aumentar o teor de cera além de alterar sua

morfologia. Koch e colaboradores (2006c) estudaram diferentes espécies que foram cultivadas em ambientes com diferentes níveis de umidade. Dentre suas observações, verificaram que as plantas cultivadas em maiores níveis de umidade apresentaram menores teores de cera e molhabilidade (*wettability*) em relação às cultivadas em baixos níveis de umidade; Estas últimas apresentaram altos teores de cera e molhabilidade.

Além da influência da luminosidade, umidade e temperatura, a altitude também parece ser um fator capaz de influenciar as ceras cuticulares. Dodd e Poveda (2003) estudaram diferentes populações de *Juniperus communis* L. provenientes de diferentes localizações e notaram que além da temperatura e umidade, a altitude influenciou a composição das ceras; Tanto as maiores altitudes quanto as menores apresentaram ceras com cadeias carbônicas mais longas resultando em maior adaptabilidade às altas temperaturas de verão nas menores altitudes e a dessecação resultante do congelamento nas maiores altitudes. Guo e colaboradores (2016) também observaram variação nos teores de cera conforme a altitude. Já Salatino e colaboradores (1991), estudaram diferentes espécies de *Velloziaceae* coletadas em diferentes altitudes e notaram que o fator da altitude influenciou muito pouco ou nada a composição das ceras cuticulares.

Kosma e colaboradores (2010) observaram a partir de seus experimentos, que plantas de trigo (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) infestadas por larvas da espécie *Mayetiola destructor*, apresentaram variações cuticulares quanto a composição, permeabilidade e transcriptos em relação as plantas não predadas. Além disso, Varanda e colaboradores (1992), Salatino e colaboradores (1998) e Oliveira e Salatino (2000) apontam a influência da herbivoria como estimulante para maiores teores de triterpenos nas ceras cuticulares, que atuam como anti-herbivóricos.

Sase e colaboradores (1998) verificaram que as ceras cuticulares de *Cryptomeria japonica* D. Don coletadas em regiões urbanas e montanhosas apresentaram teores e composições de cera semelhantes. Entretanto, as espécies de áreas urbanas apresentaram ceras mais facilmente degradáveis, possivelmente devido a fatores poluentes antrópicos. As ceras mais degradáveis das plantas urbanas associadas ao fato de que nestas áreas há menores níveis de umidade e índices pluviométricos resultaram em cutículas menos eficientes em reter água, principalmente em plantas com idades superiores a um ano. Efeitos nocivos sobre a degradação das ceras por poluentes atmosféricos foram encontrados também por Viskary (1999).

Há muitos anos a relação entre as ceras e a ação de fatores intrínsecos e exógenos sobre suas características físico-químicas vêm sendo estudada. Entretanto, muitos dos estudos que mostram como essa relação ocorre são realizados com espécies modelos em ambiente controlado. Ainda não está completamente claro como o ambiente como um todo é capaz de interferir na composição química das ceras cuticulares nas diferentes espécies em seus ambientes naturais (Salatino et al., 1991; Bouzoubaâ et al., 2006; Carr ey al., 2014; Guo et al., 2015).

1.9 Caracterização das ceras cuticulares em Sapindales

Sapindales corresponde a uma grande e diversa ordem dentro de Magnoliphyta caracterizada por apresentar muitas espécies de importância econômica (Stevens, 2017). Ela é formada por um total de nove famílias (figura 27) e cerca de 6100 espécies divididas em 474 gêneros encontrados principalmente em zonas tropicais e temperadas por todo mundo (Muellner-Riehl et al., 2016).

Figura 27. Filogenia de Sapindales (adaptado de Muellner-Riehl et al., 2016).

Apesar de ser uma ordem muito grande e diversa, pouquíssimos estudos sobre as ceras cuticulares foram feitos com ela. Em um levantamento realizado sobre trabalhos com ceras cuticulares em Sapindales, utilizando os bancos de dados Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br/>) e *Web of Science* (apps.webofknowledge.com), aplicando como filtros a combinação da palavra chave *Wax* com as palavras Sapindales, Simaroubaceae, Meliaceae, Rutaceae, Sapindaceae, Burseraceae, Anacardiaceae, Kirkiaceae, Nitrariaceae, Bieberstieniaceae e citrus, buscando abranger ao máximo a ordem e seus gêneros, foram encontrados apenas 31 trabalhos no período de 1970 a 2017.

Do que se conhece sobre Sapindales atualmente, somente 5 famílias (de 9), 11 gêneros (de 474) e pouco mais que 40 espécies (de cerca de 6100) foram estudadas. Deste total, 25

trabalhos estudaram a composição química das ceras (tabela 2) e 6 estudaram apenas a morfologia das ceras epicuticulares (tabela 3).

De acordo com as tabelas 2 e 3, a família com mais espécies estudadas e com o maior número de trabalhos publicados foi Rutaceae, principalmente com *Citrus*. Um dos motivos para isto é a grande importância econômica que este gênero possui em diversos países, pois seus frutos são amplamente consumidos além de serem utilizados como matéria prima para a indústria de alimentos. Ao todo cerca de 24 espécies de rutáceas foram estudadas, pertencentes aos gêneros *Citrus*, *Polycarpus*, *Haplophyllum* e *Zanthoxylum*. O restante das famílias estudadas, Anacardiaceae (*Pistacia* e *Rhus*), Meliaceae (*Khaya* e *Swietenia*), Sapindaceae (*Acer* e *Litchi*) e Simaroubaceae (*Simarouba*) tiveram cerca de 16 espécies estudadas ao todo.

Diversas classes de substâncias foram encontradas nas ceras de Sapindales, como os (i) alcanos, majoritariamente ímpares, principalmente com séries homólogas entre 27 e 31 carbonos; (ii) aldeídos, que em alguns casos era a classe majoritária, apresentando principalmente os homólogos pares em torno de 28 carbonos; (iii) ácidos graxos, que apresentaram-se principalmente em série par com cadeias carbônicas maiores que 28 carbonos; (iv) álcoois primários e secundários, ambos encontrados em séries homólogas majoritariamente pares com cerca de 28 carbonos; (v) ésteres de cadeias longas; (vi) triterpenos, que em alguns casos encontraram-se como majoritários na cera, tendo o friedelanol como substância aparentemente característica nas espécies de *Citrus*; e (vii) esteroides, encontrados na maioria dos casos em quantidades pequenas.

Em relação a morfologia das ceras cuticulares em Sapindales, a maioria dos estudos mostrou a presença predominante de uma camada de cera amorfa, que pode apresentar vilosidades mais ou menos intensas, como em *Pistacia atlantica* Desf. (Belhadj et al., 2007), podendo ocorrer a presença menos abundante de ornamentações abobadadas, globulares ou laminadas, como em *Acer negundo* L. (Tomaszewski & Zielinski, 2014).

A partir destes dados, fica evidente a grande lacuna que há sobre o estudo da caracterização química das ceras cuticulares nas diferentes famílias de Sapindales. A maioria dos estudos nesta ordem são restritos a poquíssimos gêneros e tem como foco o estudo das ceras em frutos de interesse econômico. Outras famílias, como Simaroubaceae, foco de estudos atuais, não apresentam nenhum dado em relação a caracterização de suas ceras cuticulares.

Tabela 2. Caracterização química das ceras cuticulares em Sapindales. Fonte: Google Acadêmico e *Web of Science* entre 1970-2017.

FAMÍLIA	ESPÉCIE	ÓRGÃO VEGETAL	PRINCIPAIS CLASSES E SUBSTÂNCIAS ENCONTRADAS	REFERÊNCIA
Meliaceae	<i>Khaya anthotheca</i> (Welw.) C.DC.	Folhas	Folhas jovens: ALC (C25 ao C33, principalmente o C29 (45,9%) e C31 (34,7%)). Folhas velhas: ALC (27 ao C33, principalmente o C31 (63,8%) e C29 (29,5%)).	Faboya et al., 1980
	<i>Khaya ivorensis</i> A. Chev.	Folhas	Folhas jovens: ALC (C25 ao C33, principalmente o C29 (41,9%) e C31 (33,2%)). Folhas velhas: ALC (27 ao C33, principalmente o C31 (53,2%) e C29 (34,8%)).	Faboya et al., 1980
	<i>Khaya nyasica</i> (Welw.) C.DC.	Folhas	Folhas jovens: ALC (C27 ao C33, principalmente o C29 (68,3%) e C31 (20,3%)). Folhas velhas: ALC (27 ao C33, principalmente o C31 (49,4%) e C29 (30,8%)).	Faboya et al., 1980
	<i>Swietenia mahagone</i> (L.) Jacq.	Folhas	ALC (apenas homólogos ímpares do C25 ao C35, principalmente o C31, C29 e C33).	Bi et al., 2005
Rutaceae	<i>Citrus ssp</i>	Frutos	As classes encontradas nas diferentes espécies variaram de acordo com a metodologia utilizada. De modo geral foram encontrados ALC, alcenos, EST, CET, ALP, AGX e TRI. Estudo não voltado a composição e quantificação dos homólogos.	Schulman & Monselise, 1970
	<i>Citrus sp.</i> "Fortune Mandarin" de diferentes espécies e cultivares	Frutos	Não foram verificados os homólogos. A abundância relativa das classes detectadas foi: ALC > EST > CET > ALD > AGX > ALP > TRI.	Sala, 2000
	<i>Citrus aurantium</i> L.	Folhas	ALP (C24 ao C40, principalmente C34); EST (C36 ao C53, principalmente C43); ALC (C22 ao C44); ALD (C29 ao C38); TRI (friedelan-3-ona).	Reynhardt & Riederer, 1991
	<i>Citrus aurantium</i> L.	Folhas	ALC (C27 ao C33, principalmente C32 e C33); álcoois (C24 ao C36, principalmente C35 e C36); ésteres (C40 ao C56, principalmente C51, 52, 54 e 56).	Riederer & Schneider, 1989
	<i>Citrus deliciosa</i> Tenore cv. Willowleaf	Folhas e Frutos	Folhas: ALC (C27 ao C34, principalmente C33 e C31); ALP (C22 ao C34, principalmente C26, C32 e C24); ALD (C24 ao C34, principalmente C26, C24, C32 e C30) AGX (C16 ao C34, menos o C17, principalmente C32 e C34). Frutos: ALC (C23 ao C33, principalmente o C27 e C29); ALP (C22 ao C30, principalmente C28 e C26); ALD (C24 ao C30, principalmente C28, C26 e C24); AGX (C16 ao C28, menos o C17, principalmente C28).	Baker et al., 1975
	<i>Citrus halimii</i> Stone	Folhas	ALC (C19 ao C37, principalmente C31); EST (C46 a C54, além da presença de ésteres de ácido benzoico); AGX (C16 ao C30, principalmente C16 e C18, além da presença de C18:1 e C18:2); ALP (C24 ao C34, principalmente o C28 e C30); TRI (lupeona, friedalan-3-ona, lupeol, α e β -amirina); STD (colesterol, campesterol, estigmasterol e β -sitosterol).	Guelz et al., 1987
	<i>Citrus latifolia</i> Tanaka	Frutos	ALC (C31, C29 e C27; Alcenos: C30, C28 e C26).	Nordby & Nagy, 1977
	<i>Citrus limon</i> L.	Frutos	Não especifica as classes de substâncias encontradas, apenas relata que diferentes faixas foram encontradas na CCD.	Johann et al., 2007
	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. cv. Adamopoulou	Folhas e Frutos	Folhas: ALC (C27 ao C34, principalmente C33 e C31); ALP (C22 ao C32, principalmente C26 e C28); ALD (C24 ao C32, principalmente C26, C30 e C32); AGX (C16 ao C34, menos o C17, principalmente C32 e C34). Frutos: ALC (C22 ao C33, principalmente o C31 e C29); ALP (C22 ao C30, principalmente C24 e C26); ALD (C23 ao C32, principalmente C24, C30 e C26); AGX (C16 ao C34, menos o C17, principalmente C30 e C32).	Baker et al., 1975

Continua na página seguinte

<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Frutos	ALC (C23 ao C33, principalmente C28, um homólogo incomum encontrado como majoritário). Também foi encontrado esqualeno.	Nordby & McDonald, 1990
<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Vesículas de suco	Porcentagens relativas ao total de cera aproximada: AGX (33 a 42%); ALC (38 a 48%, com série homóloga do C21 ao C38, principalmente C23, C24 e C25); ALP (7 a 17%); ALS (7 a 9%).	Shomer et al., 1980
<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Frutos	As porcentagens relativas de cada substância variaram de acordo com os parâmetros utilizados, mas de modo geral: TRI > ALD > ALC > ALP.	McDonald et al., 1993
<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Frutos	ALC (C22 ao C35, principalmente o C31); AGX (C24 ao C32, menos o C25, principalmente o C32); ALD (C22 ao C34, principalmente o C26 e C32); ALP e ALS (C24 ao C30); TRI (majoritariamente fridelanol com outros em menores quantidades).	Nordby & McDonald, 1990
<i>Citrus paradisi</i> Macfad. cv. Duncan	Frutos	ALC (C31, C29 e C27); Alcenos (C30, C28 e C26).	Nordby & Nagy, 1977
<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Folhas e Frutos	Folhas: ALC (C27 ao C34, principalmente C33 e C31); ALP (C22 ao C34, principalmente C26, C32 e C24); ALD (C24 ao C34, principalmente C32, C34 e C30); AGX (C16 ao C34, menos o C17, principalmente C32 e C34). Frutos: ALC (C23 ao C33, principalmente o C31, C29 e C27); ALP (C22 ao C30, principalmente C28 e C26); ALD (C23 ao C30, principalmente C28, C26 e C24); AGX (C16 ao C32, menos C17, principalmente C28).	Baker et al., 1975
<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Frutos	Não especifica as classes de substâncias encontradas, apenas relata que diferentes faixas foram encontradas na CCD.	Johann et al., 2007
<i>Citrus reticulata</i> Blanco cv. Dancy	Frutos	ALC: C31, C29 e C27; Alcenos: C30, C28 e C26.	Nordby & Nagy, 1977
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Frutos	Não especifica as classes de substâncias encontradas, apenas relata que diferentes faixas foram encontradas na CCD.	Johann et al., 2007
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Frutos	A cera não teve seus constituintes separados neste estudo.	Cajuste et al., 2010
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Vesículas de suco	Porcentagens relativas ao total de cera aproximada: AGX (33 a 42%); ALC (38 a 48%, com série homóloga do C21 ao C38, principalmente C23, C24 e C25); ALP (7 a 17%); ALS (7 a 9%).	Shomer et al., 1980
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Frutos	ALD (C23 ao C33, principalmente o C26, C28 e C24); ALC (C22 ao C31; principalmente C31 e C29); AGX (C16 ao C34, principalmente C26, C28 e C24); ALP (C22 ao C31, principalmente C27, C26 e C25); TRI (fridelaniol 17%, lupeol 21%, α -amirina 8%, β -amirina 2,3% e Δ -amirina 2,3% da fração terpênica); STD (sitosterol 2,5% da fração terpênica).	Wang et al., 2014
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Frutos	Estudo não voltado a composição e quantificação dos homólogos.	Wang et al., 2016
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. com coloração susceptível	Frutos	Os valores variaram com a época de coleta, entretanto em novembro e dezembro: ALD > ALC > AGX > ALP > Terpenoides.	Sala et al., 1992
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. com coloração não susceptível	Frutos	Os valores variaram com o tempo, entretanto em novembro e dezembro: ALD > ALC > Terpenoides > ALP > AGX.	Sala et al., 1992
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Frost Valencia	Folhas e Frutos	Folhas: ALC (C27 ao C33, principalmente C31 e C33); ALP (C22 ao C34, principalmente C26, C32 e C28); ALD (C24 ao C34, principalmente C30, C32 e C34); AGX (C16 ao C34, menos o C17, principalmente C32 e C34). Frutos: ALC (C23 ao C33, principalmente o C31, C29 e C27); ALP (C22 ao C30, principalmente C26, C28 e C24); ALD (C24 ao C32, principalmente C28 e C26); AGX (C16 ao C34, menos o C17, principalmente C28 e C26).	Baker et al., 1975

Continua na página seguinte

<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Jaffa	Vesículas de suco	Porcentagens relativas ao total de cera aproximada: AGX (33 a 42%); ALC (38 a 48%, com série homóloga do C21 ao C38, principalmente C23, C24 e C25); ALP (7 a 17%); ALS (7 a 9%).	Shomer et al., 1980
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Midsweet	Frutos	ALC (C31, C29 e C27); Alcenos (C30, C28 e C26).	Nordby & Nagy, 1977
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Newhall	Frutos	Ceras epicuticulares: AGX (maior abundância entre o C24 ao C34); ALP (Maior abundância entre o C25 ao C33); ALC (C22 ao C34); TRI (fridelan-2-ona). Ceras intracuticulares: TRI (fridelan-2-ona > β -amirina > lupeol acetato); STD (β -sitosterol); ALC (C22 ao C34); AGX (C14 ao C34, apenas com ausência do C19 e em maiores quantidades foram o C26, C28 e C30); ALP (principalmente o C26, C27, C30 e C33); AGX insaturados (baixas quantidades de C18:1, C18:2 e C20:1).	Liu et al., 2015
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Newhall (selvagem)	Frutos	ALD (C22 ao C30, com predominância dos homólogos pares); ALC (C31, C29, C27 e C25); TRI (α e β -amirina, lupeol acetato e friedelanol); AGX (C14, C16 e C24 saturados e C30 insaturado); ALP (C25); STE (Colesterol).	Liu et al., 2012
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Newhall (cultivado)	Frutos	ALD (C24, C28 e C30); ALC (C25, C27, C28 e C31); TRI (α e β -amirina, lupeol acetato e friedelanol); AGX (C14, C16 e C24 saturados e C30 insaturado); ALP (C25); STE (Colesterol).	Liu et al., 2012
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Valencia	Vesículas de suco	Porcentagens relativas ao total de cera aproximada: AGX (33 a 42%); ALC (38 a 48%, com série homóloga do C21 ao C38, principalmente C23, C24 e C25); ALP (7 a 17%); ALS (7 a 9%).	Shomer et al., 1980
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Valencia	Frutos	ALC (C31, C29 e C27); Alcenos (C30, C28 e C26).	Nordby & Nagy, 1977
<i>Citrus unshiu</i> Marc	Frutos	Os valores variaram com a época de coleta, entretanto em novembro e dezembro: AGX > ALC > ALD > ALP > Terpenoides.	Sala et al., 1992
<i>Citrus unshiu</i> Marc	Frutos	ALD (C23 ao C33, principalmente o C28); ALC (C22 ao C31; principalmente C29); AGX (C16 ao C34, principalmente C28); ALP (C22 ao C31, principalmente C28); TRI (fridelanol 28,5%, lupeol 21,7%, α -amirina 15,5%, β -amirina 17,7%, Δ -amirina 5,3% e sitosterol da fração terpênica); STD (diidrolanosterol 5%, cicloartanol 2% e campesterol 1% da fração terpênica).	Wang et al., 2014
<i>Policarpus</i> ssp (11 espécies diferentes)	Folhas	ALC (C21 ao C33, principalmente o C29 e C31). No taxa <i>P. jaborandi</i> também foi encontrado altas quantidades de 1-fenil-5-vinil, 5,9-dimetil decano.	Skorupa et al., 1998
<i>Polucarpus Jaborandi</i> Holmes (selvagem)	Folhas	Dentre outras substâncias não descritas neste trabalho, o 1-fenil-5-vinil-5,9-dimetil decano foi encontrado em porcentagem relativa de 71% da fração de hidrocarbonetos.	Negri et al., 1998
<i>Polucarpus Jaborandi</i> Holmes (cultivado)	Folhas	Dentre outras substâncias não descritas neste trabalho, o 1-fenil-5-vinil-5,9-dimetil decano foi encontrado em porcentagem relativa de 22% da fração de hidrocarbonetos.	Negri et al., 1998
<i>Zanthoxylum tingoassuiba</i> A.St.-hil.	Folhas	ALC (C27 ao C35); Terpenoides (acetato de β -amirina, amirinona e lupeol); Cumarina (xantotoxina e isopimpinellina).	Dias-Leme et al., 2013
Sapindaceae <i>Litchi chinensis</i> Sonn.	Folhas	ALC (C16 a C35, principalmente C31, C27, C29 e C33, além de alcanos ramificados).	Samanta et al., 2013
Simaroubaceae <i>Simarouba amara</i> Aubl.	Folhas	Estudo não específico de ceras, entretanto algumas das substâncias encontradas, como ésteres de cadeia longa (C30 ao C50) são comumente atribuídos às ceras cuticulares.	Siqueira et al., 2003

ALC: alcanos; **ALP:** Álcoois primários; **ALS:** Álcoois secundários; **AGX:** ácidos graxos; **TRI:** triterpenos; **STD:** esteroides; **EST:** ésteres. **CCD:** cromatografia em camada delgada.

Tabela 3. Caracterização morfológica das ceras epicuticulares em Sapindales.

FAMÍLIA	ESPÉCIE	ÓRGÃO VEGETAL	PRINCIPAIS MORFOLOGIAS ENCONTRADAS	REFERÊNCIA
Anacardiaceae	<i>Rhus cotinus artropurpurea</i>	Folhas	Predominância de ornamentação do tipo lâmina.	Jeffree et al., 1975
	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.	Folhas	Foram encontradas morfologias amorfas com diferentes graus de vilosidade.	Belhadj et al., 2007
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> L. cv. Adamopoulou	Folhas	Predominância de cera amorfa.	Jeffree et al., 1975
	<i>Citrus limon</i> L. cv. Adamopoulou	Folhas	Predominância de cera amorfa.	
	<i>Citrus paradisi</i> Macf. cv. Marsh seedless	Vesículas de suco	Camada de cera contínua com protrusões globulares.	Fahn et al., 1973
	<i>Citrus sienensis</i> Osbeck cv. Shamouti	Vesículas de suco	Cobertura de cera formada por diferentes camadas.	
	<i>Citrus sienensis</i> Osbeck cv. Valencia	Vesículas de suco	Cobertura de cera formada por diferentes camadas.	Al-Khatib & Al-Eisawi, 2015
	<i>Haplophyllum blanchi</i> Boiss	Folhas	Predominância de cera amorfa rugosa com laminações.	
	<i>Haplophyllum buxbaumii</i> (Poir.) G.Don.Fil	Folhas	Predominância de cera amorfa levemente rugosa.	
	<i>Haplophyllum poorei</i> C.C.Twonsend	Folhas	Predominância de cera amorfa rugosa com laminações.	
Sapindaceae	<i>Haplophyllum tuberculatum</i> (Forssk.) AD.Juss	Folhas	Predominância de cera amorfa rugosa com laminações.	Tomaszewski & Zielinski, 2014
	<i>Acer negundo</i> L.	Galhos	Predominância de lâminas, bastões e túbulos.	
	<i>Acer rufigerum</i> Siebold & Zucc.	Galhos	Predominância de bastonetes e filamentos.	Mohtashamian et al., 2017
	<i>Acer ssp.</i> (total de 8 espécies)	Folhas	Cera amorfa com ornamentos abobadados e estriados.	

1.10 Caracterização geral de Simaroubaceae

Simaroubaceae compreende 22 gêneros e mais de 100 espécies de angiospermas arbóreas ou arbustivas de distribuição pantropical (figura 28), podendo ocorrer também em climas subtropicais e mais raramente, em climas temperados (Clayton, 2011). No Brasil são encontrados sete gêneros e 32 espécies, destas 17 são endêmicas (Flora do Brasil 2020, 2018).

Figura 28. Distribuição geográfica atual de Simaroubaceae (zonas coloridas) e representantes fósseis (símbolos geométricos) (Clayton et al., 2009); N: região da América do Norte e Central, S: América do Sul; F: África; M: Madagascar; E: Europa; A: Ásia; U: Oceania.

A monofilia desta família é apoiada por caracteres moleculares, morfológicos e químicos, estes últimos caracterizados por serem substâncias amargas denominadas de quassinoides (Judd, 2008). Estas substâncias amargas podem ser encontradas nas diferentes espécies de Simaroubaceae em suas cascas, folhas, raízes e sementes (Cavalcante, 1983).

Os relatos de substâncias amargas nas simaroubáceas datam de aproximadamente 200 anos atrás, porém os primeiros quassinoides foram isolados e identificados apenas em 1961 e foram nomeados de quassina e neoquassina (Valenta et al., 1961). Em 1970, com o reconhecimento do *American National Cancer Institute* de que alguns quassinoides tinham propriedades anti-leucêmicas, houve um aumento no número de estudos da diversidade química e bioatividade em Simaroubaceae voltado a estas substâncias (Polonsky, 1985).

Além dos quassinoides, outras substâncias pertencentes, por exemplo, a classe dos triterpenos, esteroides, alcaloides e flavonoides já foram isoladas e identificadas em diferentes órgãos vegetais de representantes desta família (Alves et al., 2014). Entretanto, apesar de Simaroubaceae apresentar grande diversidade química, muitos estudos têm como foco os quassinoides.

Quimicamente os quassinoides são considerados como triterpenos modificados, caracterizados pela perda de vários carbonos da estrutura triterpênica original (com trinta carbonos). Eles são derivados a partir dos triterpenos tetracíclicos eufol e tirucalol (estéreo isômero pelo hidrogênio do carbono 20), entretanto a biossíntese completa deles ainda não está esclarecida (figura 29). Eles podem apresentar 25, 22, 20, 19 ou 18 carbonos em sua estrutura, sendo que a estrutura mais comum é com 20 carbonos. São moléculas altamente oxigenadas de estrutura complexa (Polonsky, 1985; Guo et al., 2005; Vieira & Braz-Filho, 2006).

Figura 29. Biogênese dos quassinoides (baseado no Dewick, 2002; Vieira & Braz-Filho, 2006).

Vários quassinoides diferentes já foram isolados e tiveram seu potencial biológico avaliado. Almeida e colaboradores (2007) realizaram uma revisão bastante grande reunindo uma série de atividades biológicas encontradas para diferentes quassinoides, como antitumoral, antimalárica, fitotóxica, antiparasitária, fago-inibidora e inseticida (figura 30).

Dentre as utilizações descritas para as espécies de Simaroubaceae, pode-se citar o cultivo para uso ornamental e uso da madeira. Porém sua grande importância está em seu uso medicinal (Cavalcante, 1983; Judd, 2008). Uma revisão feita por Randau e colaboradores (2014) apontou a grande importância etnofarmacológica desta família, visto que várias de suas espécies são usadas na medicina popular por pessoas de vários países. Muitos gêneros são usados como antimaláricos, antitumorais, para o tratamento de viroses, gastrite, úlcera, inflamações, diarreia, entre outras (Randau et al., 2014).

Figura 30. Exemplos de quassinoides bioativos (Almeida et al., 2007). A orinocinolida, extraída da *Simaba orinocensis*, apresentou atividade citotóxica e antimalárica; a cedronolactona A extraída de *Simaba cedron* demonstrou ter atividade antileucêmica; a chaparrinona extraída de *Quassia* sp. aff. *bidwillii* apresentou atividade fitotóxica.

1.11 Recente divisão de *Simaba* sensu lato em *Simaba* sensu stricto e *Homalolepis*

O gênero *Simaba* Aubl. sensu lato, por muito tempo, foi considerado monofilético, caracterizado por ser o maior dentro de Simaroubaceae, com cerca de 25 espécies descritas de distribuição majoritariamente Sul-americana (Clayton, 2011). Entretanto, estudos vêm contestando esta monofilia e as relações filogenéticas em *Simaba* s.l.

Desde 1874 estudos vêm sendo realizados com o gênero para melhor entendê-lo. Os primeiros estudos realizados, baseados principalmente no tamanho das flores, dividiram *Simaba* em três seções distintas, (i) *Simaba* sect. *Tenuiflorae*, (ii) *S.* sect. *Floribundae* e (iii) *S.* sect. *Grandiflorae* (Engler, 1874; Cronquist 1944). Entretanto, estudos posteriores realizados por Clayton e colaboradores (2007), com dados moleculares, refizeram a filogenia do grupo e obtiveram um baixo suporte a monofilia de *Simaba*. Além disso, como resultado desta análise dois subclados emergiram dentro de *Simaba*; um subclado monofilético, correspondente a *Simaba* sect. *Tenuiflorae*, caracterizado por apresentar indivíduos com flores pequenas (pétalas entre 4 a 7mm de comprimento) de distribuição majoritariamente Amazônica; e outro subclado parafilético, compreendendo espécies das seções *S.* sect. *Floribundae* e *S.* sect. *Grandiflorae* misturadas, caracterizado por apresentar flores maiores (pétalas com 7,5 a 35mm de comprimento) e distribuição principalmente na região extra-Amazônica brasileira e Paraguai.

Devecchi e colaboradores (2017) recentemente publicaram uma nova filogenia do gênero, baseada em dados moleculares de cinco regiões (nucleares e plastidiais) e uma amostragem quase completa de *Simaba* s.l. e de gêneros relacionados. Como resultado desta análise, *Simaba* emergiu como parafilético. As topologias obtidas neste estudo novamente apontam para a formação de dois clados: um majoritariamente Amazônico, contendo as espécies da seção *Tenuiflorae* e outro majoritariamente extra-Amazônico, contendo as

espécies das seções Grandiflorae e Floribundae. Além disso, os resultados também mostram que o clado extra-Amazônico é mais próximo a *Simarouba* que a *Simaba* (figura 31).

Figura 31. Filogenia de *Simaba* e *Homalolepis* (adaptado de Devecchi, 2017). Nomes em vermelho indicam espécies ainda não resolvidas, surgindo em diferentes clados. Elas se encontram acompanhadas de suas regiões de coleta.

Tais resultados sustentam *Simaba* como um grupo parafilético, com a emersão de três clados fortemente sustentados. A fim de restaurar o gênero como monofilético foi proposto a sua divisão. As espécies majoritariamente amazônicas, correspondentes à seção Tenuiflorae, compõem *Simaba* sensu stricto, já as espécies majoritariamente extra-Amazônicas, pertencentes às seções Floribundae e Grandiflorae, foram transferidas para o gênero recém reestabelecido *Homalolepis* Turcz. (Devecchi et al., 2017).

Homalolepis não é um gênero novo, ele foi descrito inicialmente por Turczaninow (1848), o qual inseriu uma única espécie, *Homalolepis blanchetii* Turcz. Dez anos depois, ele próprio transferiu a espécie para *Simaba* sect. Floribundae com base em evidências morfológicas disponíveis na época. Atualmente *H. blanchetii* Turcz. é reconhecido como sinônimo de *H. ferruginea* (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani. Entretanto, a partir dos novos dados moleculares e das novas descobertas morfológicas, *Homalolepis* voltou a ser reconhecido

como um gênero a parte. Ele foi reestabelecido para comportar as espécies de *Simaba* que emergiram no clado formado pelas espécies extra-amazônicas pertencentes às seções *Floribundae* e *Grandiflorae* (Devecchi, 2017; Devecchi et al., 2017).

De acordo com esta nova filogenia de Devecchi e colaboradores (2017), *Homalolepis* Turcz. emerge como grupo irmão de *Simarouba* Aubl., e *Simaba* Aubl. como grupo irmão do clado formado por *Homalolepis* e *Simarouba*. O reconhecimento de três gêneros distintos também é suportado por evidências morfológicas. As espécies de *Simaba* s.s. podem ser distinguidas das espécies de *Homalolepis* e também de *Simarouba*, por possuir folhas e flores menores. Além disso, *Homalolepis* possui pétalas diferenciadas em relação à *Simaba*, elas não possuem apêndices na parte adaxial e são lisas com a presença de tricomas lisos e pontiagudos. *Homalolepis* também possui frutos com o pericarpo e o mesocarpo diferenciados. *Simarouba* pode ser distinguido de *Homalolepis* pela ausência de flores bissexuadas e por outras diferenças encontradas nos estigmas e folíolos (Devecchi et al., 2017).

A partir deste estudo, uma nova circunscrição para *Simaba* s.s. e *Homalolepis* foram apresentadas. Atualmente *Simaba* s.s. é composto por 10 espécies distribuídas principalmente na região Amazônica e *Homalolepis* é composto por 28 espécies distribuídas principalmente na região extra-Amazônica (figura 32).

Figura 32. Distribuições de *Simaba* s.s. e *Homalolepis* (modificado de Devecchi, 2017). **A:** distribuição de *Simaba* em que os quadrados azuis representam locais de coletas, sendo possível observar uma maior concentração dos indivíduos na região Amazônica. **B:** distribuição de *Homalolepis*, que se encontra dividida em três centros de diversidade, indicados pelas zonas coloridas e acompanhadas de uma numeração que significa total de espécies/número de espécies restritas à área.

1.12 Caracterização e plasticidade em *Simaba* s.s. e *Homalolepis*

Simaba s.s. e *Homalolepis* somam ao todo cerca de 40 espécies de distribuição Sul-americana, com raras espécies que ocorrem também na América Central, por exemplo, a *H. cedron* (Planch.) Devecchi & Pirani, que se estende da América do Sul para o México e a *S. sp.nov. "panamensis"* Devecchi & Pirani, endêmica do Panamá e sul da América Central (Devecchi, 2017). O Brasil detém a maior concentração de espécies de *Simaba* e *homalolepis*, com apenas algumas que ainda não foram descritas em território nacional, como a *S. sp.nov. "panamensis"* e a *H. praecox* (Hasssl.) Devecchi & Pirani, encontrada apenas no Paraguai e Bolívia (Devecchi, 2017).

Estes dois gêneros mostraram-se bastante plásticos quanto a seu hábito de vida e morfologia de suas folhas, flores e frutos. Podem apresentar hábito arbóreo (até 30 metros) com troncos e caules ramificados ou em forma de palmeira, arbustivo e subarbustivo com caule subterrâneo (figura 33A a E) (Cavalcante, 1983; Clayton, 2011). Suas folhas são, na maioria dos casos, compostas e pinadas, com os folíolos opostos (figura 33F). Na região apical dos folíolos encontram-se glândulas bem semelhantes a nectários (figura 33H). As folhas das espécies de matas são cartáceas, já as de formações abertas coriáceas. As inflorescências em geral são em tirso ou tirsoide (figura 33C), com flores unissexuadas ou bissexuadas (33G). Os frutos são esquizocárpicos, possuindo apenas uma semente (figura 33I) (Cavalcante, 1983; Devecchi, 2017).

No Brasil estes gêneros podem ser encontrados em todos os estados, com exceção dos estados do Sul, mostrando distribuição geográfica bastante ampla. Eles também estão presentes em diferentes biomas brasileiros em diversas formações vegetacionais, desde a caatinga, como a mata de carrasco que é seca e muito quente, até florestas permanentemente alagadas, como as matas de Igapós (figura 33J) (Flora do Brasil 2020, 2017).

Figura 33. Plasticidade encontrada em *Simaba* s.s. e *Homalolepis* (imagens retiradas de Devecchi, 2017). **A:** *H. paraenses* (Ducke) Devecchi & Pirani de hábito arbóreo com tronco ramificado; **B:** *H. cedron* de hábito arbóreo com tronco em forma de palmeira; **C:** *H. trichilioides* (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani de hábito arbustivo com caule em forma de palmeira, apresentando ramo de inflorescência paniculada; **D:** *H. ferruginea* (St.-Hil.) Devecchi & Pirani de hábito arbustivo com tronco ramificado; **E e F:** *H. suffruticosa* (Engl.) Devecchi & Pirani de hábito subarborescente com caule subterrâneo escavado e não escavado; **G:** ramo de inflorescência de *S. obovata* Spruce; **H:** glândula apical em folha jovem de *H. trichilioides*; **I:** semente de *S. obovata*; **J:** indivíduo de *S. obovata* habitando uma região de várzea.

Algumas espécies destes gêneros apresentam uma distribuição mais restrita a determinados ambientes, como a *H. arenaria* Devecchi & Pirani, encontrada apenas na restinga e dunas da região litorânea da Bahia e Sergipe (Devecchi et al., 2016). Já outras, como a *H. cedron*, encontram-se amplamente distribuída pelo país, sendo encontrada em diferentes biomas e formações vegetacionais (Devecchi et al., 2017). Além disso, algumas espécies são endêmicas e encontram-se restritas a pequenas regiões, como a *H. tocantina* Devecchi & Pirani, encontrada apenas em uma região do Jalapão (figura 34) (Devecchi & Pirani, 2015) e a

H. pumila Devecchi & Pirani encontrada apenas na região do Parque das Emas em Goiás (Devecchi et al., 2018).

Figura 34. Distribuição geográfica da *Homalolepis cedron* e *H. tocatina*. **A:** distribuição geográfica da *H. cedron*, que se estende desde a região Atlântica até o sul do México, sendo a espécie com uma das maiores distribuições geográficas dentro de *homalolepis* (modificado de Devecchi et al., 2017); **B:** distribuição geográfica da *H. tocatina*, que é endêmica da região do Jalapão – TO; triângulos pretos representam coordenadas de coleta (modificado de Devecchi & Pirani, 2015).

Dentre os usos descritos para *Simaba* s.s. e *Homalolepis* pode-se citar o aproveitamento da madeira e uso medicinal. O uso da madeira se encontra restrito a poucas espécies (*S. guianensis* Aubl., *S. multiflora* A. Juss. e *H. paraenses* (Ducke) Devecchi & Pirani, que apresentam uma madeira mais mole acessível para ser usada em construções locais, não sendo usadas como madeira comercial. Entretanto seu uso na medicina popular recebe maior destaque, principalmente para o tratamento de malária (Cavalcante, 1983).

Desde 1930 mais de 100 substâncias foram isoladas em espécies de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*, principalmente pertencentes aos quassinoides e alcaloides, mas também a outras classes como cumarinas, triterpenos, esteroides, vitaminas, entre outras (Barbosa et al., 2011). Estudos voltados para os quassinoides presentes em espécies destes gêneros demonstraram algumas atividades biológicas como ação antimalárica – *H. cedron* (Moretti et al., 1994), *S. guianensis* (McChesney et al., 1993), *S. orinocensis* Kunth (Muhammad et al., 2004) e anticâncer – *S. multiflora* (Polonsky et al., 1986).

Apesar de décadas de estudos químicos com estes dois gêneros, poucas espécies foram estudadas. Além disso, o foco das pesquisas encontra-se na caracterização química de substâncias bioativas (Alves et al., 2014). Não foram encontrados dados sobre a composição, morfologia e ecologia das ceras cuticulares em espécies de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*.

2. JUSTIFICATIVA

A revisão de *Simaba* “sensu lato” foi o tema de doutorado do Dr. Marcelo F. Devecchi, orientado pelo Prof. Dr. José R. Pirani (Departamento de Botânica, IB-USP), que obteve como resultado principal a confirmação do parafiletismo do gênero e como consequência a proposição de uma nova classificação. Entretanto, nem todas as espécies encontram-se resolvidas nas topologias obtidas, como por exemplo, a *H. cedron* e *H. trichilioides*. Como foi apresentado na introdução, as ceras cuticulares podem, em alguns casos, ter potencial quimiotaxonômico, seja em relação à sua composição química ou morfologia das ceras epicuticulares. Deste modo, acreditamos que o estudo das ceras de *Simaba s. s.* e *Homalolepis* pode trazer contribuições úteis na continuidade dos estudos com esses taxa. Além disso, existem poucos estudos químicos e ecológicos voltados a estes dois gêneros. Dentre os estudos químicos realizados, a grande maioria é destinada a análise da composição, estrutura e toxicidade dos quassinoides ou de outras substâncias bioativas (Polonsky, 1973; Polonsky et al., 1986; Vieira et al., 2005; Saraiva et al., 2006; Rodrigues et al., 2008; Nunomura et al., 2012). Não há na literatura um estudo fitoquímico com enfoque ecológico e adaptativo voltado para a análise da composição e morfologia das ceras cuticulares das espécies destes gêneros.

Outro ponto interessante, o Brasil detém a maior concentração de espécies de *Simaba* e *Homalolepis* (Devecchi et al., 2017). Elas se encontram distribuídas em diferentes biomas com características ambientais distintas, mostrando que o gênero possui grande plasticidade fenotípica e adaptativa. Na literatura há diversos trabalhos que demonstram que alguns fatores ambientais podem influenciar a composição química das ceras, como a luminosidade, temperatura e umidade. Entretanto, muito destes estudos utilizam plantas modelos, como a *Arapdopsis thaliana*, ou plantas cultivadas como objeto de estudo (Riederer & Schneider, 1990; Shepherd et al., 1995; Kosma et al., 2009; Le Provost et al., 2013). Não são muitos os estudos que relacionam a química das ceras cuticulares com o ambiente em espécies selvagens (Salatino et al., 1991; Guo et al., 2015). Deste modo, visto a plasticidade que há nestes dois gêneros em relação a seus ambientes naturais e que estudos mostram que o ambiente muitas vezes pode influenciar nas ceras cuticulares, verificar possíveis relações das ceras destas espécies selvagens com o domínio as quais foram coletadas pode contribuir com o entendimento do papel desta camada para o sucesso das plantas no seu ambiente natural.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Diante destas questões, o principal objetivo deste trabalho foi analisar as ceras foliares de espécies selvagens nativas de *Simaba* Aubl. e *Homalolepis* (Turcz.) Devecchi & Pirani (Simaroubaceae) provenientes de diferentes localidades e domínios morfoclimáticos.

3.2 Objetivos específicos

Dentre os objetivos específicos estavam:

- (i) Extrair as ceras cuticulares de folhas de indivíduos de diferentes espécies de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*;
- (ii) Analisar a morfologia das ceras epicuticulares de alguns indivíduos de espécies destes dois gêneros;
- (iii) Analisar qualitativamente e quantitativamente a cera destes indivíduos;
- (iv) Verificar eventuais diferenças e similaridades entre os gêneros estudados e entre grupos próximos;
- (v) Se possível, correlacionar a composição e a morfologia das ceras com os domínios de coleta.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta do material botânico

Foram coletadas folhas de 119 indivíduos de um total de 27 espécies dos gêneros *Simaba* Aubl. e *Homalolepis* (Turcz.) Devecchi & Pirani, além dos grupos próximos *Simarouba* Aubl. e *Quassia* L. As coletas foram realizadas em diferentes regiões e estados brasileiros, principalmente entre os anos de 2013 a 2017 pelo Dr. Marcelo F. Devecchi (IB-USP) e pelo Prof. Dr. José R. Pirani (IB-USP) (figura 35). Os indivíduos foram identificados e exemplares de testemunho foram depositados no Herbário SPF da Universidade de São Paulo (Tabela i, Anexos). Partes das folhas destes indivíduos foram destinadas a metodologia de extração das ceras e parte para a metodologia de microscopia eletrônica de varredura (tabela 4).

4.2 Preparo das folhas para a extração das ceras, processo de extração e cálculo de teor total

Após as coletas, as folhas dos indivíduos destinados a extração de cera (lista detalhada na tabela i, Anexos) foram secas em estufa a cerca de 40°C por cinco dias, ficando armazenadas até o momento das extrações em sala com umidade controlada. Para as extrações de cera foram escolhidas de 5 a 10 folhas de cada indivíduo que estivessem completamente expandidas e com o mínimo de injúrias possível. Estas folhas foram digitalizadas e tiveram sua área foliar calculada pelo software ImageJ 1.49v. O valor da área foliar obtida para cada indivíduo foi multiplicado por dois para que tanto a superfície abaxial quanto a adaxial fossem consideradas, obtendo-se a área foliar total (em cm²).

Após as medições da área foi realizado o processo de extração de cera cuticular. Para isto, todas as vidrarias e materiais utilizados foram previamente lavados com diclorometano por no mínimo três vezes. As folhas de cada indivíduo tiveram sua cera cuticular extraída através de três imersões consecutivas em diclorometano, sendo a primeira por 30 segundos e as restantes por 20 segundos (modificado de Fernandes, 1964). Os extratos obtidos foram filtrados e em seguida concentrados em rota evaporador (com banho-maria a 50°C) até que todo solvente fosse evaporado. O balão contendo a cera concentrada foi lavado por no mínimo três vezes com diclorometano e a solução concentrada de cera foi transferida para frascos com massa conhecida. Estes frascos foram levados para banho-maria a 60°C até que o solvente fosse evaporado e em seguida foram deixados em dessecador até que atingissem massa constante.

Figura 35. Distribuição geográfica dos indivíduos coletados. Mapa construído a partir das coordenadas geográficas de cada indivíduo através do software QuantumGis 2.16.2.

Tabela 4. Lista resumida dos indivíduos coletados para as metodologias de extração de cera e microscopia eletrônica de varredura.

EXTRAÇÃO DE CERA		MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	
ESPÉCIE	QTD.*	ESPÉCIE	QTD.*
<i>Homalolepis arenaria</i> Devecchi & Pirani	2	<i>Homalolepis arenaria</i> Devecchi & Pirani	1
<i>H. bahiensis</i> (Moric.) Devecchi & Pirani	1	<i>H. cedron</i> (Planch.) Devecchi & Pirani	3
<i>H. cedron</i> (Planch.) Devecchi & Pirani	7	<i>H. cuneata</i> (A.St.-Hil. & Tul.) Devecchi & Pirani	2
<i>H. cuneata</i> (A.St.-Hil. & Tul.) Devecchi & Pirani	6	<i>H. ferruginea</i> (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani	2
<i>H. ferruginea</i> (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani	5	<i>H. floribunda</i> (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani	1
<i>H. floribunda</i> (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani	5	<i>H. glabra</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	2
<i>H. glabra</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	4	<i>H. planaltina</i> Devecchi & Pirani	2
<i>H. insignis</i> (A.St.-Hil. & Tul.) Devecchi & Pirani	4	<i>H. pohliana</i> (Boas) Devecchi & Pirani	2
<i>H. intermedia</i> (Mansf.) Devecchi & Pirani	2	<i>H. pumila</i> Devecchi & Pirani	2
<i>H. paraensis</i> (Ducke) Devecchi & Pirani	2	<i>H. salubris</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	4
<i>H. planaltina</i> Devecchi & Pirani	9	<i>H. sp.nov. "rigida"</i> Devecchi & Pirani	1
<i>H. pohliana</i> (Boas) Devecchi & Pirani	3	<i>H. suffruticosa</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	4
<i>H. pumila</i> Devecchi & Pirani	4	<i>H. tocantina</i> Devecchi & Pirani	1
<i>H. salubris</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	5	<i>H. trichilioides</i> (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani	2
<i>H. sp.nov. "rigida"</i> Devecchi & Pirani	3	<i>H. warmingiana</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	2
<i>H. subcymosa</i> (A.St.-Hil. & Tul.) Devecchi & Pirani	2	<i>Simarouba amara</i> Aubl.	1
<i>H. suffruticosa</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	17	<i>Simarouba versicolor</i> A.St.-Hil.	1
<i>H. tocantina</i> Devecchi & Pirani	1		33
<i>H. trichilioides</i> (A.St.-Hil.) Devecchi & Pirani	9		
<i>H. warmingiana</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	9		
<i>Simaba guianensis</i> Aubl.	3		
<i>S. obovata</i> Spruce ex. Engler	2		
<i>S. orinocensis</i> Kunth.	2		
<i>S. polyphylla</i> (Cavalcante) W.W. Thomas	1		
<i>Quassia amara</i> L.	1		
<i>Simarouba amara</i> Aubl.	3		
<i>Simarouba versicolor</i> A.St.-Hil.	3		
	115		

*A coluna à esquerda corresponde ao número de indivíduos coletados para cada espécie e a da direita corresponde ao total de espécies coletadas do gênero com a soma dos indivíduos entre parênteses.

A partir da diferença de massa entre o frasco com cera e vazio, foi obtido o valor da quantidade de massa total de cera extraída (em μg) de um indivíduo. O teor total de cera de cada indivíduo foi obtido pela razão entre a massa total de cera e a área total foliar, sendo expresso em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

4.3 Análise dos componentes de cera

Após as amostras terem sido pesadas, elas foram preparadas para a análise em cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas. Para isto, elas foram ressuspensas em diclorometano e foram preparadas alíquotas com aproximadamente 1000 μg de massa de cera.

As alíquotas preparadas foram secas em banho-maria e após a secagem foram derivatizadas com solução de 50:50 μL de N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) : piridina, seguido de aquecimento a 80°C por 40 minutos em banho seco (modificado de Jetter

et al., 2000). Muitas substâncias que podem estar presente nas ceras possuem grupos funcionais bastante polares, como por exemplo, as funções álcool e ácido carboxílico. Tais funções orgânicas levam a formação de fortes forças intermoleculares que resultam em uma maior dificuldade de volatilização destas substâncias, condição necessária para as análises em cromatógrafo a gás. O processo de derivatização por meio do BSTFA, substitui o hidrogênio presente nestas funções por um grupo trimetilsilil $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]$, formando os chamados derivados trimetilsililados. Estes derivados sililados possuem polaridades menores que suas substâncias precursoras e também menores pontos de volatilização, adequando estas substâncias às análises cromatográficas a gás (Bonato, 2006).

Terminada a derivatização, as alíquotas foram injetadas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM). Foi utilizado o conjunto Agilent 6850/Agilent 5975C, coluna Agilent HP5-MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm), volume de injeção 1 μL , gás de arraste hélio com fluxo de 1mL/min com método de impacto eletrônico em 70 eV. A temperatura do injetor foi de 300°C e a rampa de aquecimento da coluna seguiu a seguinte programação: temperatura inicial de 100°C por 5 minutos seguido de aquecimento de 5°C por minuto até 320°C (temperatura final), mantida por 8 minutos. O tempo total de análise foi de 57 minutos. O software de análise foi configurado, para a maioria dos indivíduos, com *threshold* 16,0 e *initial peak* 0,03. O início das integrações dos cromatogramas para as análises foi a partir de 12 min de corrida.

A identificação dos espectros de massas resultantes de cada cromatograma se deu através de dados da literatura, por exemplo, Kinghts, 1967; Rao & Perkins, 1972; Guelz et al., 1987; Noronha, 2001; Andrási et al., 2011; Pimentel, 2014, da biblioteca digital NIST (versão 2.0, 2008), do tempo de retenção com substâncias padrão e por meio do padrão de fragmentação de determinadas classes de substâncias.

4.4 Identificação das substâncias por padrão de fragmentação

Na CG-EM, após as substâncias serem separadas durante a cromatografia a gás, elas passam através do espectrômetro de massas por impacto eletrônico, onde ocorre a ionização das moléculas da amostra através do bombardeamento de elétrons. Os elétrons emitidos pelo feixe eletrônico do aparelho, através de repulsão magnética, retiram um elétron das moléculas da amostra, ionizando-as. A ionização destas moléculas leva a uma instabilidade intramolecular, acarretando na sua fragmentação. Diversos fragmentos são formados neste processo, entretanto somente os fragmentos catiônicos são detectados pelo detector do espectrômetro. Estes fragmentos são ordenados por um campo magnético de acordo com sua

relação de massa/carga (m/z) e o número dos diferentes cátions formados é detectado originando os espectros de massas (Silverstein & Webster, 2000).

Nas substâncias orgânicas, as moléculas muitas vezes são fragmentadas de maneira ordenada. São conhecidos diferentes clivagens e rearranjos característicos que ocorrem nas moléculas orgânicas, como as clivagens homolítica (figura 36A) e heterolítica (figura 36B) e o rearranjo de McLafferty (figura 36C). Estas clivagens e rearranjo citados ocorrem preferencialmente em torno do átomo mais eletronegativo em meio a cadeia carbônica, que no caso de algumas substâncias das ceras é o oxigênio, pois geralmente são estes átomos que são preferencialmente ionizados (Silverstein & Webster, 2000).

Geralmente as classes de substâncias alifáticas que possuem série de homólogos, como os alcanos, ácidos graxos, álcoois primários, ésteres, cetonas e aldeídos, possuem fragmentações muito semelhantes e com poucas variações entre seus homólogos. Nestas classes, diversos fragmentos são formados de modo idêntico durante o processo de fragmentação dos homólogos. Essas repetições de fragmentos em diferentes homólogos de uma mesma classe fazem com que estas substâncias apresentem um padrão de fragmentação característico de fácil reconhecimento. O reconhecimento desses padrões de fragmentação também pode ser feito para os homólogos trimetilsililados das classes que sofrem derivatização (Silverstein & Webster, 2000; Taghizadeh, 2001).

Dois passos são necessários para reconhecer os homólogos das classes de substâncias que se fragmentam formando um padrão conhecido. O primeiro é reconhecer características presentes nos espectros de massas capazes de indicar a classe a qual aquela substância pertence e o segundo é identificar o número de carbonos do homólogo. Foram identificados desta maneira os homólogos não ramificados de alcanos e ésteres e os derivados trimetilsililados não ramificados de ácidos graxos e álcoois primários. Além disso, para as substâncias cíclicas foram feitas comparações dos picos majoritários de seus espectros de massas com espectros padrões disponíveis na biblioteca digital NIST (versão 2.0, 2008). Os valores de comparação de *Match* e *R-Match* variam de 0 a 999, sendo que valores acima de 900 são considerados excelentes, de 800 a 900 bons e de 700 a 800 razoáveis (Mikaia et al., 2008). As sugestões da NIST foram consideradas somente quando os valores de *Match* e *Reverse Match* (*R-Match*) foram iguais ou maiores que 900. Também foram usados espectros de massas presentes na literatura para comparação e identificação.

A. Clivagem homolítica

B. Clivagem heterolítica

C. Rearranjo de McLafferty

Figura 36. Principais fragmentações em moléculas orgânicas ionizadas por impacto eletrônico (modificado de Silverstein & Webster, 2000). Os saltos eletrônicos estão representados pelas setas em vermelho; os círculos vermelhos representam os elétrons de interesse; os números em vermelho indicam os carbonos de interesse. **A.** Exemplo de clivagem heterolítica: neste caso de clivagem os elétrons da ligação entre o carbono 1 e 2 se deslocam de maneira independente no momento da cisão. **B.** Exemplo de clivagem homolítica: já neste tipo de clivagem o par eletrônico da ligação entre o carbono 1 e 2 se descola junto no momento da cisão. **C.** Rearranjo de McLafferty: este tipo de rearranjo é caracterizado pela cisão da ligação entre os carbonos 2 e 3 quando a molécula possui uma estrutura e condições para que haja a possibilidade da aproximação de um hidrogênio do carbono 4 com o oxigênio catiônico. **R** indica que pode ser uma cadeia carbônica.

4.5 Quantificação das substâncias presentes nas ceras

A quantificação das substâncias presentes nas ceras foi realizada a partir do teor ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) relativo de cada substância nos cromatogramas. Para isto, foi usado inicialmente o método de normalização (Bonato, 2006), que calcula a porcentagem relativa (%Rel) de cada substância integrada em um cromatograma. Este cálculo é realizado pela seguinte equação:

$$\%Rel\ x = \frac{100 \cdot \text{área}\ x}{\text{área}\ \text{total}};$$

em que *x* representa as substâncias presentes no cromatograma e a área total é dada pela soma da área de todas as substâncias integradas no cromatograma. O teor relativo (TRel) de cada substância foi obtido através da equação:

$$TRel\ x = \frac{\text{teor}\ y \cdot \%Rel\ x}{100};$$

em que *x* representa as substâncias presentes no cromatograma e *y* representa o valor do teor total ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de cera de determinado indivíduo.

4.6 Preparo das folhas para microscopia eletrônica de varredura (MEV), obtenção das imagens e identificação das morfologias das ceras epicuticulares

As folhas que foram destinadas ao MEV, após a coleta, foram secas em temperatura ambiente, não sendo levadas para a estufa, para que as estruturas e ornamentos das ceras epicuticulares não fossem alteradas pelo calor excessivo. Destas folhas foram retirados fragmentos quadrados de aproximadamente 1 mm² entre a nervura central e as nervuras laterais na parte central do limbo, tanto da superfície adaxial quanto abaxial. Estes fragmentos foram fixados em suportes de alumínio com cerca de 10 mm de diâmetro, próprios para microscopia eletrônica, denominados de *stubs* com auxílio de fita adesiva dupla-face. Após o preparo dos *stubs*, eles foram mantidos em dessecador com solução de ácido sulfúrico concentrado por dois a quatro dias para que houvesse a eliminação do máximo possível de umidade dos fragmentos de folha. Em seguida foi aplicada uma cobertura de solução de ouro com auxílio do metalizador “Balzers SCD 050 sputter coater” (Barthlott & Neinhuis, 1997).

Os *stubs* metalizados foram observados através dos microscópios eletrônicos de varredura “Sigma VP Scanning Electron Microscope, Zeiss, West Germany” ou pelo “Digital Scanning Microscope DSM 940, Zeiss, West Germany”, do Instituto de Biociências, USP, de 5 a 10 kV, com zoons que variaram de 250 a 5000 vezes. A classificação da morfologia das ceras epicuticulares foi feita visualmente, através de comparação com dados disponíveis na literatura.

4.7 Caracterização ambiental dos locais de coleta

Estudos mostram que as ceras cuticulares apresentam relação com o ambiente ao seu redor. Fatores como temperatura, umidade e luminosidade mostraram-se capazes de estimular mudanças na composição química e quantidade das ceras em diferentes espécies (Shepherd & Griffiths, 2006). Deste modo, os indivíduos utilizados neste trabalho tiveram seus ambientes de coleta caracterizados em relação ao domínio, visando verificar possíveis influências destes sobre as ceras cuticulares.

A classificação dos indivíduos nos domínios foi feita utilizando-se o mapa de vegetação do Brasil do IBGE (2004) e as informações da localização geográfica de coleta. O termo “domínio” é designado para caracterizar uma vasta região onde há o predomínio de um macroclima e de uma formação morfoclimática dominantes, entretanto dentro de um mesmo domínio encontram-se diversas formações vegetais diferentes (Coutinho, 2006). O Brasil, segundo o IBGE (2014) é dividido em seis domínios – Amazônico, Atlântico, Cerrado, Caatinga,

Pampas e Pantanal. Destes, as espécies usadas neste trabalho foram coletadas em quatro deles, caracterizados a seguir de acordo com Coutinho (2016):

A. Amazônico – Presente no Norte do país, dominado pelas florestas sempre-verdes densas, abertas e de várzea. Também há a presença de algumas regiões com formações de campo e savana amazônicas (campinarana).

B. Atlântico – Encontrado principalmente na região Sudeste e Sul e acompanhando praticamente toda região litorânea do país. Entre as formações presentes estão as florestas atlânticas sempre-verdes densas de encosta, de restinga, de planícies e de manguezal.

C. Cerrado – Estende-se por praticamente toda região centro-oeste do país. Caracteriza-se por apresentar diversas formações vegetais, entre elas as savanas tropicais estacionais e florestas tropicais densas estacionais ripárias.

D. Caatinga – Presente na região nordeste do país, caracterizado pela presença da savana tropical estacional semiárida com a presença de pequenas faixas de floresta densa estacional decídua.

4.8 Obtenção dos dados climáticos das regiões de coleta

Além da caracterização dos ambientes descrita anteriormente, também foram coletados dados climáticos das regiões de coleta de cada indivíduo. Os dados foram obtidos através do site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), acessado pelo link “<http://www.inmet.gov.br/portal/>” em 2017. As coordenadas de coleta de cada indivíduo foram obtidas através de informações presentes nas etiquetas de suas respectivas exsicatas. Diferentes estações meteorológicas foram usadas, escolhidas manualmente de acordo com a maior proximidade entre local da estação e o local de coleta de cada indivíduo.

Foram coletados dados, sempre que possível, das temperaturas máximas e mínimas (°C), pluviosidade (mm) e umidade relativa do ar (%). Estes dados, para o período de 1987 a janeiro de 2017 foram adquiridos através do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP - INMET). Já os dados a partir de janeiro de 2017 ainda não disponíveis no BDMEP, foram obtidos através de dados de estações automáticas.

Para realização das análises, os valores de cada um dos fatores mencionados acima foram obtidos através da média aritmética dos valores disponíveis para o mês e para os dois meses que antecederam a data de coleta (adaptado de Guo et al., 2015).

4.9 Análises estatísticas de variância

Os dados submetidos às análises estatísticas de variância foram testados quanto sua normalidade com o teste de Shapiro-Wilk através do software BioStat 5.3; valores de $P > 0,05$ caracterizam a distribuição normal dos dados e $P \leq 0,05$ a distribuição não normal dos dados. Os testes estatísticos de análise de variância e os gráficos foram realizados através do software Graphpad Prism versão 6.01. Os testes foram escolhidos de acordo com os tipos de dados e valor de significância do teste de Shapiro-Wilk conforme demonstrado pela tabela 3. Para os diferentes testes apresentados na tabela 5, considera-se haver diferença significativa entre os dados se os valores de P forem $\leq 0,05$. Quando encontradas diferenças significativas para os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, foi feito teste póstumo de Tukey e Dunn respectivamente, para construção do ranqueamento. Nos casos em que o número de amostras foi menor que 5, não sendo possível a realização de verificação de normalidade, foram usados testes não paramétricos.

Tabela 5. Análises de variância utilizadas de acordo com a distribuição normal dos dados.

Tipos de dados	Normalidade*	
	$P > 0,05$	$P \leq 0,05$
1 variável, 2 grupos independentes de dados	Teste-t	Teste de Mann-Whitney
1 variável, 3 ou mais grupos independentes de dados	Anova	Kruskal-Wallis

*Os dados encontram-se em distribuição normal, se $P > 0,05$.

4.10 Análises estatísticas multivariadas

As análises estatísticas multivariadas geralmente não estão associadas a um valor de diferença significativa, sendo de cunho exploratório, ou seja, cabe ao pesquisador interpretar os dados e obter conclusões. Apesar disso, elas são bastante úteis para explorar os dados quando existem muitas variáveis diferentes envolvidas para uma mesma amostra. Neste tipo de estatística, as amostras representam as linhas das matrizes, e as variáveis de cada amostra representam as colunas e podem ser chamadas de caracteres ou descritores. Dois tipos principais de análises multivariadas são comumente utilizadas, as análises de dispersão e as de agrupamento. As análises de dispersão têm como resultado um gráfico cartesiano bidimensional, enquanto que as análises de agrupamento um gráfico em forma de árvore denominado de dendograma (Valentin, 2000; Felfili et al., 2011).

4.10.1 Análise multivariada de dispersão

Para a realização deste tipo de análise, foi escolhido o teste de análise de componentes principais (PCA) (Mohtashamian et al., 2017). O PCA é um teste indicado quando existem diversos fatores que se encontram possivelmente associados às amostras. Ele consiste na redução de n dimensões cartesianas (associadas aos descritores) para apenas algumas dimensões, que são denominadas de componentes principais, em que posteriormente são projetadas as amostras. Aos seus eixos estão associados um valor de porcentagem, variando de 0 a 100, que indica o quão explicativo é a projeção das amostras naquele eixo, sendo que quanto maior a porcentagem mais explicativa é aquela componente principal (Valentin, 2000; Felfili et al., 2011).

Para este tipo de análise foi contruída uma matriz de dados de correlação, quando não houve a padronização dos dados, ou de covariância, quando houve a padronização dos dados (necessária nos casos em que os descritores se encontram em dimensões diferentes). Para a construção destas matrizes, os indivíduos estudados foram considerados as amostras, portanto as linhas, e os descritores, cada substância das ceras, as colunas. Para estas análises, os descritores com valores ausentes foram substituídos por zero, pois indicam que não foram identificados na amostra. A realização da análise foi feita através do software FITOPAC v. 2.1.

4.10.2 Análise multivariada de agrupamento

As análises de agrupamento foram feitas através do método de ligação UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* ou método pela associação média) (Valentin, 1995; Mimura et al., 1998; Skorupa et al., 1998; Dodd & Poveda, 2003; Pimentel, 2014), através do software FITOPAC v. 2.1. Esta análise, de acordo com Valentin (1995) baseia-se no cálculo da média aritmética da similaridade entre a amostra que se quer incluir num grupo e cada amostra pertencente a este grupo. Deste modo a amostra é incluída no grupo com o qual ela tem a maior similaridade média com todas as amostras daquele grupo.

Para a realização desta análise, inicialmente foi contruída uma matriz de ordenação na qual as linhas representam as amostras e são denominadas de OTUs (unidades taxonômicas operacionais) e as colunas representam os descritores, por exemplo, a composição química da cera. Os descritores com valores ausentes foram considerados como zero, pois não foram identificados na amostra. A partir desta matriz de ordenação foi utilizado o coeficiente de distância euclidiana média para transformar esta matriz em uma matriz de distância. O coeficiente de distância euclidiana média é indicado para dados quantitativos quando se

deseja visualizar graficamente a proximidade entre as amostras. Ele é obtido ligando as OTUs aos pares e calculando uma distância métrica entre estas OTUs de acordo com a similaridade de seus caracteres. Quanto maior a similaridade encontrada, menor será o valor da distância entre as OTUs, caracterizando-se por ser um índice de dissimilaridade (Crisci & Armengol, 1983; Valentin, 1995, Valentin, 2000; Felfili et al., 2011).

O método de agrupamento por UPGMA é aplicado então a esta matriz de distância. Seu resultado é um dendrograma caracterizado por apresentar em sua extremidade as OTUs que se encontram agrupadas em clados. O índice do coeficiente de distância euclidiana média (ou neste caso índice de dissimilaridade) presente no dendrograma varia de 0 a n , sendo que quanto menor seu valor, maior é a proximidade entre as OTUs. Além disso, também foi realizada a análise de correlação cofenética para cada um dos dendrogramas obtidos. A análise de correlação cofenética indica a confiabilidade das conclusões obtidas do dendrograma gerado e é calculada através da correlação entre a matriz de distância com o dendrograma gerado. Seu valor pode variar de 0 a 1, sendo que quanto mais próximo de 1, maior a confiabilidade do dendrograma gerado (Valentin, 1995; Kopp et al., 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teor total de cera

O teor de cera de cada indivíduo foi calculado e em seguida foi feita a média aritmética do teor de cera para cada espécie (tabela 6).

Tabela 6. Teor médio ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) de cera por espécie.

ESPÉCIE	Nº	VOUCHER*	TEOR ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	TEOR MÉDIO ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)**
<i>Homalolepis arenaria</i>	17	MFD 398	13,04	29,06
	59	MFD 394	46,88	
<i>H. bahiensis</i>	12	MFD 375	27,17	27,17
<i>H. cedron</i>	24	MFD 250	23,60	18,07 $\pm$ 11,81
	26	MFD 253	16,23	
	27	MFD 257	12,92	
	30	MFD 261	9,44	
	31	MFD 267	7,11	
	101	Pirani 6706	39,11	
	102	Pirani 6706	144,63	
<i>H. cuneata</i>	22	MFD 246	8,68	15,66 $\pm$ 6,38
	23	MFD 247	13,73	
	25	MFD 252	26,78	
	85	MFD 440	11,33	
	86	MFD 441	18,48	
	87	MFD 441	14,97	
<i>H. ferruginea</i>	8	MFD 330	29,45	32,36 $\pm$ 19,83
	11	MFD 367	65,59	
	37	MFD 280	19,56	
	55	Miniscalchi 629	32,04	
	56	Antar 309	15,17	
<i>H. floribunda</i>	88	MFD 442	12,75	11,72 $\pm$ 4,79
	89	MFD 442	18,89	
	90	MFD 442	10,56	
	91	MFD 442	10,75	
	92	MFD 442	5,64	
<i>H. glabra***</i>	45	MFD 298	48,35	-
	47	MFD 322	31,87	
	118	MFD 452	109,94	
	119	MFD 452	98,43	
<i>H. insignis</i>	16	MFD 389	8,24	9,03 $\pm$ 4,42
	18	MFD 269	6,36	
	32	MFD 270	6,03	
	33	MFD 271	15,50	
<i>H. intermedia</i>	57	Ceccantini 3763	70,01	59,45
	58	Mendonça 6206	48,90	
<i>H. paraensis</i>	15	MFD 384	26,52	26,76
	54	Campos & Kukle nº 41	27,00	
<i>H. pohliana</i>	1	MFD 273	45,22	53,20
	2	MFD 276	178,51	
	42	MFD 282	61,18	
<i>H. salubris</i>	4	MFD 295	59,91	34,48 $\pm$ 23,37
	39	MFD 294	7,35	
	43	MFD 296	57,09	

	108	MFD 296	18,04	
	109	MFD 296	30,03	
<i>H. planaltina</i>	6	MFD 320	21,27	28,41 ± 9,84
	68	MFD 445	35,33	
	69	MFD 445	22,28	
	70	MFD 445	23,87	
	71	MFD 445	17,63	
	72	MFD 445	17,74	
	73	MFD 445	34,03	
	113	MFD 445	41,47	
	114	MFD 445	42,01	
<i>H. pumila</i>	7	MFD 323	27,80	39,31 ± 11,55
	115	MFD 467	119,25	
	116	MFD 467	50,90	
	117	MFD 467	39,22	
<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	3	MFD 286	19,70	23,43 ± 3,30
	48	MFD 286	24,61	
	49	Scariot 692	25,97	
<i>H. subcymosa</i>	52	Neves 130	28,35	24,91
	53	Folli 6589	21,47	
<i>H. suffruticosa</i>	5	MFD 315	23,39	44,77 ± 26,12
	36	MFD 274	76,52	
	74	MFD 450	43,15	
	75	MFD 450	36,17	
	76	MFD 450	27,18	
	77	MFD 450	13,78	
	78	MFD 450	13,68	
	79	MFD 450	93,20	
	80	MFD 450	23,48	
	81	MFD 450	70,85	
	82	MFD 450	61,13	
	83	MFD 450	40,09	
	93	Pirani 6683	202,87	
	94	Pirani 6683	80,40	
	95	Pirani 6683	14,84	
	96	Pirani 6683	33,67	
	110	MFD 315	64,79	
<i>H. tocantina</i>	38	MFD 293	86,33	86,33
<i>H. trichilioides</i>	13	MFD 377	23,68	37,22 ± 12,88
	14	MFD 378	36,60	
	34	MFD 225	28,37	
	35	MFD 226	23,82	
	40	MFD 297	41,17	
	97	Pirani 6689	137,91	
	98	Pirani 6689	51,04	
	99	Pirani 6665	55,87	
	100	Pirani 6665	106,43	
<i>H. warmingiana</i>	60	MFD 432	127,72	69,04 ± 31,41
	61	MFD 432	58,49	
	62	MFD 432	35,98	
	63	MFD 432	54,24	
	64	MFD 432	41,47	
	65	MFD 432	42,42	
	66	MFD 432	67,35	
	111	MFD 421	95,27	
	112	MFD 421	98,44	

<i>Simaba guianensis</i>	19	MFD 263	17,60	43,36 ± 23,47
	50	Ferreira 9488	48,95	
	51	Ferreira 9551	63,53	
<i>S. obovata</i>	9	MFD 340	23,23	33,27
	44	MFD 425	43,32	
<i>S. orinocensis</i>	10	MFD 361	18,89	12,73
	28	MFD 259	6,57	
<i>S. polyphylla</i>	20	MFD 264	7,22	7,22
<i>Quassia amara</i>	29	MFD 260	6,04	6,04
<i>Simarouba amara</i>	21	MFD 245	31,46	19,26 ± 11,73
	106	Pirani 6676	18,27	
	107	Pirani 6676	8,06	
<i>Simarouba versicolor</i>	103	Pirani 6666	39,93	27,15 ± 11,08
	104	Pirani 6666	21,17	
	105	Pirani 6666	20,35	

*MFD: Marcelo Fernando Devecchi. **Os valores de média aritmética e desvio padrão foram calculados de acordo com o número de indivíduos. ***Nesta espécie parece haver dois grupos distintos de teores, não sendo possível fazer o cálculo de média para a espécie. Espécies com menos de 3 indivíduos não tiveram o desvio padrão calculado. **Valores em itálico** representam os outliers (método de ROUT, Q=10%) e não foram usados para calcular a média e o desvio padrão. **Valores em negrito** também não foram considerados por estarem distoantes dentro de uma mesma espécie.

Os teores médios de cera encontrados apresentaram grande amplitude entre as espécies de *Homalolepis* (9,03 a 94,97 $\mu\text{g.cm}^{-2}$) e *Simaba* s.s. (7,22 a 43,36 $\mu\text{g.cm}^{-2}$), sendo que em *Homalolepis* esta diferença chega a ser de mais de 10 vezes. Segundo Baker (1982) teores de cera superiores a 60 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ são considerados muito altos e ocorreram em 3 espécies de *Homalolepis* (*H. pohlinana*, *H. tocantina* e *H. warmingiana*). De modo geral, a maioria dos indivíduos desse gênero apresentaram teores em torno de 20 a 60 $\mu\text{g.cm}^{-2}$, com sete indivíduos discrepantes (indivíduos 2, 60, 93, 97, 102, 115 e 118), que apresentaram teores acima de 108 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ (figura 37). *Simaba* s.s., de modo geral, apresentou indivíduos com teores entre 10 e 40 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ (figura 37).

Figura 37. Diagrama de caixa referente aos teores dos indivíduos de *Homalolepis* e *Simaba* s.s.

De acordo com a revisão bibliográfica realizada neste estudo, há uma grande lacuna sobre dados químicos de ceras em Sapindales. Dos poucos estudos realizados desde a década de 1970, muitos foram feitos com espécies de *Citrus* (Rutaceae) (tabela 2). Filogeneticamente,

Rutaceae é bastante próxima a Simaroubaceae e Meliaceae (figura 27A) e em meio a este panorama escasso de dados, *Citrus* pode ser considerado um bom grupo para comparações com os grupos utilizados neste estudo.

Baker e colaboradores (1975) encontraram para tangerina (*Citrus reticulata* Blanco cv. clementine), limão (*C. limon* (L.) Burm. f. cv. Adamopoulou), mexerica (*C. deliciosa* Tenore cv. Willowleaf) e laranja (*C. sinensis* (L.) Osbeck cv. Frost Valencia) teores de cera foliar que variaram de 19 a 30 $\mu\text{g.cm}^{-2}$, 11 a 28 $\mu\text{g.cm}^{-2}$, 10 a 22 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ e 9 a 20 $\mu\text{g.cm}^{-2}$, respectivamente. Esta faixa de teores se assemelhou bastante aos teores médios encontrados para as espécies de *Simaba* s.s., que apresentaram teores médios na faixa de 7 a 43 $\mu\text{g.cm}^{-2}$. Comparando com as espécies de *Homalolepis* estes teores médios encontrados nas folhas de *Citrus* foram semelhantes para grande parte das espécies. Entretanto, algumas espécies como *H. intermedia*, *H. pohliana*, *H. pumila*, *H. suffruticosa*, *H. tocantina*, *H. trichilioides* e *H. warmingiana* apresentaram teores médios de cera mais elevados, variando de 54 a 94 $\mu\text{g.cm}^{-2}$. Os teores médios encontrados para as espécies do grupo externo, *Quassia amara*, *Simarouba amara* e *S. versicolor*, apresentaram amplitude muito semelhante aos teores médios encontrados para estas quatro espécies de *Citrus*, se assemelhando de maneira geral aos teores de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*.

Foi feito o teste de Kruskal-Wallis para comparar o teor médio de cera de *Homalolepis*, *Simaba* s.s. e do grupo externo (composto por uma espécie de *Quassia* e por duas de *Simarouba*). O valor de P obtido foi de 0,1320, caracterizando a ausência de diferença significativa entre os teores dos três grupos (figura 38), apesar de algumas espécies de *Homalolepis* apresentarem teores médios de cera bastante elevados.

Figura 38. Comparação entre os teores encontrados nos indivíduos de *Homalolepis*, *Simaba* s.s. e do grupo externo através do teste de Kruskal-Wallis. Letras iguais indicam não haver diferença significativa entre as médias.

Foi visto que a maioria das espécies estudadas apresentaram valores bastante altos de desvio padrão. De acordo com Cavalli & Winge (2003), espécies selvagens apresentam maior

variabilidade genética que espécies cultivadas. Estes autores também apontam que a ocorrência de indivíduos de diferentes gerações coexistindo em uma mesma população em espécies de ciclo de vida longo, também faz com que aumente a variabilidade. Estes fatores relacionados à genética populacional podem ter contribuído para o aumento do desvio padrão entre as espécies, visto a amostragem dos indivíduos em seus habitats naturais não ter como considerar o estágio de desenvolvimento de cada um, mesmo tomando cuidado de coletar sempre folhas maduras.

5.2 Composição química geral das ceras de *Simaba s.s.* e *Homalolepis*

As substâncias encontradas nas ceras mostram-se muito variáveis entre as espécies estudadas (figura 39). As duas classes de substâncias mais expressivas foram os alcanos e ácidos graxos para a maioria das espécies. A partir da figura 1.3 é possível observar visualmente que em *Homalolepis* os ácidos graxos apresentam-se em maior proporção em relação aos alcanos, exceto em *H. floribunda* e a *H. warmingiana*. O contrário é visualizado para as espécies de *Simaba s.s.*, que apresentam maior proporção de alcanos em relação aos ácidos graxos.

Figura 39. Composição química em porcentagem relativa das classes de substâncias encontradas na cera cuticular foliar das espécies estudadas. Os ésteres não foram representados devido sua presença em baixa quantidade e bastante singular nas espécies estudadas. Os gráficos foram obtidos através da média da porcentagem relativa de cada substância encontrada para cada espécie.

Para cada uma destas duas classes, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis para verificar possíveis diferenças entre a porcentagem relativa de cada classe de substância nos dois gêneros e no grupo externo. As porcentagens relativas da classe em cada indivíduo foram usadas para a realização do teste. Foi observada diferença significativa na porcentagem relativa dessas duas classes de componentes da cera na comparação entre *Simaba s.s.* e *Homalolepis*, o mesmo não sendo observado em relação ao grupo externo (figura 40). A partir

destes dois resultados é possível fazer a distinção de *Homalolepis* e *Simaba* s.s. a partir da proporção de ácidos graxos e alcanos.

Figura 40. Comparação entre as porcentagens relativas de ácidos graxos e alcanos de *Homalolepis*, *Simaba* s.s. e do grupo externo através do teste de Kruskal-Wallis. Letras iguais indicam não haver diferença significativa entre as médias.

Esta distinção fica mais clara ao olhar para estes dados através de uma análise multivariada. A análise de componentes principais (PCA) mostrada na figura 41, foi realizada através da construção de uma matriz em que os descritores correspondem às porcentagens relativas de ácidos graxos e alcanos e as amostras correspondem a cada indivíduo estudado. A partir dela é possível observar a formação de um agrupamento com a maioria dos indivíduos de *Homalolepis* (grupo A) orientados de acordo com o vetor correspondente aos ácidos graxos; um agrupamento correspondente aos indivíduos de *Simaba* s.s. (grupo B) orientados de acordo com o vetor correspondente aos alcanos; e um agrupamento central (grupo C), intermediário entre *Homalolepis* e *Simaba* s.s. formado pelo grupo externo. O alto valor referente à explicação do eixo 1 (82,55%) da maior suporte aos agrupamentos delineados.

Figura 41. Análise de componentes principais com *Homalolepis*, *Simaba* s.s. e grupo externo a partir da porcentagem relativa total de ácidos graxos e alcanos. A, B e C correspondem aos agrupamentos delineados visualmente. AG: vetor formado a partir das porcentagens relativas de ácidos graxos; ALC: vetor formado a partir das porcentagens relativas de alcanos.

Os álcoois primários e esteroides foram detectados na maioria das espécies em baixas quantidades. A *H. intermedia* é uma exceção clara, apresentando grande quantidade de esteroides em sua cera (figura 39). Também é possível observar maior quantidade de álcoois primários presentes na cera de *Quassia amara* e *Simarouba versicolor*. Os tocoferóis encontram-se expressivos em apenas algumas espécies de *Homalolepis*, como *H. glabra*, *H. pumila*, *H. tocantina* e *H. trichilioides*. Os triterpenos, o fitol e os ésteres apareceram nas ceras de maneira singular e em porcentagens relativas baixas.

Poucos dados foram encontrados sobre a composição química das ceras foliares em relação às classes de substâncias em Sapindales. Em *Citrus deliciosa* cv. Willowleaf e *C. sinesensis* cv. Frost Valencia, a principal classe de substâncias encontrada nas ceras foliares foram os alcanos, seguidos dos álcoois primários e ácidos graxos; aldeídos também foram encontrados em baixíssimas quantidades (Baker et al., 1975). A composição das ceras foliares de *C. halimii* e *C. aurantium* apresentou características bastante peculiares. Em *C. halimii* os triterpenos, com 65% da cera total, foram a classe majoritária, seguidos de baixas quantidades de alcanos, álcoois primários, ácidos graxos, esteroides e ésteres (Guelz et al., 1987). Em *C. aurantium* mais de 50% da cera é composta por alcanos, 30% por ésteres e o restante dividido entre ácidos graxos, alcanos, aldeídos e triterpenos (Reynhardt & Riederer, 1991). Não foram encontrados registros de tocoferóis e fitol diretamente relacionados às ceras foliares em Sapindales. Os perfis descritos para *Citrus deliciosa* cv. Willowleaf e *C. sinesensis* cv. Frost Valencia são semelhantes ao encontrado nas espécies de *Simaba* s.s., *H. floribunda* e *H. warmingiana*, exceto no que se refere aos álcoois primários.

5.3 Composição química de cada classe de componentes das ceras de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*

Analisando em detalhes os componentes de cada classe, ao todo foram identificadas 71 substâncias presentes nas amostras de ceras dos indivíduos analisados (tabela 7). Deste total, foram encontrados 27 ácidos graxos (tabela 8), 15 álcoois primários (tabela 9), 15 alcanos, 1 éster, fitol (tabela 10), 4 esteroides, 3 triterpenos e 4 tocoferóis (tabela 11).

5.3.1 Ácidos graxos

Foram encontrados ácidos graxos pertencentes ao subgrupo dos ácidos graxos saturados, insaturados e ácidos dicarboxílicos (tabela 7). A identificação destes ácidos graxos ocorreu através dos seus respectivos derivados trimetilsililados. Nestes derivados o hidrogênio (massa 1) da hidroxila é substituído pelo grupo trimetilsililil $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]$ (Massa 73).

Um total de 22 ácidos graxos saturados foram identificados por meio de seu padrão de fragmentação. Caracteristicamente, o pico do íon molecular (pico que corresponde à molécula com a perda de um elétron, representado pelo símbolo $M^{+\bullet}$) pode não estar presente, ou apresentar-se em baixa abundância, pois é comum em certas classes de substâncias trimetilsililadas a rápida perda de uma das metilas (CH_3 - massa 15) do grupo trimetilsililil, formando um fragmento bastante abundante e característico dado por $[M-15]^{+\bullet}$ (ou $[M-CH_3]^{+\bullet}$). A presença dos fragmentos de m/z 75 $[(CH_3)_2SiOH]^{+\bullet}$ e m/z 73 $[Si(CH_3)_3]^{+\bullet}$ é bastante comum e característico nesta classe de substância, estando ambos presentes em grande abundância no espectro de massas (Taghizadeh, 2001; Christie, 2017). Além disso, quatro fragmentos contendo o grupo trimetilsililil são bastante característicos nos derivados trimetilsililados dos ácidos graxos saturados, o fragmento de m/z 117 $[(COOSi(CH_3)_3)]^{+\bullet}$, 131 $[CH_2COOSi(CH_3)_3]^{+\bullet}$, 145 $[(CH_2)_2COOSi(CH_3)_3]^{+\bullet}$ e 132 $[CH_2COOHSi(CH_3)_3]^{+\bullet}$ (figura 42) (Taghizadeh, 2001).

Figura 42. Padrão de fragmentação de derivados trimetilsililados de ácidos graxos saturados, usando-se de exemplo o espectro de massas do ácido hexadecanoico trimetilsililil. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original.

Para a identificação dos homólogos dos ácidos graxos foi construída a fórmula molecular básica com base no fragmento $[M-15]^{+\bullet}$ a qual foi transformada em equações

matemáticas a partir dos valores de massa dos átomos presentes na estrutura química (figura i, *Anexos*). A equação criada para identificar o número de carbonos dos homólogos dos derivados trimetilsililados dos ácidos graxos saturados é $nAG = \left(\frac{[M-15]^+ - 117}{14} \right) + 2$, sendo que nAG é o número de carbonos total do ácido graxo correspondente não derivatizado e $[M-15]^+$ é o valor da massa do fragmento da molécula menos uma metila.

Três ácidos graxos insaturados foram encontrados, o ácido oleico (18:1 cis-9), ácido linoleico (18:2 cis-9,12) e o ácido α -linolênico (18:3 cis-9,12,15). O padrão de fragmentação dos derivados TMSi de ácidos graxos insaturados (figura 43A) é parecido com o encontrado para os derivados TMSi dos ácidos graxos saturados, entretanto conforme o número de insaturações aumenta, os fragmentos de m/z 117, 129, 145 e $[M-15]^+$ tendem a diminuir de abundância (Christie, 2017). A identificação dos derivados TMSi dos ácidos oleico, linoleico e α -linolênico se deu através da comparação dos espectros de massas com os dados da biblioteca digital da NIST.

Figura 43. Espectros de massas de alguns ácidos graxos encontrados nas ceras dos indivíduos estudados. **A:** exemplo de um ácido graxo insaturado e **B:** exemplo de um ácido dicarboxílico.

Os ácidos graxos octanodioico (ác. subérico) e nonadioico (ác. azeleico), dois ácidos dicarboxílicos, foram identificados nas amostras de cera. A fragmentação dos derivados bis-TMSi dos ácidos dicarboxílicos (figura 43B), assim como com os ácidos graxos insaturados TMSi, também caracterizam-se por apresentar grande abundância dos fragmentos de m/z 73 e

75 e abundâncias bastante baixas dos fragmentos 117, 129, 131 e 145, além do fragmento [M-15]⁺ (NIST, 2017a e b).

A classe dos ácidos graxos foi a classe mais diversificada encontrada nas ceras das espécies analisadas, contendo 27 substâncias diferentes. A subclasse dos ácidos graxos saturados foi, de modo geral, a mais diversa e mais abundante para muitas das espécies estudadas, principalmente de *Homalolepis* (tabela 8). Ela aparece formando uma série homóloga composta por 22 substâncias na faixa de 12 a 34 carbonos, com exceção apenas do homólogo com 21 carbonos. Os principais homólogos desta série foram os pares na faixa de 14 a 32 carbonos, principalmente o ác. hexadecanoico (C16:0), que foi a substância mais abundante encontrada para a maioria dos indivíduos analisados. Os dois outros subgrupos de ácidos graxos encontrados foram menos expressivos, em diversidade e abundância, sendo entre eles o ác. oleico (18:1) o mais expressivo.

Em relação a composição de ácidos graxos, apenas a *H. planaltina* apresentou diferenças com as demais espécies. Ao invés de apresentar majoritariamente o ác. hexadecanoico, ela apresentou maiores quantidades dos ácidos tetracosanoico (C24:0) e hexacosanoico (C26:0). Embora tenha ocorrido a presença de composições um pouco diferenciadas, qualitativamente não é possível fazer a distinção pelos ácidos graxos entre *Homalolepis*, *Simaba* s.s. e do grupo externo.

Já é bem estabelecido na literatura a presença de ácidos graxos como componentes das ceras, apresentando-se principalmente em séries homólogas pares, devido ao seu processo de biossíntese (Kunst & Samuels, 2009; Barthlott et al., 2017). Nas plantas é bastante comum eles apresentarem-se com tamanhos que variam de 12 a 36 carbonos (Barthlott et al., 2017).

As ceras de Sapindales mostraram-se não ser exceção de acordo com levantamento realizado e aos resultados encontrados. Nas ceras foliares de *Citrus halimii* os ácidos C16:0 e C18:0 também foram encontrados como majoritários dentro da série homóloga (Guelz et al., 1987) assim como as espécies estudadas. Já em *C. reticulata*, *C. limon*, *C. deliciosa* e *C. sinensis* os principais homólogos foram os com 32 e 34 carbonos (Baker et al., 1975), bem diferente do visto nas espécies de *Homalolepis* e *Simaba* s.s.

A presença dos ácidos graxos insaturados e ácidos dicarboxílicos não é tão comum. Em Sapindales foram encontrados os ácidos oleico (18:1) e linoleico (18:2) apenas nas ceras foliares de *Citrus hamimii* (Guelz et al., 1987) e na cera de frutos de *Citrus sinensis* (Liu et al.,

2015). Registros de ácido α -linolênico e de ácidos dicarboxílicos não foram encontrados nas ceras de Sapindales. Entretanto, Sriprapat e colaboradores (2014) encontraram a presença do ácido α -linolênico como componente principal da fração de ácidos graxos nas ceras de diferentes espécies, como *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Xanthorrhoeaceae, Asparagales), *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. (Crassulaceae, Saxifragales), *Codiaeum variegatum* (L.) A.Juss. (Euphorbiaceae, Malpighiales) e *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques (Asparagaceae, Asparagales).

Até onde sabemos, não há registros de ácidos dicarboxílicos em ceras. Entretanto esta classe é comum como parte da cutina (Peschel et al., 2007). A presença destes ácidos dicarboxílicos como componente das ceras precisa ser melhor averiguada e confirmada.

5.3.2 Álcoois primários graxos

Um total de 15 álcoois primários foram encontrados distribuindo-se em uma série homóloga com 16 a 36 carbonos, com somente homólogos pares do C16 ao C26, já do C27 ao C36, com toda a série exceto o homólogo C35 (tabela 7).

Os álcoois primários encontrados foram identificados através do padrão de fragmentação de seus derivados trimetilsililados, assim como os ácidos graxos, sendo o hidrogênio da hidroxila substituído pelo grupo trimetilsililil $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]$.

Da mesma maneira que nos derivados trimetilsililados dos ácidos graxos, naqueles derivados de álcool primário o pico do íon molecular pode não estar presente, ou apresentar-se em baixa abundância, pela perda de uma das metilas (CH_3 - massa 15) do grupo trimetilsililil, originando o fragmento $[\text{M}-15]^+$ (ou $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$). A presença dos fragmentos de m/z 75 $[(\text{CH}_3)_2\text{SiOH}]^+$ e m/z 73 $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$ é comum e característico, sendo o fragmento de m/z 75 mais abundante no espectro de massas em relação ao fragmento m/z 73 (Taghizadeh, 2001; Christie, 2017).

Dois fragmentos contendo o grupo trimetilsililil nos derivados trimetilsililados dos álcoois primários são bastante característicos para a identificação desta classe, o fragmento de m/z 89 $[\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+$ e 103 $[\text{CH}_2\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+$ (figura 44).

Figura 44. Padrão de fragmentação de derivados trimetilsililados de álcoois primários graxos saturados, usando-se de exemplo o espectro de massas do 1-icosanol trimetilsililil. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original.

A identificação dos homólogos, assim como para os ácidos graxos, foi feita construindo a fórmula molecular básica com base no fragmento $[M-15]^+$, a qual foi transformada numa equação matemática a partir dos valores de massa dos átomos presentes na estrutura química (figura i, *Anexos*). A equação para os derivados trimetilsililados dos álcoois primários graxos saturados é dada por $nAP = \left(\frac{[M-15]^+ - 89}{14} \right) + 1$, em que nAP é o número de carbonos total do álcool primário graxo saturado correspondente não derivatizado e $[M-15]^+$ é o valor da massa do pico do íon molecular menos uma metila.

De modo geral os álcoois primários foram pouco expressivos em quantidade nas ceras das espécies estudadas de *Simaba* s.s e *Homalolepsis* (tabela 9). Os principais homólogos encontrados foram os pares na faixa de 26 a 34 carbonos, que apresentaram maiores teores e encontram-se presentes em maior número de indivíduos. Os homólogos menores que 26 carbonos foram encontrados de maneira muito desigual, mesmo entre os diferentes indivíduos de uma mesma espécie. Por exemplo, em *H. cedron* apenas dois dos sete indivíduos apresentaram homólogos de álcoois primários menores que 26 carbonos. Da mesma forma que para os ácidos graxos, não foi encontrado um padrão qualitativo referente a distribuição dos homólogos entre os gêneros, não sendo possível diferencia-los a partir dos álcoois primários.

Os álcoois primários são os primeiros derivados liberados na forma livre a partir dos ácidos graxos durante a via de síntese da redução do grupo acil (ver figura 14 – Introdução). Por este motivo, são comumente encontrados em séries homólogas pares, pois não há perda de carbono para sua formação (Bernard & Joubès, 2013). Desta forma, a presença menos frequente de homólogos ímpares é completamente esperado. De acordo com Barthlott e colaboradores (2017) os principais homólogos de álcoois primários encontrados nas plantas são os pares com 12 a 36 carbonos. Além disto, os mesmos autores comentam que, salvo algumas exceções, os álcoois primários costumam ser minoritários nas ceras, reforçando o que foi encontrado para a maioria dos indivíduos estudados.

Em *Citrus* foi visto uma distribuição de álcoois primários muito semelhante ao encontrado neste estudo. Também foram encontrados principalmente álcoois primários pares na faixa de 22 a 34 com maiores abundâncias (Baker et al., 1975; Reynhardt & Riederer, 1991).

5.3.3 Alcanos

Os alcanos não ramificados são caracterizados por apresentar espectros de massas bastante característicos, principalmente pela formação de fragmentos $C_nH_{2n+1}^{+}$, que aparecem no espectro de massas com intervalos consecutivos de 14 unidades de massa (figura 45). Seu pico base (fragmento de maior abundância no espectro de massas) é o fragmento de quatro carbonos de m/z 57 $[CH_3-CH_2-CH_2-CH_2]^{+}$. Os fragmentos com 3, e 5 ou mais carbonos (m/z 43, 71, 85, 99, 113, ...) apresentam redução de abundância exponencial em relação ao fragmento com 4 carbonos. O íon molecular desta classe de substâncias pode estar presente, entretanto com abundância muito baixa. O fragmento correspondente à perda de uma metila $[M-CH_3]^{+}$ é extremamente baixo ou inexistente (Silverstein & Webster, 2000; Taghizadeh, 2001).

Os espectros de massas dos homólogos dos alcanos são praticamente idênticos. Desta forma, no presente trabalho a comparação dos tempos de retenção de cada homólogo com aqueles obtidos da análise de uma solução padrão (figura ii, *Anexos*) foi essencial para a identificação. Homólogos subsequentes tendem a estar separados no cromatograma por intervalos de tempos semelhantes se a rampa de aquecimento utilizada possui aumento de temperatura constante. Com isso, de maneira complementar a comparação com as amostras autênticas, foi calculada a média do intervalo de tempo entre a saída de homólogos subsequentes através da fórmula

$$\Delta T_{alc} = \frac{([\Delta T_{c20}-\Delta T_{c19}]+[\Delta T_{c21}-\Delta T_{c20}]+[\Delta T_{c22}-\Delta T_{c21}]+\dots+[\Delta T_{c26}-\Delta T_{c25}])}{7}, \text{ em que } \Delta T_{alc} \text{ representa a}$$

média do intervalo de tempo entre dois homólogos subsequentes de alcanos e ΔT_c representa o tempo de retenção dos homólogos com 19, 20, 21, ..., 26 carbonos da solução padrão. O valor obtido da média de tempo encontrada foi somado ao tempo de retenção do homólogo imediatamente anterior, possibilitando a identificação da substância mesmo que este homólogo não estivesse presente na solução padrão.

Figura 45. Padrão de fragmentação de alcanos não ramificados usando-se de exemplo o espectro de massas do pentacosano. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original.

Foram encontrados ao todo 15 alcanos distribuídos em uma série homóloga completa do C21 ao C35 (tabela 7). Em praticamente todas as espécies estudadas, o homólogo C31 foi o mais abundante entre os indivíduos, seguido pelo homólogo C33 (tabela 10). Um indivíduo de *Homalolepis arenaria* e os indivíduos de *H. floribunda*, *Simarouba amara* e *S. versicolor* foram exceção, sendo neles o homólogo C29 o mais abundante.

Apesar desta classe ser encontrada em maior abundância em *Simaba* s.s. (figura 40), de modo geral, grande número de homólogos encontram-se presentes em todos os indivíduos, diferentemente do que foi visto para os ácidos graxos e álcoois primários, que apresentaram distribuição dos homólogos de maneira muito heterogênea entre os indivíduos.

Quantitativamente, os homólogos dos alcanos se encontram distribuídos de maneira bastante homogeneia na maioria dos indivíduos estudados, exceto naqueles de *H. warmingiana*. Neles a quantidade do homólogo C31 está bastante elevada em comparação as outras espécies. Apesar da *H. warmingiana* se destacar quantitativamente das outras espécies, não é possível diferenciar as ceras de *Homalolepis*, *Simaba* s.s. e do grupo externo através dos alcanos.

Os alcanos ocorrem nas ceras das plantas preferencialmente em séries homólogas ímpares, devido ao processo de descarbonilação sofrido por aldeídos no momento de sua formação (Kunst & Samuels, 2009; Barthlott et al., 2017). Por isso, da mesma maneira que dito para os álcoois primários, a presença preferencial de homólogos ímpares nos indivíduos estudados era esperada. Nas plantas como um todo, os alcanos ímpares com 19 a 37 carbonos são os mais comuns (Barthlott et al., 2017). Os indivíduos estudados também mostraram este mesmo padrão. Há registros na literatura de algumas espécies que possuem alcanos pares como majoritários nas ceras, como *Croton campanulatus* (Euphorbiaceae) e *Gossypium hirsutum* (Malvaceae), entretanto este padrão é bastante incomum nas ceras vegetais (Pimentel, 2014; Bondada et al., 1996).

Em *Citrus reticulata*, *C. limon*, *C. deliciosa* e *C. sinensis*, foi encontrado uma série homóloga bastante semelhante às espécies estudadas, com homólogos distribuídos entre substâncias de 27 a 34 carbonos, sendo os homólogos C33 e C31 majoritários (Baker et al., 1975). Em *C. halimii* foi encontrada uma série homóloga de alcanos bastante ampla, do C19 ao C37, com o C31 sendo o homólogo mais abundante (Guelz et al., 1987). Em diferentes espécies de *Policarpus*, também foi encontrado uma série homóloga de alcanos semelhante às espécies deste estudo, compreendendo, de modo geral, homólogos de 21 a 33 carbonos, com os homólogos C31 e C29 aparecendo como majoritários (Skorupa et al., 1998). Outras espécies também apresentaram séries homólogas de alcanos semelhantes com as espécies estudadas, como a *Swietenia mahagone*, que apresentou como homólogos majoritários o C29, C31 e C33 (Bi et al., 2005) e *Litchi chinensis*, apresentando como homólogos majoritários o C27, C29, C31 e C33 (Samanta et al., 2013). De acordo com as informações disponíveis, a distribuição de alcanos em Sapindales aparentemente é bastante semelhante, apresentando séries homólogas ímpares com os homólogos C29, C31 e C33 bastante abundantes.

5.3.4 Ésteres graxos e fitol

O padrão de fragmentação dos ésteres graxos saturados não é tão simples de ser identificado como ocorre para as substâncias anteriores. Nesta classe o pico do íon molecular,

com massa par, é normalmente detectado, com maior abundância para íons moleculares acima de m/z 200. O fragmento mais característico dos ésteres graxos saturados é o que corresponde a porção ácida do éster adicionado de um hidreto para o oxigênio da carbonila ($[RCO_2H_2]^+$). A formação deste fragmento corresponde ao rearranjo de McLafferty com captura adicional deste hidreto, responsável pela clivagem da parte ácida da parte alcoólica, liberando a parte ácida na forma catiônica (figura 46) (Silverstein & Webster, 2000). Este fragmento aparece no cromatograma de maneira bastante abundante, em alguns casos, como o pico base.

Figura 46. Rearranjo de McLafferty com captura de hidreto pelo oxigênio da carbonila, característico de ésteres com as partes ácida e alcoólica longas (modificado de Silverstein & Webster, 2000). Os saltos eletrônicos estão representados pelas setas em vermelho; os círculos vermelhos representam os elétrons de interesse. O fragmento contendo **R** indica a porção ácida do éster e o fragmento contendo **R'** indica a porção alcólica do éster.

Além disso, dois outros fragmentos também podem ser usados para reconhecer o padrão de fragmentação dos ésteres graxos saturados, o fragmento que corresponde a parte alcoólica $[R'-1]^+$, (em que R' corresponde à parte alcoólica do éster) e o fragmento que corresponde a parte alcoólica junto à carbonila $[R'OOC]^+$. Entretanto, estes dois fragmentos são pouco abundantes (figura 47) (Christie, 2017). Os fragmentos m/z 71, 83, 97 e 111 também são encontrados com abundâncias decrescentes em relação ao fragmento de m/z 57.

Figura 47. Padrão de fragmentação de ésteres graxos saturados usando-se de exemplo o espectro de massas do hexadecanoato de hexacosenila. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original.

Após o reconhecimento do pico do $M^{+•}$ e do fragmento $[RCO_2H_2]^{+•}$ é possível obter-se o número de carbonos da parte ácida do éster e o número de carbonos total deste éster. Para isto, é necessária a transformação da fórmula molecular básica do íon molecular do éster graxo saturado e do fragmento $[RCO_2H_2]^{+•}$ em equações nas quais os números atômicos dos átomos da molécula são usados para calcular quantas unidades de CH_2 se repetem nas cadeias carbônicas da parte ácida e da parte alcoólica do éster.

Deste modo, considerando o fragmento correspondente a parte ácida temos a seguinte fórmula $RCO_2H_2^{+} = 15 + (14 * n) + 12 + (2 * 17)$. O número de carbonos da parte ácida será dado por $n + 2$, em que n corresponde ao número de CH_2 que se repetem na parte ácida e o valor de $RCO_2H_2^{+}$ corresponde à massa deste fragmento.

Para o cálculo do número total de carbonos dos ésteres graxos saturados o mesmo raciocínio deve ser seguido, utilizando-se a seguinte fórmula $M^{+} = 15 + (14 * n) + 12 + (2 * 16) + (14 * z) + 15$, em que M^{+} corresponde à massa do íon molecular, n ao número de CH_2 que se repetem na parte ácida e z ao número de CH_2 que se repetem na parte alcoólica. O número total de carbonos do éster será obtido através de $z + n + 3$.

Por último, após identificar o número de carbonos totais do éster e o tamanho de sua parte ácida, subtraindo um pelo outro é obtido o número de carbonos da parte alcoólica, sendo possível assim nomear a molécula (figura iii, *Anexos*).

Apenas um éster foi identificado nas ceras dos indivíduos estudados, o hexadecanoato de hexacosenila (tabela 7, figura 47). Esta substância foi identificada em baixíssimas quantidades e restrita a apenas 7 indivíduos do total, pertencentes às espécies *Homalolepis cedron*, *H. cuneata*, *H. paraenses*, *H. trichilioides* e *Simaba obovata* (tabela 10). É bastante comum a presença de ésteres com 30 a 60 carbonos nas plantas (Barthlott et al., 2017), principalmente aqueles que possuem a parte ácida derivada do ácido hexadecanoico (Siqueira et al., 2003). O único éster encontrado, assim como as substâncias de série homólogas descritas anteriormente, também está dentro do padrão comum esperado para as ceras vegetais, com a parte ácida correspondente ao C16:0.

Nas ceras foliares de Sapindales, os ésteres foram apenas identificados nas ceras de duas espécies de *Citrus*, *C. halimii* (Guelz et al., 1987) e *C. aurantium* (Reynhardt & Riederer, 1991). Em *C. halimii* foi encontrado grande variedade de ésteres, com cadeias de 42 a 54 carbonos. Entretanto, quantitativamente, eles representaram uma parte menor que 1% da cera total. Em relação à diversidade de substâncias, a variedade dos ésteres em *C. halimii* foi bastante superior àquela vista neste estudo, porém as quantidades relativas ao total de cera foram semelhantes. Em *C. aurantium* também foi encontrado grande variedade de ésteres, entre 36 a 53 carbonos, perfazendo pouco mais de 30% da cera total, bastante distinto de *C. halimii* e das espécies de *Homalolepis* e *Simaba*.

O fitol (tabela 7) foi identificado a partir de seu derivado trimetilsililado (figura 48) através da comparação com a biblioteca digital NIST e comparação com a literatura (Sun, 2000). Sua fragmentação é caracterizada pela clivagem entre os carbonos 3 e 5 formando o fragmento de m/z 143 muito abundante e praticamente único no espectro de massas. Ao contrário do éster, o fitol foi identificado em grande número de indivíduos de diferentes espécies, porém em baixíssimas quantidades (tabela 10).

Não foram encontrados na literatura estudos que mostrem a presença de fitol livre como componente das ceras cuticulares. Na literatura é visto que o fitol pode ser produto da degradação de clorofila ou de tocoferol (Dorp et al., 2015). A presença em baixas quantidades desta substância nas amostras pode ser indicativo de ser produto de degradação de clorofila, que eventualmente pode ter sido extraída junto com as ceras, ou devido à degradação de parte dos tocoferóis presentes nas ceras.

Figura 48. Espectro de massa do fitol e formação do pico de m/z 143 através da clivagem entre os carbonos 3 e 5 (Sun, 2000).

5.3.5 Substâncias cíclicas

Algumas substâncias não possuem um padrão de fragmentação facilmente reconhecível e repetitivo como o que ocorre com as substâncias de série homóloga, por exemplo, os triterpenos e esteroides. Tais classes de substâncias apesar de possuírem estruturas moleculares básicas características, podem apresentar diferentes funções orgânicas e cadeias laterais (Dewick, 2009), diferenças estas que tornam a interpretação dos espectros de massas mais complexa. Entretanto, a formação de alguns fragmentos destas substâncias é conhecida e segue um padrão relacionado com a função orgânica presente e número de anéis (Andrási et al., 2011).

Ao todo foram encontrados 5 esteroides nas ceras dos indivíduos analisados (tabela 7), que possuem origem de biossíntese a partir do cicloartenol. Quatro deles são caracterizados por serem hidroxilados e apresentar em sua estrutura a presença de dupla ligação entre os carbonos 5 e 6 no anel B. Estes esteroides hidroxilados foram identificados como campesterol, estigmasterol, β -sitosterol e colesterol a partir de seus derivados trimetilsililados. O outro esteroide identificado foi a sitostenona, caracterizada por apresentar a função cetona em sua estrutura e dupla ligação no anel A entre os carbonos 4 e 5.

A fragmentação dos esteroides trimetilsililados que apresentam originalmente uma hidroxila no carbono 3 do anel A e uma dupla ligação entre os carbonos 5 e 6, como o β -sitosterol TMSi (figura 49), estigmasterol TMSi, campesterol TMSi e colesterol TMSi (figura iv, Anexos), é caracterizada pela presença do íon molecular em baixa abundância, porém identificável (figura 49, fragmento de m/z 486).

Figura 49. Padrão de fragmentação de derivados trimetilsililados de esteroides hidroxilados com dupla ligação entre os carbonos 5 e 6 do anel B, usando-se de exemplo o espectro de massas do β -sitosterol trimetilsililil. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original. Letras e números em vermelho na representação estrutural indicam a posição dos anéis e carbonos respectivamente.

Também está presente em baixa abundância o fragmento $[M-15]^+$ (figura 49, fragmento de m/z 471). O pico base destas substâncias corresponde ao fragmento contendo o grupo trimetilsililil de m/z 129, que é formado pela clivagem do anel A na região entre os carbonos 1-2 e 3-4. Outra clivagem nesta mesma região origina um fragmento bastante abundante, correspondente aos anéis B, C e D ($[M-129]^+$) (figura 49, fragmento de m/z 357). Outro fragmento característico e abundante é formado pela perda do oxigênio junto ao grupo trimetilsililil, correspondendo aos anéis A, B, C e D junto à cadeia lateral ($[M-90]^+$) (figura 49, fragmento de m/z 396). Outros dois fragmentos característicos são formados em baixas abundâncias, ambos correspondentes a perda do oxigênio com o grupo trimetilsililil, porém um deles ocorre também a perda da cadeia lateral (figura 49, fragmento de m/z 255) enquanto

que o outro ocorre também a perda da cadeia lateral junto a parte do anel D (figura 49, fragmento de m/z 213) (Noronha, 2001; András et al., 2011).

A fragmentação dos 4-cetosteroides, como a sitostenona (figura 50), é um pouco diferente da dos esteroides mostrados acima.

Figura 50. Padrão de fragmentação de derivados trimetilsililados de 4-cetoesteroides, usando-se de exemplo o espectro de massas da sitostenona. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original. Letras e números em vermelho na representação estrutural indicam a posição dos anéis e carbonos respectivamente.

O pico base corresponde ao fragmento de m/z 124, formado pela clivagem do anel B entre os carbonos 9-10 e 6-7. A clivagem nesta mesma região origina o fragmento $[M-124]^+•$ (figura 50, fragmento de m/z 288) encontrado em baixa abundância. Outro fragmento bastante abundante é formado pela clivagem do anel D entre os carbonos 13-17 e 14-15 (figura 50, fragmento de m/z 229). O fragmento $[M-42]^+•$ (figura 50, fragmento de m/z 370) também é bastante característico neste tipo de esteroide, porém aparece em baixa abundância, ele é formado pela perda do oxigênio e dois carbonos do anel A. O íon molecular e o $[M-15]^+•$ também estão presentes em baixa abundância (figura 50, fragmento de m/z 412 e 407 respectivamente) (Noronha, 2001).

Com relação aos triterpenos, foram identificados nas amostras analisadas, a lupeona, o lupeol e o lanosterol, sendo que estes dois últimos foram identificados a partir de seus derivados trimetilsililados (tabela 7). A lupeona e o lupeol apresentam esqueletos derivados da série do lupano e apresentam a formação de alguns fragmentos em comum, porém presentes em abundâncias diferentes.

A lupenona (figura 51) e o lupeol TMSi (figura 52) possuem em comum a formação de três fragmentos bastante característicos, que são também característicos de modo geral em triterpenos pentacíclicos, os quais se incluem os triterpenos derivados da série do oleanano e ursano. Estes três fragmentos são originados a partir de clivagens no anel C. A primeira clivagem ocorre fragmentando o anel C entre os carbonos 8-14 e 12-13, liberando na forma catiônica um fragmento que corresponde aos anéis D e E junto à cadeia carbônica lateral ($[DE+CL]^+$); tanto no lupeol TMSi quanto na lupeona estes fragmentos possuem m/z 189, entretanto no lupeol ele apresenta-se mais abundante em relação à lupeona. Os outros dois fragmentos são originados a partir da mesma região de clivagem que ocorre entre os carbonos 8-14 e 9-11. Um destes fragmentos é formado a partir da reação de retro-*Diels-Alder* (RDA) e leva à formação do fragmento correspondente aos anéis D e E junto a cadeia carbônica lateral e a alguns carbonos do anel C ($[RDA]^+$); tanto no lupeol TMSi quanto na lupeona este fragmento possui m/z 218 e apresentam abundâncias medianas no espectro de massas. O outro fragmento corresponde aos anéis A e B com adição de dois hidrogênios ($[AB+2H]^+$); no lupeol TMSi este fragmento apresenta m/z 279 e encontra-se em baixa abundância, já na lupeona este fragmento possui m/z 205 e encontra-se em abundância muito elevada (Noronha, 2001).

O fragmento formado pela perda da cadeia carbônica lateral ($[M-43]^+$) tanto no lupeol TMSi quanto na lupeona também é bastante característico destas duas substâncias, entretanto se apresentam em baixa abundância (Noronha, 2001). No lupeol TMSi este fragmento apresenta m/z 455, já na lupeona 381. Além disso, em ambos está presente o íon molecular e o $[M-15]^+$ em baixas abundâncias.

Figura 51. Padrão de fragmentação de triterpenos com função cetona de origem a partir da série do lupano, usando-se de exemplo a lupeona. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original. Letras e números em vermelho na representação estrutural indicam a posição dos anéis e carbonos respectivamente.

Figura 52. Padrão de fragmentação de triterpenos hidroxilados derivatizados de origem a partir da série do lupano, usando-se de exemplo o lupeol trimetilsilil. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original. Letras e números em vermelho na representação estrutural indicam a posição dos anéis e carbonos respectivamente.

Um fragmento bastante característico formado no lupeol TMSi ocorre devido a eliminação do oxigênio ligado ao grupo trimetilsililil ([M-90]⁺) de *m/z* 408 que ocorre no espectro de massas em baixa abundância. Também há a formação do fragmento de *m/z* 73, que corresponde ao fragmento do trimetilsililil ([Si(CH₃)₃]⁺), presente em grande quantidade.

O lanosterol TMSi (figura 53) diferente da lupeona e lupeol, é um triterpeno tetracíclico e apresenta a fragmentação diferente do visto para os triterpenos pentacíclicos. Seu espectro de massas é caracterizado pela presença do íon molecular com *m/z* 498 e [M-15]⁺ com *m/z* 483 (Kolesnikova et al., 2006). Outro fragmento característico é formado provavelmente pela perda do oxigênio ligado ao grupo trimetilsililil mais uma metila [M-OSi(CH₃)₃-15]⁺ com *m/z* 393 (Massaro et al., 2015).

Figura 53. Espectro de massas do lanosterol TMSi.

Além dos padrões de fragmentação dos esteroides e triterpenos, também foram usados espectros de massas dos mesmos encontrados na literatura (Budzikiewicz et al., 1963; Knights et al., 1967; Brooks et al., 1968; Guelz et al., 1987) e auxílio da biblioteca digital da NIST (tabela 7) como suporte para a identificação destas substâncias.

Os triterpenos foram encontrados apenas em poucos indivíduos de algumas espécies e em teores bastante baixos (tabela 11). Nenhum indivíduo apresentou os três triterpenos juntos na cera. Os maiores teores de triterpenos foram encontrados em dois indivíduos de *Simaba guianensis*, que apresentaram 3,48 e 4,81 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de lupeol, representando cerca de 10% da cera total.

Os esteroides por outro lado encontram-se em praticamente todos os indivíduos (tabela 11). O β -sitosterol foi o que ocorreu em maior abundância, de um modo geral, entre as espécies estudadas, apresentando teores bastante elevados em indivíduos de *H. intermedia*, *H. pohliana* e *H. suffruticosa*. O campesterol e o estigmasterol, apesar de ocorrerem em abundâncias baixas, encontram-se presentes em muitos indivíduos tanto de *Simaba* s.s. como de *Homalolepis*. A sitostenona e o colesterol foram encontrados em baixo teor e em poucos indivíduos. Nos indivíduos 24 (*H. cedron*) e 57 (*H. intermedia*), a fração de esteroides nas ceras foi bastante elevada, representando 21,27% e 30,59% da cera total, respectivamente.

De acordo com o encontrado para os grupos próximos, os esteroides e triterpenos não representam uma fração grande nas ceras foliares de Sapindales, semelhante ao que foi visto com as espécies de *Homalolepis* e *Simaba* s.s. estudadas. Uma exceção foi vista nas ceras foliares de *Citrus halimii* (Guelz et al., 1987), em que a fração de triterpenos representou 65% das ceras totais, sendo composta por lupeona, friedelan-3-ona, lupeol e por α e β -amirina. Além disso, também foram encontrados esteroides como o colesterol, campesterol, estigmasterol e β -sitosterol, representando uma fração bastante baixa das ceras totais, cerca de 1%.

Dos triterpenos encontrados nas espécies estudadas, apenas o lupeol e a lupeona foram identificados também em espécies de grupos próximos, como em *C. halimii* (Guelz et al., 1987) e *Zanthoxylum tingoassuiba* (Dias-Leme et al., 2013). Já a presença do lanosterol nas ceras não é comum. Um único estudo foi encontrado mostrando a presença do lanosterol na cera de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) em baixas quantidades (Leide et al., 2007). Em grupos próximos de *Homalolepis* e *Simaba* s.s. apenas foi encontrado um derivado do lanosterol, o diidrolanosterol, presente em ceras de frutos de *C. unhiu*, compreendendo apenas a cerca de 5% da fração terpênica (Wang et al., 2014).

A raridade do lanosterol em ceras pode ser explicada, uma vez que sua síntese a partir da ciclização do 2,3-oxidoesqualeno ocorre preferencialmente em animais e fungos. A presença desta rota alternativa de biossíntese de esteroides pode auxiliar as plantas a se adaptarem ao ambiente, uma vez que esta rota de ciclização do 2,3-oxidoesqualeno em

lanosterol ao invés de cicloartenol possibilita a biossíntese de substâncias diferentes das derivadas do cicloartenol (Kolesnikova et al., 2006; Suzuki et al., 2006). Entretanto, ainda não se sabe exatamente as funções fisiológicas que o lanosterol e seus derivados possuem nas plantas (Kolesnikova et al., 2006).

Em relação aos esteroides, estes já foram identificados também na cera foliar de *C. halimii* (Guelz et al., 1987). Além disso, na cera foliar de *C. unshui* foi encontrado campesterol em baixa abundância (1% da cera total) (Wang et al., 2014).

De acordo com o levantamento realizado sobre as ceras de Sapindales (tabela 1.1), em frutos a proporção de triterpenos tende ser bastante elevada e também é comum a presença de esteroides, como por exemplo, em *C. paradisi* (McDonald et al., 1983; Nordby et al., 1994), *C. sinensis* (Liu et al., 2012) e *C. unshiu* (Wang et al., 2014).

A princípio, os baixos teores de triterpenos encontrados nas ceras dos indivíduos estudados causou surpresa, uma vez que as espécies de Simaroubaceae são caracterizadas por apresentar uma rota de síntese de triterpenos bastante robusta, como pode ser visto na síntese dos quassinoides (Guo et al., 2005; Vieira & Braz-Filho, 2006). Entretanto, estudos sobre a composição química de diferentes espécies de Simaroubaceae mostram que os quassinoides são encontrados principalmente no caule, casca e raízes destas plantas (Dutra et al., 1992; Barbosa et al., 2011; Alves et al., 2014). Diante disto e também devido a ausência de informações na literatura sobre as ceras de Simaroubaceae, sugere-se que as vias de síntese envolvidas na produção de triterpenos são mais expressivas em outros órgãos vegetais que nas folhas. Isto pode ser uma explicação para a presença de baixos teores destas substâncias nas ceras dos indivíduos estudados, mesmo eles pertencendo a plantas quimicamente caracterizadas por apresentar a via de síntese de triterpenos bastante desenvolvida e complexa.

Os tocoferóis apesar de serem substâncias cíclicas, apresentam um padrão de fragmentação bastante simples, com poucas variações entre seus homólogos. Eles também apresentam praticamente o mesmo padrão de fragmentação entre seus derivados trimetilsililados e não trimetilsililados. Eles são caracterizados pela formação de dois fragmentos, um deles ocorre devido à perda da cadeia carbônica lateral e o outro ocorre a partir da clivagem do anel B entre os carbonos 1-2 e entre o oxigênio e o carbono 3, assim como visto no α -tocoferol TMSi por exemplo (figura 54). O fragmento $[M-225]^+$ correspondente a perda da cadeia carbônica lateral aparece em baixa abundância e no exemplo

utilizado apresenta m/z 277. Já o fragmento $[M-(40+225)]^{+*}$ que corresponde a clivagem do anel B apresenta abundância muito alta, geralmente o pico base, que no exemplo utilizado apresenta m/z 237. Além disso, os tocoferóis apresentam o pico do íon molecular em grande abundância (Rao & Perkins 1972; Andreoli, 2003).

Figura 54. Padrão de fragmentação de tocoferóis, usando-se de exemplo o α -tocopherol trimetilsililil. Registros em vermelho indicam valores adicionados ao espectro de massa original. Letras e números em vermelho na representação estrutural indicam a posição dos anéis e carbonos respectivamente.

Foram encontrados nas amostras três tocoferóis diferentes, α , β e γ -tocopherol. Os três foram identificados na CG-EM através de seus derivados trimetilsililados, entretanto o α -tocopherol também foi visto em sua forma não derivatizada (tabela 7) (figura 54 e 55).

O α -tocopherol TMSi pode ser facilmente discernido do β e γ -tocopherol TMSi por apresentar massa molecular diferente. Entretanto a diferença entre o β e γ -tocopherol TMSi é bastante sutil, visto que ambos possuem a mesma massa molecular e possuem fragmentações na CG-EM muito semelhantes. De acordo com Rao e Perkins (1972), o espectro de massas do β -tocopherol TMSi caracteriza-se por apresentar o pico de m/z 223 ($[M-(40+225)]^{+*}$) em menor abundância que no γ -tocopherol TMSi. Deste modo, o β -tocopherol TMSi foi identificado por apresentar o fragmento de m/z 223 em menor abundância que o fragmento de m/z 222, já o γ -tocopherol TMSi foi identificado pelo contrário, nele o fragmento de m/z 223 encontra-se maior que o de 222 (figura 55). A presença de ambos os espectros de massas em um mesmo

indivíduo é uma prova de que estes espectros de massas apesar de serem muito semelhantes pertencem a duas substâncias diferentes.

Figura 55. Espectros de massas do α-tocopherol, β-tocopherol TMSi e γ-tocopherol TMSi.

Os tocoferóis, de modo geral, foram encontrados em diversos indivíduos quase sempre em baixas quantidades, sendo o principal o α-tocopherol seguido pelo γ-tocopherol (tabela 1.8). O β-tocopherol foi o mais raro, aparecendo em *H. intermedia*, *H. salubris*, *H. pumila*,

H. suffruticosa, *H. tocantina*. Teores elevados de tocoferóis foram encontrados, principalmente devido a presença do α -tocoferol, excepcionalmente em *H. glabra*, *H. pumila* e *H. trichilioides*.

Não há relato da presença de tocoferol como constituinte das ceras cuticulares em outros representantes de Sapindales. Entretanto, a presença destas substâncias nas ceras já foi vista em *Rubus idaeus* L. (Robertson et al., 1991; Shepherd et al., 1999a) e *Kigelia africana* Lam. (Olubunmi et al., 2011). De acordo com Shepherd e colaboradores (1999a), a presença desta classe de substâncias nas ceras não é comum.

A presença de tocoferóis e também dos esteroides e triterpenos nas ceras têm um importante papel na proteção da planta contra possíveis estresses bióticos, principalmente atuando como dissuasores contra a herbivoria de insetos (Salatino et al., 1998; Shepherd et al., 1999a; Kunst & Samules, 2003). Também foi visto que os tocoferóis das ceras podem atuar protegendo os tecidos da planta contra o estresse oxidativo (Olubunmi et al., 2011).

Tabela 7. Substâncias identificadas nas ceras de *Homalolepis*, *Simaba* e grupo externo.

SUBSTÂNCIA		TR*	SEIS PICOS MAJORITÁRIOS**	SEIS PICOS MAJORITÁRIOS DA NIST***	m/z
ALCANOS					M*•
1	<i>n</i> -Heneicosano	28,027	57 (999); 71 (647); 85 (382); 99 (134); 56 (113); 72 (89)	-	296
2	<i>n</i> -Docosano	29,805	57 (999); 71 (671); 85 (417); 99 (151); 97 (95); 70 (86)	-	310
3	<i>n</i> -Tricosano	31,184	57 (999); 71 (659); 85 (431); 99 (122); 56 (113); 55 (77)	-	324
4	<i>n</i> -Tetracosano	32,832	57 (999); 71 (755); 85 (433); 55 (155); 99 (155); 56 (132)	-	338
5	<i>n</i> -Pentacosano	34,413	57 (999); 71 (747); 43 (595); 85 (492); 55 (231); 41 (226)	-	352
6	<i>n</i> -Hexacosano	35,942	57 (999); 71 (735); 43 (603); 85 (516); 55 (244); 41 (242)	-	366
7	<i>n</i> -Heptacosano	37,411	57 (999); 71 (734); 43 (649); 85 (508); 55 (272); 41 (240)	-	380
8	<i>n</i> -Octacosano	38,839	57 (999); 71 (754); 43 (583); 85 (535); 55 (263); 41 (214)	-	394
9	<i>n</i> -Nonacosano	40,223	57 (999); 71 (719); 43 (602); 85 (498); 55 (253); 41 (192)	-	408
10	<i>n</i> -Triacotano	41,549	57 (999); 71 (770); 43 (564); 85 (549); 55 (207); 41 (178)	-	422
11	<i>n</i> -Hentriacontano	42,832	57 (999); 71 (691); 43 (544); 85 (460); 99 (166); 55 (164)	-	436
12	<i>n</i> -Dotriacontano	44,106	57 (999); 71 (738); 43 (562); 85 (523); 55 (194); 99 (177)	-	450
13	<i>n</i> -Tritriacontano	45,305	57 (999); 71 (793); 43 (558); 85 (486); 55 (225); 83 (192)	-	464
14	<i>n</i> -Tetratriacontano	46,519	57 (999); 71 (730); 43 (543); 85 (535); 55 (228); 69 (181)	-	478
15	<i>n</i> -Pentatriacontano	47,657	57 (999); 71 (784); 43 (569); 85 (532); 55 (212); 69 (210)	-	492
ÁCIDOS GRAXOS SATURADOS DERIVATIZADOS					[M*•-15]*•
16	Ác. dodecanoico TMSi éster*	18,739	117 (999); 75 (921); 257 (782); 129 (369); 132 (238); 55 (150)	-	257
17	Ác. tridecanoico TMSi éster	20,871	117 (999); 271 (782); 75 (711); 129 (341); 132 (232); 41 (182)	-	271
18	Ác. tetradecanoico TMSi éster	22,944	117 (999); 75 (844); 285 (607); 129 (444); 132 (302); 42 (264)	-	285
19	Ác. pentadecanoico TMSi éster	24,898	117 (999); 75 (836); 299 (610); 129 (464); 43 (418); 132 (307)	-	299
20	Ác. hexadecanoico TMSi éster	26,775	117 (999); 73 (831); 75 (761); 313 (541); 129 (439); 132 (319)	-	313
21	Ác. heptadecanoico TMSi éster	28,578	117 (999); 75 (667); 327 (575); 129 (470); 43 (403); 132 (337)	-	327
22	Ác. octadecanoico TMSi éster	30,301	117 (999); 75 (711); 129 (461); 43 (391); 132 (334); 55 (314)	-	341
23	Ác. nonadecanoico TMSi éster	31,958	117 (999); 355 (590); 43 (510); 55 (471); 57 (424); 75 (422)	-	355
24	Ác. eicosanoico TMSi éster	33,555	117 (999); 75 (687); 129 (474); 43 (459); 369 (458); 132 (353)	-	369
25	Ác. docosanoico TMSi éster	36,596	117 (999); 73 (712); 75 (632); 129 (446); 43 (436); 397 (431)	-	397
26	Ác. tricosanoico TMSi éster	38,023	117 (999); 43 (683); 129 (576); 145 (523); 411 (497); 75 (456)	-	411
27	Ác. tetracosanoico TMSi éster	39,416	117 (999); 75 (626); 43 (495); 145 (474); 129 (464); 132 (417)	-	425
28	Ác. pentacosanoico TMSi éster	40,776	117 (999); 75 (601); 145 (572); 439 (547); 129 (536); 132 (467)	-	439
29	Ác. hexacosanoico TMSi éster	42,075	117 (999); 43 (703); 132 (586); 129 (543); 55 (464); 145 (438)	-	453
30	Ác. heptacosanoico TMSi éster	42,186	117 (999); 129 (630); 145 (455); 467 (427); 132 (273); 55 (191)	-	467
31	Ác. octacosanoico TMSi éster	44,59	117 (999); 43 (587); 145 (556); 129 (542); 57 (520); 132 (480)	-	481

Continua na página seguinte

32	Ác. nonacoisanoico TMSi éster	45,796	117 (999); 145 (595); 43 (574); 75 (570); 129 (515); 57 (503)	-	495
33	Ác. tricontanoico TMSi éster	46,943	117 (999); 43 (604); 57 (592); 145 (589); 129 (496); 75 (495)	-	509
34	Ác. hentriacontanoico TMSi éster	48,118	117 (999); 73 (786); 75 (746); 57 (712); 145 (535); 523 (445)	-	523
35	Ác. dotriacontanoico TMSi éster	49,177	117 (999); 73 (987); 75 (887); 43 (771); 57 (618); 145 (589)	-	537
36	Ác. tritriacontanoico TMSi éster	50,367	73 (999); 117 (954); 57 (701); 75 (690); 43 (660); 145 (575)	-	551
37	Ác. tetratriacontanoico TMSi éster	51,701	117 (999); 73 (722); 145 (681); 75 (475); 57 (461); 132 (458)	-	565
ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS DERIVATIZADOS					[M*-15]*•
38	Ác. octadecanodioico bis-TMSi éster	19,86	73 (999); 75 (886); 55 (347); 187 (309); 147 (290); 169 (260)	73 (999); 75 (810); 303 (395); 55 (365); 187 (315); 169 (215)	303
39	Ác. nonadecanodioico bis-TMSi éster	21,967	73 (999); 75 (812); 55 (345); 317 (303); 201 (284); 129 (261)	73 (999); 75 (869); 55 (384); 129 (315); 317 (268); 117 (258)	317
40	Ác. linoleico TMSi éster (18:2)	29,723	75 (999); 73 (812); 67 (713); 81 (626); 55 (461); 95 (428)	75 (999); 73 (900); 67 (600); 55 (500); 81 (440); 41 (400)	337
41	Ác. α-linolênico TMSi éster (18:3)	30,032	75 (999); 79 (805); 73 (799); 67 (524); 95 (449); 55 (414)	73 (999); 75 (980); 79 (845); 67 (596); 95 (485); 55 (481)	335
42	Ác. oleico TMSi éster (18:1)	29,834	73 (999); 75 (994); 117 (882); 129 (682); 339 (538); 55 (523)	117 (999); 73 (998); 339 (997); 75 (929); 129 (864); 55 (507)	339
ÁLCOOIS PRIMÁRIOS SATURADOS DERIVATIZADOS					[M*-15]*•
43	1-hexadecanol TMSi éter	25.161	299 (999); 75 (664); 300 (269); 97 (229); 83 (209); 43 (196)	-	299
44	1-octadecanol TMSi éter	28.806	327 (999); 75 (715); 43 (408); 83 (297); 328 (281); 57 (280)	-	327
45	1-eicosanol TMSi éter	32.153	355 (999); 75 (616); 43 (360); 356 (314); 57 (306); 83 (247)	-	355
46	1-dodecanol TMSi éter	35.262	383 (999); 75 (805); 43 (610); 57 (385); 384 (349); 83 (299)	-	383
47	1-tetracosanol TMSi éter	38.168	411 (999); 75 (695); 57 (360); 412 (352); 43 (315); 97 (277)	-	411
48	1-hexacosanol TMSi éter	40.886	439 (999); 75 (531); 440 (382); 43 (359); 57 (338); 83 (261)	-	439
49	1-heptacosanol TMSi éter	42.186	453 (999); 75 (572); 57 (440); 43 (403); 454 (380); 69 (252)	-	453
50	1-octacosanol TMSi éter	43.452	467 (999); 75 (699); 57 (466); 43 (395); 468 (371); 103 (303)	-	467
51	1-nonacosanol TMSi éter	44.667	481 (999); 75 (922); 57 (844); 43 (782); 83 (539); 71 (498)	-	481
52	1-tricontanol TMSi éter	45.856	495 (999); 75 (684); 57 (562); 43 (418); 496 (379); 97 (308)	-	495
53	1-hentriacontanol TMSi éter	47.011	509 (999); 75 (824); 57 (613); 43 (531); 71 (410); 510 (408)	-	509
54	1-dotriacontanol TMSi éter	48.124	75 (999); 57 (716); 43 (710); 97 (673); 523 (564); 69 (487)	-	523
55	1-tritriacontanol TMSi éter	49.237	75 (999); 73 (939); 43 (689); 57 (686); 537 (666); 55 (464)	-	537
56	1-tetratriacontanol TMSi éter	50.409	75 (999); 551 (833); 57 (819); 73 (762); 43 (676); 71 (496)	-	551
57	1-hexatriacontanol TMSi éter	53,893	579 (999); 57 (962); 75 (790); 43 (463); 69 (419); 97 (384)	-	579
ÉSTER					M*•
58	hexadecanoato de hexacosenila	51,038	257 (999); 57 (827); 73 (745); 43 (610); 55 (551); 97 (547)	-	620
TRITERPENOS					M*•
59	Lupeona (lup-20(30)-en-3-one)	46,247	95 (999); 109 (925); 205 (897); 81(803); 107 (783); 93 (777)	205 (999); 109 (759); 96 (669); 424 (626); 81 (485); 121 (473)	424
60	Lupeol TMS	46,658	73 (999); 75 (755); 109 (694); 95 (693); 189 (600); 81 (587)	73 (999); 75 (682); 95 (633); 109 (618); 81 (557); 189 (550)	498
61	Lanosterol TMSi (3-β-lanosta-9(11),24-dien-3-iloxi TMSi)	46,700	69 (999); 73 (545); 55 (430); 75 (415); 109 (361); 95 (355)	69 (999); 393 (840); 73 (510); 109 (460); 55 (390); 95 (380)	498

Continua na página seguinte

ESTEROIDES					M*•
62	Colesterol TMSi	43,605	57 (999); 129 (902); 71 (674); 55 (491); 85 (331); 83 (303)	329 (999); 129 (972); 368 (692); 73 (544); 75 (424); 43 (384)	458
63	Campesterol TMSi	44,144	129 (999); 73 (505); 343 (487); 75 (375); 95 (368); 107 (307)	129 (999); 43 (747); 73 (709); 343 (570); 75 (501); 382 (457)	472
64	Estigmasterol TMSi	44,522	83 (999); 129 (623); 55 (538); 69 (462); 73 (447); 81 (399)	83 (999); 55 (772); 129 (620); 73 (579); 69 (576); 81 (441)	484
65	β-sitosterol TMSi	45,260	129 (999); 357 (532); 73 (479); 95 (355); 396 (351); 75 (347)	129 (999); 357 (907); 396 (880); 73 (642); 43 (637); 486 (477)	486
66	Sitostenona (estigmast-4-en-3-one)	47,190	124 (999); 43 (421); 229 (390); 53 (301); 95 (261); 41 (224)	124 (999); 43 (567); 55 (506); 412 (394); 41 (366); 229 (344)	412
TOCOFEROIS					M*•
67	γ-tocoferol TMSi	41,702	223 (999); 488 (898); 222 (479); 489 (320); 224 (218); 43 (212)	488 (999); 489 (367); 223 (168); 222 (160); 490 (101); 224 (58)	488
68	β-tocoferol TMSi	41,910	223 (999); 488 (556); 22 (489); 57 (268); 489 (242); 224 (206)	222 (999); 73 (995); 488 (686); 223 (589); 489 (253); 263 (218)	488
69	α-tocoferol	43,299	165 (999); 430 (470); 164 (328); 43 (169); 431 (163); 166 (128)	165 (999); 430 (494); 164 (332); 43 (178); 431 (155); 166 (122)	430
70	α-tocoferol TMSi	43,528	237 (999); 502 (705); 236 (517); 43 (390); 73 (364); 503 (289)	237 (999); 502 (972); 236 (521); 503 (386); 73 (366); 238 (194)	502
OUTROS					[M*-15]*•
71	Fitol TMSi	29,180	143 (999); 75 (201); 73 (130); 144 (127); 123 (106); 43 (93)	143 (999); 73 (250); 75 (205); 144 (180); 123 (170); 43 (89)	353

*TR: Tempo de retenção em minutos (pode ter variado ± 0,2 min entre os indivíduos). **O valor fora dos parênteses indica a massa do fragmento, enquanto que os de dentro indicam sua proporção no espectro de massas. ***Os picos majoritários da NIST das substâncias de série homóloga não foram coletados.

Tabela 8. Quantificação e distribuição dos ácidos graxos encontrados nos indivíduos submetidos a caracterização química das ceras.

Nº	ESPÉCIE	CLASSE (%)	C12:0*	C13:0	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	C19:0	C20:0	C22:0	C23:0	C24:0	C25:0	C26:0	C27:0	C28:0	C29:0	C30:0	C31:0	C32:0	C33:0	C34:0	C18:1	C18:2	C18:3	OCTA	NONA
17	<i>Homalolepis arenaria</i>	45,54	0,02	0,01	0,09	0,06	3,24	0,26	0,41	0,01	0,02	0,05	0,04	0,54	0,04	0,30		0,06	0,03	0,11		0,24	0,12	0,08	0,05	0,01		0,01	0,14
59	<i>H. arenaria</i>	48,35	0,09			0,13	3,55	0,19	0,90		0,04	0,34	0,10	9,25	0,25	2,84		0,10	0,03	0,47		0,24			3,16	0,96			
12	<i>H. bahiensis</i>	36,35	0,04		0,10	0,18	5,85	0,34	0,90		0,05	0,08	0,07	0,24	0,06	0,11		0,12	0,07	0,53		0,29			0,12			0,11	0,61
24	<i>H. cedron</i>	54,63	0,09		0,39	0,57	5,56	0,32	0,75		0,31	1,62	0,04	0,44		0,07		0,04		0,14		0,14			1,58	0,48		0,04	0,30
26	<i>H. cedron</i>	48,40	0,12		0,22	0,14	4,55	0,13	0,98			0,31	0,02	0,11		0,02		0,05	0,03	0,40		0,23			0,12			0,05	0,39
27	<i>H. cedron</i>	43,73	0,03		0,15	0,13	3,12	0,14	0,73		0,10	0,51	0,02	0,10	0,01	0,02				0,08		0,10		0,04				0,05	0,31
30	<i>H. cedron</i>	25,28	0,01	0,01	0,04	0,17	0,98	0,06	0,24		0,08	0,20	0,01	0,10	0,01	0,04		0,02	0,01	0,07		0,12		0,04	0,07	0,02		0,01	0,08
31	<i>H. cedron</i>	36,18	0,01	0,01	0,06	0,29	1,04	0,06	0,21		0,04	0,15	0,01	0,16	0,01	0,10		0,01		0,02		0,06		0,03	0,14	0,08		0,02	0,08
101	<i>H. cedron</i>	5,87	0,01		0,05	0,07	0,85	0,01	0,06			0,04		0,21		0,08				0,04		0,56			0,26	0,06			
102	<i>H. cedron</i>	8,77	0,11		0,37	0,57	4,29		0,29			0,19		0,44		0,14				0,52		2,45		0,89	2,20	0,21			
22	<i>H. cuneata</i>	65,13			0,03	0,02	3,44	0,06	1,33		0,02	0,05	0,01	0,19		0,04		0,03		0,21								0,04	0,19
23	<i>H. cuneata</i>	70,24	0,04		0,16	0,16	5,56	0,16	1,54		0,04	0,06	0,03	0,29	0,03	0,12		0,06	0,03	0,14		0,10			0,02			0,22	0,87
25	<i>H. cuneata</i>	40,78	0,10		0,19	0,28	6,04	0,27	1,08		0,04	0,09	0,05	0,23	0,05	0,09	0,05	0,17	0,15	0,85		0,36			0,07			0,11	0,64
85	<i>H. cuneata</i>	48,60			0,02	0,02	1,95	0,10	0,40			0,01		0,04		0,05		0,08		0,25		0,11				0,88	1,59		0,01
86	<i>H. cuneata</i>	43,64	0,02		0,05	0,04	3,24	0,13	0,51		0,04	0,03		0,08	0,02	0,08		0,17		0,61		0,18	0,08		0,06	1,01	1,68		0,03
87	<i>H. cuneata</i>	35,90			0,02	0,03	0,93		0,27					0,06	0,03	0,14		0,54	0,25	2,01		0,37			0,50	0,23			
8	<i>H. ferruginea</i>	26,37	0,01		0,03	0,05	5,48	0,10	0,77		0,03	0,03	0,03	0,13	0,02	0,22				0,12		0,08			0,03			0,07	0,55
11	<i>H. ferruginea</i>	35,42	0,09		0,20	0,12	13,97	0,38	2,03		0,11	0,04	0,03	0,15	0,05	0,05		0,11		0,61		0,36			3,73	0,82		0,05	0,32
37	<i>H. ferruginea</i>	56,19			0,03	0,03	5,09	0,11	1,11		0,01	0,03		0,05						0,08		0,19			3,64	0,61			0,03
55	<i>H. ferruginea</i>	30,56			0,05	0,04	2,47	0,04	0,65		0,02	0,01		0,06		0,20		0,13		0,37		0,24			2,76	2,73			0,01
56	<i>H. ferruginea</i>	31,69				0,09	1,25		0,35											0,07		0,12			2,38	0,54			
88	<i>H. floribunda</i>	13,32					0,14		0,06				0,03		0,07		0,08			0,55	0,12	0,48				0,03	0,13		
89	<i>H. floribunda</i>	36,77			0,04	0,02	2,27	0,10	0,32				0,03		0,02		0,08			0,43	0,14	0,30		0,02		0,21	2,95		
90	<i>H. floribunda</i>	42,86			0,01		0,50	0,01	0,13			0,01		0,06	0,01	0,10	0,06	0,23	0,22	1,36	0,49	1,02	0,10	0,05	0,11	0,05			0,01
91	<i>H. floribunda</i>	23,46			0,01		1,09		0,10						0,01	0,02	0,06	0,05	0,48	0,16	0,34				0,10				0,10
92	<i>H. floribunda</i>	31,53			0,01	0,01	0,92	0,01	0,14		0,01	0,01	0,01	0,08	0,01	0,07	0,01	0,04		0,16		0,08		0,01	0,12	0,06			0,04
45	<i>H. glabra</i>	27,68	0,14		0,18	0,21	5,30	0,52	1,23					0,05						0,78		0,77			3,35	0,84			
47	<i>H. glabra</i>	41,60			0,09	0,13	4,27	0,21	0,87					0,16		0,12		0,08		0,32		0,27			4,61	2,12			
118	<i>H. glabra</i>	6,79			0,08		4,21		0,25											1,09		1,19					0,64		
119	<i>H. glabra</i>	9,67			0,07		6,38		0,24											0,99		1,20					0,64		
16	<i>H. insignis</i>	44,45	0,01	0,01	0,04	0,05	2,31	0,11	0,21	0,01	0,01	0,03	0,02	0,06	0,01	0,01		0,01	0,01	0,06		0,06	0,02	0,02	0,33	0,12		0,01	0,14
18	<i>H. insignis</i>	73,98			0,02	0,04	2,31	0,05	0,21	0,01	0,01	0,05	0,01	0,84	0,03	0,55		0,03		0,03		0,05	0,02	0,02				0,10	0,35
32	<i>H. insignis</i>	56,78			0,01	0,02	1,49	0,03	0,20	0,01	0,02	0,03	0,03	0,41	0,02	0,30		0,02		0,01		0,03			0,41	0,27		0,01	0,11
33	<i>H. insignis</i>	27,34			0,04	0,07	1,94	0,14	0,31			0,01		0,08		0,04				0,05		0,06			1,08	0,42			
57	<i>H. intermedia</i>	32,56			0,33	0,77	12,49	0,47	1,49					0,35								0,41			5,66	0,82			
58	<i>H. intermedia</i>	35,45			0,81	0,16	8,37	0,25	1,41			0,08		0,33		0,15		0,17	0,11	0,86		2,70			1,86				0,06
15	<i>H. paraensis</i>	42,05	0,07		0,38	0,24	7,10	0,21	0,97		0,05	0,18	0,05	0,35	0,05	0,08		0,09	0,04	0,39		0,29			0,31	0,08		0,04	0,19
54	<i>H. paraensis</i>	47,35			0,13	0,08	8,52	0,15	1,90		0,05	0,08		0,14						0,75	0,18	0,22			0,11				0,49
1	<i>H. pohliana</i>	37,63	0,25		0,88	0,54	5,16	0,40	0,83		0,81	4,27	0,14	1,60	0,10	0,17					0,29				1,14	0,30			0,15

Continua na página seguinte

2	<i>H. pohliana</i>	42,72	0,68	2,67	0,44	48,06	1,33	3,42	0,65	3,39	0,28	2,53	0,48	1,92	8,59	1,16	0,65								
42	<i>H. pohliana</i>	44,13		0,26	0,11	15,59	0,37	1,95				0,12			7,02	1,58									
4	<i>H. salubris</i>	40,76	0,07	0,47	0,27	15,15	0,54	2,32	0,11	0,11	0,10	0,53	0,09	0,29	0,08	0,44	2,74	0,71	0,40						
39	<i>H. salubris</i>	71,06	0,01	0,04	0,07	3,11	0,06	0,47	0,01	0,02	0,02	0,01	0,42	0,02	0,45	0,02	0,36	0,13	0,01						
43	<i>H. salubris</i>	49,33	0,17	0,83	0,79	14,12		2,19	0,26	1,17		0,51			0,21	2,09	4,48	1,35							
108	<i>H. salubris</i>	29,72			0,11	4,51		0,29				0,06		0,18		0,21									
109	<i>H. salubris</i>	51,91		0,18	0,19	12,66	0,13	0,89				0,07		0,10		0,05	0,38	0,73	0,21						
6	<i>H. planaltina</i>	81,94	0,01	0,03	0,06	3,61	0,10	0,45	0,04	0,39	0,08	6,81	0,23	3,84	0,02	0,22	0,02	0,14	0,53	0,10	0,26	0,11	0,38		
68	<i>H. planaltina</i>	91,09			0,01	1,01		0,10	0,02	0,66	0,10	17,67	0,40	9,73	0,04	0,46		0,22	1,16		0,47	0,05	0,06	0,02	
69	<i>H. planaltina</i>	88,01			0,01	1,07		0,10		0,32	0,05	10,84	0,21	5,84		0,17		0,06	0,43	0,12	0,29	0,05	0,05	0,01	
70	<i>H. planaltina</i>	92,11		0,01	0,01	1,15	0,01	0,18	0,01	0,37	0,04	10,79	0,23	6,49	0,02	0,36		0,19	1,38	0,16	0,57			0,03	
71	<i>H. planaltina</i>	95,90		0,01	0,01	0,38		0,05	0,01	0,79	0,09	10,60	0,25	3,91	0,02	0,19		0,06	0,39		0,15			0,01	
72	<i>H. planaltina</i>	95,18			0,01	0,80		0,06		0,32	0,03	9,37	0,17	4,92	0,01	0,26		0,12	0,57	0,05	0,17			0,03	
73	<i>H. planaltina</i>	82,27		0,02	0,02	3,31	0,09	0,62		0,27	0,07	12,00	0,30	6,99		0,23	0,03	0,18	1,67	0,72	1,33			0,14	
113	<i>H. planaltina</i>	4,01		0,01	0,01	0,38		0,02				0,05		0,04		0,01		0,25	0,87			0,04			
114	<i>H. planaltina</i>	2,76		0,01	0,01	0,29		0,02				0,02		0,02				0,17	0,61			0,02			
7	<i>H. pumila</i>	59,48	0,03	0,02	0,09	0,14	10,46	0,29	1,75	0,01	0,07	0,08	0,09	0,29	0,06	0,11	0,12	0,02	0,28	0,48		0,07	0,07	0,40	1,61
115	<i>H. pumila</i>	10,24			0,07		9,38	0,35											0,24	0,43			1,74		
116	<i>H. pumila</i>	14,57			0,06		5,34	0,23								0,05		0,46	0,52				0,75		
117	<i>H. pumila</i>	21,72					5,11	0,25										1,64	0,67				0,84		
3	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	65,82	0,10	0,39	0,26	8,30	0,28	1,49	0,05	0,13	0,04	0,27		0,11	0,07		0,35	0,55					0,07	0,52	
48	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	43,94		0,12	0,07	4,00	0,12	1,22	0,04	0,03		0,55		0,21	0,03		0,30	0,37		0,06	3,15	0,54			
49	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	57,72		0,15	0,03	4,64	0,10	1,07				0,60	0,03	0,85	0,30	0,07	1,72	3,20	0,34	1,81	0,07				
52	<i>H. subcymosa</i>	9,26		0,03	0,12	0,81		0,59				0,03		0,08	0,23		0,04	0,19			0,52				
53	<i>H. subcymosa</i>	12,07		0,04	0,11	0,75		0,63										0,08			0,64	0,35			
5	<i>H. suffruticosa</i>	53,87	0,01	0,07	0,24	8,79	0,19	1,05	0,06	0,07	0,09	0,16	0,04	0,12			0,10	0,16	0,02			0,28	1,14		
36	<i>H. suffruticosa</i>	47,40		0,25	0,08	20,60		2,71										0,44		11,34	0,83				
74	<i>H. suffruticosa</i>	26,67		0,19	0,09	5,87	0,39	1,75				0,28		0,22			0,42	1,18		0,42			0,70		
75	<i>H. suffruticosa</i>	41,08		0,08	0,16	7,38	0,31	1,72				0,20	0,07	0,21	0,24		0,49	0,84		2,29	0,68		0,18		
76	<i>H. suffruticosa</i>	14,10			0,10	2,20		0,87				0,05		0,13		0,19	0,04	0,20					0,06		
77	<i>H. suffruticosa</i>	21,68		0,02	0,04	1,57		0,57				0,04		0,06	0,11		0,20	0,34					0,05		
78	<i>H. suffruticosa</i>	29,45			0,06	2,79		0,54						0,09	0,10		0,14	0,26					0,05		
79	<i>H. suffruticosa</i>	59,24		0,16	0,17	22,31	0,35	3,21	4,15			0,16		0,15	0,22	0,08	0,80	2,37		0,20	0,17	2,35	18,03	0,32	
80	<i>H. suffruticosa</i>	53,67			0,10	8,85	0,31	1,55				0,17	0,14	0,23	0,19		0,22	0,18					0,05	0,60	
81	<i>H. suffruticosa</i>	52,15		0,10	0,14	14,28	0,45	1,86				0,16	0,06	0,17	0,30	0,07	0,80	1,32		0,12	0,21	2,10	14,51	0,30	
82	<i>H. suffruticosa</i>	40,44		0,10	0,37	14,97		1,78				0,18		0,17	0,42	0,15	1,62	2,63			0,93	0,59		0,79	
83	<i>H. suffruticosa</i>	59,27			0,06	8,62	0,19	1,45				0,08		0,11	0,22	0,08	1,06	1,87		0,08	0,06	0,78	9,12		
93	<i>H. suffruticosa</i>	50,91			0,95	52,81	2,15	6,48									4,11	1,07	0,84		32,59	2,27			
94	<i>H. suffruticosa</i>	44,14	0,19	0,33	0,80	19,13	1,07	3,27		0,47	0,22	0,61		0,95		2,11	1,38			3,01		0,26	1,68		
95	<i>H. suffruticosa</i>	27,82		0,07		1,83		0,34		0,07		0,15		0,14		0,19	0,71			0,40	0,19			0,04	
96	<i>H. suffruticosa</i>	51,34		0,06	0,14	8,11	0,33	1,35				0,11		0,22	0,30		0,52	1,15		0,08	4,02	0,76		0,14	
110	<i>H. suffruticosa</i>	29,01		0,13	0,13	13,31		0,95									0,13	0,54				0,10	3,52		
38	<i>H. tocantina</i>	29,22		0,56	0,37	14,10	0,28	2,54										0,36		6,54	0,46				

Continua na página seguinte

13	<i>H. trichilioides</i>	44,32	0,03	0,13	0,08	4,12	0,09	0,73	0,13	0,58	0,04	0,85	0,05	0,60	0,05	0,02	0,09	0,19	0,07	1,97	0,59	0,01	0,09	
14	<i>H. trichilioides</i>	43,70	0,03	0,15	0,07	8,12	0,19	1,22	0,01	0,16	0,60	0,05	0,69	0,05	0,45	0,04	0,07	0,05	0,13	2,83	0,90	0,01	0,18	
34	<i>H. trichilioides</i>	58,36		0,04	0,02	7,96	0,09	1,19		0,07	0,23		0,26	0,01	0,11					5,13	1,40		0,04	
35	<i>H. trichilioides</i>	49,01		0,03	0,05	5,39		0,63		0,08	0,20		0,20	0,01	0,11			0,09		3,83	1,03		0,03	
40	<i>H. trichilioides</i>	28,84	0,07	0,07	0,09	6,62	0,29	0,76					0,03				0,22	1,02	0,16	1,88	0,65			
97	<i>H. trichilioides</i>	18,82	0,17	1,07	1,85	13,73	0,26	1,07			0,52		0,39					0,53		5,57	0,79			
98	<i>H. trichilioides</i>	35,46	0,18	0,55	0,73	6,50		0,73		0,09	0,64		2,05		1,23		1,19	2,81		1,11	0,31			
99	<i>H. trichilioides</i>	32,48		0,43	0,88	6,73	0,06	0,54		0,19	1,14		4,43	0,07	2,26	0,09	0,10	0,97			0,27			
100	<i>H. trichilioides</i>	23,04		0,76	0,88	14,09	0,19	0,92		0,17	0,81		3,28		1,59			1,21			0,62			
60	<i>H. warmingiana</i>	15,04		0,23	0,31	9,62		1,43					0,27		0,72	1,29	2,70	2,33		0,32				
61	<i>H. warmingiana</i>	21,39		0,05	0,14	7,21		0,79					0,09		0,42	0,92	1,77	0,88		0,12			0,13	
62	<i>H. warmingiana</i>	21,20		0,02	0,03	2,04		0,26					0,17	0,02	0,59	0,04	1,00	0,09	2,32	0,98	0,03		0,05	
63	<i>H. warmingiana</i>	18,14		0,02	0,02	3,37		0,84					0,03		0,19	0,03	0,66	2,51	1,82	0,24			0,11	
64	<i>H. warmingiana</i>	12,74		0,02	0,02	1,96	0,05	0,39					0,04		0,08		0,18	0,83	1,35	0,15	0,11	0,07	0,05	
65	<i>H. warmingiana</i>	13,07				1,67		0,14					0,04		0,23		0,54	1,75	1,15				0,02	
66	<i>H. warmingiana</i>	16,68		0,02	0,02	1,70	0,10	0,35					0,05	0,02	0,08		0,24	3,52	4,42	0,18	0,21	0,16	0,13	
111	<i>H. warmingiana</i>	2,76		0,02		0,87		0,07							0,02		0,08	1,18	0,19				0,19	
112	<i>H. warmingiana</i>	3,68		0,02		0,77		0,05							0,02		0,05	2,19	0,33				0,20	
19	<i>Simaba guianensis</i>	10,30	0,01	0,07	0,24	0,63	0,04	0,28		0,01		0,02		0,01		0,02	0,03	0,12	0,13	0,02	0,07	0,02	0,01	0,07
50	<i>S. guianensis</i>	13,04		0,66		3,97		0,93											0,27		0,55			
51	<i>S. guianensis</i>	10,69		0,11	0,25	3,94		1,80													0,69			
9	<i>S. obovata</i>	24,74	0,04	0,13	0,14	3,31	0,09	0,51	0,05	0,05	0,02	0,10	0,02	0,03		0,07	0,02	0,19	0,35	0,16	0,13	0,07	0,04	0,22
44	<i>S. obovata</i>	7,67		0,06	0,06	1,03		0,25										0,11		1,46	0,35			
10	<i>S. orinocensis</i>	27,36	0,03	0,01	0,07	0,20	2,84	0,21	0,70	0,06	0,06	0,05	0,19	0,03	0,06			0,06	0,14	0,05	0,08		0,06	0,28
28	<i>S. orinocensis</i>	29,44			0,02	0,76	0,01	0,22	0,01	0,03	0,01	0,33	0,01	0,35		0,03		0,01	0,02				0,02	0,10
20	<i>S. polyphylla</i>	12,11		0,01	0,03	0,34	0,01	0,16	0,01	0,03	0,01	0,02		0,01		0,01	0,01	0,08	0,12	0,01			0,01	0,04
29	<i>Quassia amara</i>	29,60		0,02	0,01	0,98	0,01	0,36	0,02	0,02	0,01	0,03	0,01	0,01		0,01	0,01	0,02		0,16	0,01		0,01	0,09
21	<i>Simarouba amara</i>	30,79		0,13	0,09	5,99	0,08	1,13		0,08		0,48	0,22	0,08	0,10	0,06	0,52	0,23		0,03		0,05	0,41	
106	<i>Simarouba amara</i>	31,97		0,06	0,50	1,96	0,06	0,22	0,03	0,08		0,55	0,01	0,19	0,20		0,72	0,17		0,78	0,30		0,01	
107	<i>Simarouba amara</i>	40,19		0,02	0,19	1,10	0,01	0,11	0,01	0,02	0,08	0,01	0,55	0,02	0,20		0,12	0,36	0,08		0,24	0,12		0,01
103	<i>Simarouba versicolor</i>	9,66			0,08	1,37		0,21					0,35				0,68	0,39			0,41	0,36		
104	<i>Simarouba versicolor</i>	58,90		0,02	0,04	1,66		0,13		0,04			1,26	0,06	2,43	0,10	3,31	0,28	2,94	0,13	0,01			0,04
105	<i>Simarouba versicolor</i>	49,15		0,03	0,11	1,92		0,14		0,07			1,77	0,06	1,34	0,08	2,03		2,13	0,27				0,04

*Valores em µg.cm². Valores ausentes indicam que o homólogo não foi identificado no indivíduo. Valores em negrito indicam o homólogo de maior teor. **OCTA**: Ácido octanodióico; **NONA**: Ácido nonadióico.

Tabela 9. Quantificação e distribuição dos álcoois primários graxos encontrados nos indivíduos submetidos a caracterização química das ceras.

Nº	ESPÉCIE	CLASSE (%)	C16*	C18	C20	C22	C24	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C36
17	<i>Homalolepis arenaria</i>	3,30		0,13	0,08	0,08	0,02	0,01		0,01	0,01	0,02		0,07			
59	<i>H. arenaria</i>	1,54					0,02	0,10			0,13	0,26		0,08		0,12	
12	<i>H. bahiensis</i>	5,80		0,44	0,35	0,41	0,08	0,05	0,01	0,07	0,03	0,13					
24	<i>H. cedron</i>	0,19												0,05			
26	<i>H. cedron</i>	1,74						0,04		0,04	0,01	0,15				0,05	
27	<i>H. cedron</i>	0,92								0,01	0,03					0,08	
30	<i>H. cedron</i>	4,46		0,01	0,01	0,01	0,01	0,02		0,02	0,01	0,08	0,03	0,12		0,11	
31	<i>H. cedron</i>	1,24						0,01		0,01		0,02				0,06	
101	<i>H. cedron</i>	2,67					0,01	0,07		0,03	0,01	0,07	0,07	0,24		0,53	
102	<i>H. cedron</i>	1,03								0,08		0,19		0,63		0,59	
22	<i>H. cuneata</i>	5,82								0,18		0,14		0,09	0,11		
23	<i>H. cuneata</i>	2,98						0,02		0,13	0,03	0,11		0,08		0,03	
25	<i>H. cuneata</i>	2,43						0,07	0,03	0,16	0,15	0,24					
85	<i>H. cuneata</i>	5,65								0,15	0,08	0,32		0,09			
86	<i>H. cuneata</i>	6,41					0,03	0,08		0,19	0,13	0,57		0,19			
87	<i>H. cuneata</i>	10,71						0,10	0,03	0,27	0,26	0,63		0,30			
8	<i>H. ferruginea</i>	5,06		0,07	0,04	0,05	0,01	0,07	0,06	0,75		0,43				0,02	
11	<i>H. ferruginea</i>	2,98		0,50	0,35	0,32	0,05	0,04			0,12	0,58					
37	<i>H. ferruginea</i>	1,03										0,04		0,09		0,07	
55	<i>H. ferruginea</i>	3,55						0,03		0,43	0,08	0,48		0,06		0,06	
56	<i>H. ferruginea</i>	0,00															
88	<i>H. floribunda</i>	5,39								0,17	0,12	0,37				0,03	
89	<i>H. floribunda</i>	3,14								0,15	0,10	0,35					
90	<i>H. floribunda</i>	5,42						0,01	0,02	0,15	0,16	0,23					
91	<i>H. floribunda</i>	7,00								0,16	0,13	0,39				0,07	
92	<i>H. floribunda</i>	13,87						0,01	0,01	0,23	0,06	0,32		0,11		0,04	
45	<i>H. glabra</i>	1,23		0,20								0,19		0,20			
47	<i>H. glabra</i>	1,68		0,16						0,19		0,13		0,07			
118	<i>H. glabra</i>	1,16										0,32		0,75		0,20	
119	<i>H. glabra</i>	1,13										0,28		0,69		0,14	
16	<i>H. insignis</i>	3,58	0,01	0,06	0,04	0,06	0,03	0,01		0,01	0,01	0,04				0,03	
18	<i>H. insignis</i>	0,87					0,01	0,02		0,01		0,01		0,01		0,02	
32	<i>H. insignis</i>	0,46					0,01	0,01		0,01		0,01					
33	<i>H. insignis</i>	0,00															

Continua na página seguinte

[illegible]

79	<i>H. suffruticosa</i>	5,30							0,10	1,58	0,12	0,66	1,66	0,81
80	<i>H. suffruticosa</i>	4,28		0,34						0,41	0,10	0,15		
81	<i>H. suffruticosa</i>	6,95		0,28					0,26	1,84	0,19	0,92	0,96	0,47
82	<i>H. suffruticosa</i>	8,98					0,18	0,29	1,24	0,31	1,27	1,73		0,48
83	<i>H. suffruticosa</i>	7,40						0,08	0,84	0,09	0,58	1,13		0,26
93	<i>H. suffruticosa</i>	2,34							3,08				1,67	
94	<i>H. suffruticosa</i>	8,81						0,42	3,10	0,40	1,98		1,19	
95	<i>H. suffruticosa</i>	9,68						0,12	0,42		0,23		0,29	0,38
96	<i>H. suffruticosa</i>	11,10						0,16	1,49	0,12	0,75		0,86	0,35
110	<i>H. suffruticosa</i>	2,16									0,54	0,86		
38	<i>H. tocantina</i>	2,25											0,56	1,38
13	<i>H. trichilioides</i>	2,65	0,02	0,09	0,07	0,08	0,01	0,04				0,05	0,09	0,18
14	<i>H. trichilioides</i>	1,93		0,11	0,07	0,09	0,01	0,03				0,14	0,08	0,18
34	<i>H. trichilioides</i>	2,51						0,02					0,28	0,41
35	<i>H. trichilioides</i>	1,60						0,06					0,05	0,28
40	<i>H. trichilioides</i>	1,99							0,24	0,03	0,11		0,22	0,22
97	<i>H. trichilioides</i>	0,46											0,06	0,57
98	<i>H. trichilioides</i>	2,26											0,45	0,70
99	<i>H. trichilioides</i>	2,33							0,09		0,08		0,11	1,02
100	<i>H. trichilioides</i>	1,62											0,14	1,59
60	<i>H. warmingiana</i>	3,48		0,19						1,82	0,28	1,12	0,76	0,28
61	<i>H. warmingiana</i>	4,85		0,10						1,03	0,10	0,67	0,43	0,50
62	<i>H. warmingiana</i>	4,13						0,07	0,02	0,54	0,12	0,32	0,36	0,06
63	<i>H. warmingiana</i>	5,56								1,11	0,12	0,86	0,58	0,35
64	<i>H. warmingiana</i>	3,54		0,04				0,03	0,02	0,48	0,05	0,34	0,36	0,15
65	<i>H. warmingiana</i>	6,83		0,04				0,06		1,16	0,10	0,89	0,47	0,16
66	<i>H. warmingiana</i>	3,38		0,09				0,09		0,73	0,14	0,60	0,63	
111	<i>H. warmingiana</i>	1,23						0,02		0,51	0,09	0,37	0,19	
112	<i>H. warmingiana</i>	1,22						0,02		0,56	0,11	0,30	0,21	
19	<i>Simaba guianensis</i>	6,86								0,03	0,04	0,53	0,05	0,37
50	<i>S. guianensis</i>	1,30		0,09										0,55
51	<i>S. guianensis</i>	0,01												
9	<i>S. obovata</i>	2,66		0,16	0,11	0,10	0,01			0,03		0,06	0,15	
44	<i>S. obovata</i>	1,05										0,18	0,16	0,11
10	<i>S. orinocensis</i>	7,24		0,23	0,19	0,17	0,03	0,02		0,10	0,02	0,12	0,06	0,24
28	<i>S. orinocensis</i>	12,65						0,03	0,01	0,35	0,03	0,22	0,02	0,13
20	<i>S. polyphylla</i>	2,59								0,01	0,01	0,04	0,07	0,06

Continua na página seguinte

29	<i>Quassia amara</i>	16,54									0,02	0,01	0,06	0,01	0,16	0,12	0,56	0,06
21	<i>Simarouba amara</i>	4,21					0,21				0,23	0,10	0,37				0,42	
106	<i>Simarouba amara</i>	8,17					0,05	0,06	0,01	0,16	0,47	0,37	0,08	0,14			0,15	
107	<i>Simarouba amara</i>	9,91	0,01				0,02	0,02	0,01	0,12	0,32	0,17		0,07			0,05	
103	<i>Simarouba versicolor</i>	12,15					0,49	0,12	1,92	1,08	1,15			0,10				
104	<i>Simarouba versicolor</i>	20,87					0,02	0,38	0,13	1,70	0,80	1,24		0,14			0,02	
105	<i>Simarouba versicolor</i>	18,42					0,11	0,07	1,36	0,55	1,48						0,18	

*Valores em µg.cm². Valores ausentes indicam que o homólogo não foi identificado no indivíduo. Valores em negrito indicam o homólogo de maior teor.

Tabela 10. Quantificação e distribuição dos alcanos, ésteres e fitol encontrados nos indivíduos submetidos a caracterização química das ceras.

Nº	ESPÉCIE	ALCANOS																ÉSTERES		OUTROS	
		CLASSE (%)	C21*	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	C32	C33	C34	C35	CLASSE (%)	C16OOC26	CLASSE (%)	FITOL TMS
17	<i>Homalolepis arenaria</i>	12,16		0,06	0,08	0,09	0,06	0,05	0,08	0,10	0,17	0,09	0,46	0,09	0,23	0,02		0,00		0,00	
59	<i>H. arenaria</i>	38,75	0,04	0,06	0,07	0,12	0,20	0,27	0,41	0,72	10,03	1,37	4,14	0,31	0,44			0,00		0,03	0,03
12	<i>H. bahiensis</i>	9,87		0,08			0,11	0,11	0,17	0,14	0,31	0,16	1,02	0,20	0,39			0,00		0,00	
24	<i>H. cedron</i>	7,09									0,84	0,05	0,75	0,03				0,24	0,06	0,17	0,17
26	<i>H. cedron</i>	11,74				0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,83	0,16	0,73	0,04				0,00		0,00	
27	<i>H. cedron</i>	14,60				0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,91	0,15	0,60	0,04	0,07			0,75	0,10	0,00	
30	<i>H. cedron</i>	48,81					0,01	0,01	0,01	0,01	0,77	0,13	2,31	0,22	1,12		0,01	0,12	0,01	0,00	
31	<i>H. cedron</i>	42,81					0,01		0,01	0,01	0,18	0,03	1,27	0,16	1,32	0,04	0,03	0,00		0,01	0,01
101	<i>H. cedron</i>	80,18								0,01	0,67	0,40	14,73	2,47	12,90	0,10	0,06	0,00		0,30	0,30
102	<i>H. cedron</i>	71,46							0,06	0,09	6,25	1,78	66,59	4,99	23,50	0,09		0,00		2,18	2,18
22	<i>H. cuneata</i>	4,19						0,01	0,03	0,03	0,07	0,03	0,08	0,02	0,04	0,06		4,41	0,38	0,00	
23	<i>H. cuneata</i>	4,23			0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,04	0,26	0,07	0,08	0,02				0,00		0,00	
25	<i>H. cuneata</i>	6,94				0,02	0,05	0,05	0,10	0,15	1,01	0,29	0,18					0,00		0,00	
85	<i>H. cuneata</i>	15,83	0,05	0,10	0,14	0,15	0,13	0,11	0,16	0,19	0,30	0,16	0,17	0,08	0,05			0,00		0,14	0,14
86	<i>H. cuneata</i>	15,35	0,05	0,10	0,13	0,15	0,20	0,26	0,35	0,38	0,45	0,29	0,25	0,13	0,08			0,00		0,37	0,37
87	<i>H. cuneata</i>	26,78	0,05	0,12	0,13	0,09	0,12	0,17	0,33	0,36	1,50	0,40	0,50	0,15	0,09			0,00		0,13	0,13
8	<i>H. ferruginea</i>	27,87		0,04	0,07	0,04	0,03	0,06	0,04	0,45	0,17	5,87	0,32	1,04		0,04		0,00		0,00	
11	<i>H. ferruginea</i>	27,67		0,12	0,21	0,31	0,18	0,19	0,28	0,30	1,86	0,74	13,12	0,62		0,21		0,00		0,50	0,50
37	<i>H. ferruginea</i>	0,44							0,01				0,08					0,00		0,38	0,38
55	<i>H. ferruginea</i>	51,68					0,01	0,01	0,02		0,35	0,30	13,30	1,02	1,54			0,00		0,11	0,11
56	<i>H. ferruginea</i>	14,15	0,11	0,09	0,15	0,15	0,27	0,22	0,27	0,27	0,23	0,18	0,16	0,06				0,00		0,82	0,82

Continua na página seguinte

88	<i>H. floribunda</i>	79,18		0,01	0,02	0,03	0,06	0,11	0,35	0,37	5,60	0,62	2,41	0,14	0,33		0,04	0,00		0,00	
89	<i>H. floribunda</i>	44,59	0,03	0,05	0,05		0,08	0,09	0,16	0,25	3,61	0,65	2,80	0,20	0,45			0,00		0,12	0,12
90	<i>H. floribunda</i>	42,40					0,01	0,03	0,13	0,23	2,55	0,29	0,91	0,06	0,22	0,04		0,00		0,00	
91	<i>H. floribunda</i>	64,26			0,01	0,01	0,01	0,02	0,06	0,14	3,18	0,42	2,56	0,14	0,36		0,02	0,00		0,00	
92	<i>H. floribunda</i>	42,03		0,01	0,01		0,01	0,01	0,02	0,04	1,09	0,15	0,78	0,06	0,18		0,02	0,00		0,00	
45	<i>H. glabra</i>	34,79	0,23	0,31	0,28	0,19	0,22	0,32	0,44		0,88	0,67	10,76	1,02	1,42	0,08		0,00		1,47	1,47
47	<i>H. glabra</i>	32,55	0,07	0,09	0,15	0,20	0,24	0,34	0,37	0,49	0,47	0,34	5,60	0,57	1,39	0,05		0,00		0,32	0,32
118	<i>H. glabra</i>	37,54									0,87	0,98	32,48	2,35	4,59			0,00		0,64	0,64
119	<i>H. glabra</i>	40,04									0,72	0,88	30,46	2,35	5,00			0,00		0,51	0,51
16	<i>H. insignis</i>	20,09		0,01	0,03		0,01	0,01	0,01	0,01	0,54	0,05	0,74	0,04	0,21			0,00		0,03	0,03
18	<i>H. insignis</i>	12,25			0,01		0,01	0,01	0,01	0,01	0,15	0,02	0,38	0,04	0,16			0,00		0,00	
32	<i>H. insignis</i>	5,15	0,01	0,01	0,01		0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,13	0,02	0,07			0,00		0,01	0,01
33	<i>H. insignis</i>	11,33	0,06	0,09	0,08	0,13	0,11	0,11	0,15	0,16	0,23	0,14	0,27	0,09	0,12			0,00		0,30	0,30
57	<i>H. intermedia</i>	9,99			0,40	0,53	0,66	0,66	0,86	0,88	0,98	0,67	0,90	0,45				0,00		3,09	3,09
58	<i>H. intermedia</i>	0,00																0,00		0,47	0,47
15	<i>H. paraensis</i>	15,70		0,06	0,08		0,05	0,03	0,04	0,03	0,24	0,12	2,42	0,19	0,90			0,90	0,24	0,11	0,11
54	<i>H. paraensis</i>	6,86					0,07		0,12		1,07	0,25	0,34					0,00		0,00	
1	<i>H. pohliana</i>	2,90							0,10	0,14	0,22		0,57	0,29				0,00		0,47	0,47
2	<i>H. pohliana</i>	1,97									0,48		1,95	1,08				0,00		4,09	4,09
42	<i>H. pohliana</i>	11,37			0,06		0,08	0,09	0,12	0,13	0,16	0,12	0,97	0,53	4,35	0,25	0,11	0,00		2,56	2,56
4	<i>H. salubris</i>	8,58		0,14	0,21	0,43	0,25	0,33	0,53	0,55	0,53	0,49	0,43	0,53		0,47	0,25	0,00		0,61	0,61
39	<i>H. salubris</i>	2,27	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01		0,01		0,03	0,03	0,08			0,00		0,00	0,01
43	<i>H. salubris</i>	3,00					0,06	0,08	0,12	0,16	0,21	0,19	0,41	0,16	0,32			0,00		0,53	0,53
108	<i>H. salubris</i>	27,97	0,11	0,17	0,20	0,25	0,30	0,31	0,42	0,45	0,50	0,39	0,62	0,32	0,82	0,10	0,09	0,00		0,00	
109	<i>H. salubris</i>	3,55	0,04	0,08	0,08	0,07	0,04				0,05	0,08	0,44	0,16				0,00		0,14	0,14
6	<i>H. planaltina</i>	3,27	0,04	0,05	0,06		0,05	0,05	0,08	0,07	0,09	0,06	0,07	0,03	0,06			0,00		0,00	
68	<i>H. planaltina</i>	2,08	0,02	0,03			0,05	0,05	0,07	0,08	0,09	0,09	0,12	0,05	0,06	0,03		0,00		0,00	
69	<i>H. planaltina</i>	3,73		0,05	0,05		0,07	0,08	0,09	0,08	0,08	0,07	0,11	0,04	0,10			0,00		0,00	
70	<i>H. planaltina</i>	1,54		0,02	0,02		0,02	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,06	0,02	0,05			0,00		0,00	
71	<i>H. planaltina</i>	0,19			0,01		0,01				0,01		0,01		0,01			0,00		0,00	
72	<i>H. planaltina</i>	0,64	0,01	0,01	0,01		0,01				0,01	0,01	0,03	0,01	0,02			0,00		0,00	
73	<i>H. planaltina</i>	7,03	0,04	0,07	0,08	0,07	0,08	0,08	0,11	0,13	0,15		0,49	0,24	0,86			0,00		0,00	
113	<i>H. planaltina</i>	84,70								0,01	2,06	0,34	22,83	1,05	8,81	0,02		0,00		0,01	0,01
114	<i>H. planaltina</i>	87,90									1,89	0,32	23,80	1,13	9,76	0,02		0,00		0,01	0,01
7	<i>H. pumila</i>	5,42		0,08	0,14		0,08	0,07	0,12	0,09	0,21	0,18	0,34	0,09	0,09	0,02		0,00		0,00	
115	<i>H. pumila</i>	0,65									0,20		0,57					0,00		5,76	5,76
116	<i>H. pumila</i>	3,55							0,06	0,04	0,41	0,11	1,19					0,00		1,54	1,54

Continua na página seguinte

117	<i>H. pumila</i>	3,41											0,06	0,05	0,33	0,90						0,00			0,90	0,90					
3	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	1,75											0,04		0,08	0,13			0,09						0,00			0,00			
48	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	2,14	0,04 0,08										0,10	0,10	0,07	0,04		0,10									0,00			1,05	1,05
49	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	4,08											0,10	0,04	0,06	0,15 0,12		0,42	0,05	0,12							0,00			0,26	0,26
52	<i>H. subcymosa</i>	16,31	0,20	0,25	0,39	0,35	0,41	0,36	0,44	0,49	0,57	0,40	0,37	0,18	0,12	0,10							0,00			0,00					
53	<i>H. subcymosa</i>	18,57	0,20	0,27	0,36	0,27	0,38	0,34	0,41	0,44	0,46	0,32	0,29	0,16	0,08								0,00			0,00					
5	<i>H. suffruticosa</i>	3,02											0,05	0,06	0,07	0,08	0,12	0,08	0,18	0,06							0,00			0,00	
36	<i>H. suffruticosa</i>	0,73													0,10		0,36			0,09						0,00			2,90	2,90	
74	<i>H. suffruticosa</i>	14,73	0,24	0,31	0,26	0,43	0,43	0,54	0,74	0,75	0,93	1,04	0,37	0,32										0,00			0,21	0,21			
75	<i>H. suffruticosa</i>	14,58	0,11	0,17	0,18	0,43	0,36	0,36	0,49	0,50	0,72	0,86	0,68	0,24	0,16										0,00			0,17	0,17		
76	<i>H. suffruticosa</i>	18,39	0,33	0,63			0,62	0,46	0,56	0,49	0,64	0,36	0,59	0,17	0,14										0,00			0,00			
77	<i>H. suffruticosa</i>	30,79	0,06	0,16	0,20	0,26	0,29	0,35	0,46	0,48	0,55	0,47	0,60	0,17	0,19										0,00			0,00			
78	<i>H. suffruticosa</i>	27,78	0,09	0,17	0,17	0,19	0,23	0,23	0,32	0,36	0,53	0,43	0,73	0,20	0,15										0,00			0,00			
79	<i>H. suffruticosa</i>	5,75	0,12	0,18	0,19	0,20		0,26	0,39	0,48	0,67	0,70	1,51	0,32	0,35										0,00			2,19	2,19		
80	<i>H. suffruticosa</i>	14,58	0,23	0,25	0,15	0,21	0,24	0,26	0,36	0,37	0,42	0,28	0,36	0,17	0,12										0,00			0,00			
81	<i>H. suffruticosa</i>	8,11	0,13	0,25	0,25	0,31		0,43	0,59	0,67	0,81	0,74	0,96	0,35	0,26										0,00			1,84	1,84		
82	<i>H. suffruticosa</i>	18,08	0,39	0,53	0,32	0,35	0,54	0,73	1,08	1,25	1,53	1,36	1,92	0,62	0,42										0,00			0,00			
83	<i>H. suffruticosa</i>	13,50	0,12		0,13	0,17	0,22	0,30	0,47	0,58	0,88	0,68	1,36	0,27	0,24										0,00			1,24	1,24		
93	<i>H. suffruticosa</i>	12,60											1,53	2,13	3,20	3,59	5,09	3,02	5,33	1,66							0,00			8,64	8,64
94	<i>H. suffruticosa</i>	13,51	0,31	0,74	0,60	0,52	0,62	0,89	1,18	1,28	1,56	1,04	1,20	0,52	0,40										0,00			1,46	1,46		
95	<i>H. suffruticosa</i>	21,85	0,09	0,18	0,11	0,19		0,25	0,37	0,36	0,44	0,33	0,63	0,17	0,12										0,00			0,00			
96	<i>H. suffruticosa</i>	12,06	0,12	0,19	0,14	0,18	0,22	0,31	0,45	0,45	0,62	0,42	0,60	0,19	0,16										0,00			0,27	0,27		
110	<i>H. suffruticosa</i>	3,26	0,11		0,09	0,08		0,08		0,08	0,34	1,33												0,00			1,44	1,44			
38	<i>H. tocantina</i>	22,14											1,64 0,99			16,06	0,42							0,00			3,05	3,05			
13	<i>H. trichilioides</i>	25,55	0,01		0,01	0,04		0,02	0,03	0,03	0,07	0,05	1,26	0,57	3,61	0,27	0,09							0,00			0,12	0,12			
14	<i>H. trichilioides</i>	29,09	0,03		0,06	0,06	0,06	0,04	0,08	0,05	0,07	0,07	2,07	0,89	6,77	0,25	0,14				0,08			0,21			0,25	0,25			
34	<i>H. trichilioides</i>	0,37											0,04			0,06									0,00			1,53	1,53		
35	<i>H. trichilioides</i>	6,15	0,05	0,07	0,07	0,08	0,08	0,11	0,15	0,16	0,18	0,14	0,15	0,09	0,10	0,03								0,00			1,18	1,18			
40	<i>H. trichilioides</i>	28,07	0,08	0,08	0,12		0,12	0,13	0,20	0,21	0,53	0,45	7,75	0,74	1,02	0,06	0,07							0,00			1,05	1,05			
97	<i>H. trichilioides</i>	1,72	0,13				0,22				0,25	0,30	0,22	0,40	0,34	0,51							0,00			1,23	1,23				
98	<i>H. trichilioides</i>	2,49													0,16		0,14	0,97							0,00			0,21	0,21		
99	<i>H. trichilioides</i>	2,33											0,09		0,07	0,26	0,20	0,68							0,00			2,63	2,63		
100	<i>H. trichilioides</i>	3,29	0,16				0,19	0,26	0,28	0,41	0,30	0,56	0,43	0,90										0,00			3,76	3,76			
60	<i>H. warmingiana</i>	67,88	0,37	0,52	0,91	2,84	4,44	5,90	6,93	5,98	6,51	4,94	34,09	4,15	8,30	0,51	0,31							0,00			0,00				
61	<i>H. warmingiana</i>	60,02	0,24	0,24	0,19	0,32	0,42	0,51	0,71	0,67	2,31	1,11	24,72	1,18	2,34	0,16							0,00			0,00					
62	<i>H. warmingiana</i>	67,32	0,04	0,06	0,04	0,06	0,06	0,06	0,18	0,11	1,44	0,63	18,88	0,95	1,67	0,05							0,00			0,00					
63	<i>H. warmingiana</i>	70,74	0,02			0,04	0,06	0,09	0,20	0,17	1,52	0,76	29,56	1,81	3,94	0,08	0,11							0,00			0,00				

Continua na página seguinte

64	<i>H. warmingiana</i>	76,65	0,03	0,03	0,03	0,07	0,06	0,07	0,13	0,12	0,77	0,48	22,80	1,15	5,97	0,07	0,00	0,00
65	<i>H. warmingiana</i>	74,70	0,02	0,04	0,07	0,08	0,09	0,09	0,19	0,15	1,87	0,61	23,68	1,46	3,24	0,08	0,00	0,00
66	<i>H. warmingiana</i>	68,96	0,05		0,06		0,10	0,12	0,23	0,28	2,97	1,29	33,92	1,92	5,51		0,00	0,09
111	<i>H. warmingiana</i>	84,28							0,22	0,09	12,25	1,32	60,47	1,39	4,54		0,00	0,11
112	<i>H. warmingiana</i>	84,71							0,21	0,14	12,99	1,55	63,69	0,15	4,65		0,00	0,07
19	<i>Simaba guianensis</i>	65,45					0,01	0,01	0,08	0,05	4,33	0,20	5,90	0,17	0,77		0,00	0,00
50	<i>S. guianensis</i>	13,52									0,10		2,34	0,41	3,76		0,00	0,18
51	<i>S. guianensis</i>	37,02	0,29	0,66	0,68	0,73		1,08	1,25	1,62	2,75	1,20	10,04	0,88	2,33		0,00	0,00
9	<i>S. obovata</i>	36,80		0,03	0,04		0,05	0,03	0,09	0,05	0,69	0,15	4,19	0,42	2,73	0,07	0,79	0,18
44	<i>S. obovata</i>	68,70	0,06	0,10	0,07	0,09	0,14	0,16	0,25		1,67	0,44	17,07	1,01	8,54	0,10	0,00	0,42
10	<i>S. orinocensis</i>	21,50	0,11	0,11		0,15	0,11	0,12	0,22	0,18	0,40	0,18	1,28	0,23	0,71	0,14	0,00	0,00
28	<i>S. orinocensis</i>	52,58							0,01		0,21	0,06	1,86	0,27	0,98	0,03	0,00	0,00
20	<i>S. polyphylla</i>	77,59					0,01	0,01	0,01	0,01	0,48	0,08	2,98	0,29	1,70	0,02	0,00	0,00
29	<i>Quassia amara</i>	36,89					0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,01	0,18	0,16	1,62	0,12	0,00	0,00
21	<i>Simarouba amara</i>	36,43					0,04	0,02	0,63	0,21	9,16	0,26	1,02			0,12	0,00	0,00
106	<i>Simarouba amara</i>	28,99	0,02	0,04	0,06	0,02	0,07	0,07	0,29	0,19	3,83	0,23	0,33	0,05		0,06	0,00	0,07
107	<i>Simarouba amara</i>	26,47	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,11	0,05	1,67	0,06	0,16	0,01			0,00	0,01
103	<i>Simarouba versicolor</i>	16,46				0,20	0,51	0,45	1,79	0,68	2,30	0,43		0,22			0,00	0,00
104	<i>Simarouba versicolor</i>	6,20					0,06	0,02	0,53	0,03	0,63	0,01	0,03				0,00	0,00
105	<i>Simarouba versicolor</i>	3,61					0,01	0,02	0,23	0,05	0,38		0,05				0,00	0,00

*Valores em $\mu\text{g.cm}^2$. Valores ausentes indicam que o homólogo não foi identificado no indivíduo. Valores em negrito indicam o homólogo de maior teor. **C16OOC26**: hexadecanoato de hexacosenila.

Tabela 11. Quantificação e distribuição dos triterpenos, esteroides e tocoferóis encontrados nos indivíduos submetidos a caracterização química das ceras.

Nº	ESPÉCIE	TRITERPENOS				ESTEROIDES						TOCOFERÓIS				
		CLASSE (%)	LUPEONA*	LUPEOL	LANOST.	CLASSE (%)	CAMP.	ESTIG.	β-SIT.	SIT.	COLES.	CLASSE (%)	β-TOCO.	γ-TOCO.	α-TOCO.	α-TOCO. TMS
17	<i>Homalolepis arenaria</i>	0,00				1,48	0,04		0,15			0,11		0,01		0,01
59	<i>H. arenaria</i>	0,00				1,83	0,12		0,74		0,04	0,00				
12	<i>H. bahiensis</i>	0,00				1,28	0,06		0,20	0,09		0,12		0,02		0,02
24	<i>H. cedron</i>	0,00				21,27	0,48	0,50	2,51	1,54		0,59			0,06	0,08
26	<i>H. cedron</i>	0,00				7,55	0,20	0,21	0,71	0,10		0,73		0,02	0,03	0,08
27	<i>H. cedron</i>	0,00				1,11	0,02		0,08	0,04		0,56		0,01	0,02	0,05
30	<i>H. cedron</i>	0,00				2,85	0,06		0,15	0,06		0,12		0,01	0,01	
31	<i>H. cedron</i>	0,00				2,81	0,07		0,12	0,02		0,58				0,04
101	<i>H. cedron</i>	0,00				2,16	0,12		0,73			5,44		0,10	0,04	1,98
102	<i>H. cedron</i>	0,00				1,29	0,20		1,67			15,06		0,37	0,55	20,87
22	<i>H. cuneata</i>	0,00				0,74				0,06		0,00				
23	<i>H. cuneata</i>	0,00				3,30	0,02	0,04	0,19	0,20		0,00				
25	<i>H. cuneata</i>	0,00				4,36	0,15		0,76	0,26		0,69			0,07	0,12
85	<i>H. cuneata</i>	0,38			0,04	4,57	0,06	0,07	0,39			0,00				
86	<i>H. cuneata</i>	0,31			0,06	8,41	0,16	0,18	1,22			1,10			0,13	0,07
87	<i>H. cuneata</i>	0,00				2,21	0,05		0,28			0,17				0,03
8	<i>H. ferruginea</i>	0,00				0,00						0,00				
11	<i>H. ferruginea</i>	0,00				8,46	0,89	1,70	2,96			0,87		0,05	0,29	0,23
37	<i>H. ferruginea</i>	0,00				16,63	0,62	0,39	2,07	0,17		0,50			0,08	0,02
55	<i>H. ferruginea</i>	0,52			0,17	3,27	0,22		0,83		0,03	0,00				
56	<i>H. ferruginea</i>	0,00				8,18	0,29	0,17	0,78			0,00				
88	<i>H. floribunda</i>	0,00				0,11			0,01			0,00				
89	<i>H. floribunda</i>	0,00				3,70	0,06		0,64			0,66			0,09	0,03
90	<i>H. floribunda</i>	0,00				1,49			0,16			0,00				
91	<i>H. floribunda</i>	0,00				1,91	0,01		0,20			0,00				
92	<i>H. floribunda</i>	0,00				4,33	0,03		0,21			0,00				
45	<i>H. glabra</i>	2,61			1,26	1,81	0,15		0,72			1,21			0,38	0,21
47	<i>H. glabra</i>	0,00				5,88	0,35		1,52			0,00				
118	<i>H. glabra</i>	0,00				2,54	0,28		2,52			48,51		0,22	31,76	21,35
119	<i>H. glabra</i>	0,00				2,91	0,30		2,57			42,43		0,19	22,64	18,93
16	<i>H. insignis</i>	0,00				2,79	0,08		0,15			0,48		0,01	0,01	0,02
18	<i>H. insignis</i>	0,00				0,37			0,01	0,01		0,00				

Continua na página seguinte

32	<i>H. insignis</i>	0,71	0,04	6,43	0,05	0,08	0,20	0,06	0,00				
33	<i>H. insignis</i>	0,00		7,97	0,19	0,22	0,69	0,14	0,06			0,01	
57	<i>H. intermedia</i>	2,65	1,85	30,59	3,11	2,74	13,46	2,10	0,95			0,66	
58	<i>H. intermedia</i>	1,88	0,92	14,54	0,74	0,78	2,51	3,07	6,93	0,21	0,30	1,28	1,60
15	<i>H. paraensis</i>	0,00		7,80	0,29		1,30	0,48	0,96		0,06	0,07	0,13
54	<i>H. paraensis</i>	0,00		3,82	0,19	0,19	0,65		0,00				
1	<i>H. pohliana</i>	0,00		18,20	1,39	1,36	3,91	1,57	2,38		0,34	0,23	0,51
2	<i>H. pohliana</i>	0,00		13,39	4,55	5,06	14,28		4,26		0,93	2,43	4,26
42	<i>H. pohliana</i>	2,08	1,27	8,63	0,64	1,00	3,63		7,62		0,11	0,59	3,97
4	<i>H. salubris</i>	0,00		8,28	0,78	1,27	2,38	0,53	1,17		0,09	0,16	0,45
39	<i>H. salubris</i>	0,00		5,96	0,07	0,05	0,29	0,02	0,00				
43	<i>H. salubris</i>	1,20	0,68	7,14	0,38	0,40	2,76	0,54	5,21	0,14	0,20	0,65	1,98
108	<i>H. salubris</i>	0,00		5,10	0,18		0,74		0,00				
109	<i>H. salubris</i>	0,00		14,40	0,76	1,23	2,18	0,16	0,44			0,13	
6	<i>H. planaltina</i>	0,00		0,17			0,02	0,01	0,00				
68	<i>H. planaltina</i>	0,00		1,03	0,06	0,04	0,26		0,00				
69	<i>H. planaltina</i>	0,00		1,88	0,06	0,03	0,33		0,00				
70	<i>H. planaltina</i>	0,00		0,08			0,02		0,00				
71	<i>H. planaltina</i>	0,00		0,21	0,01	0,01	0,03		0,00				
72	<i>H. planaltina</i>	0,00		1,06	0,03	0,01	0,15		0,00				
73	<i>H. planaltina</i>	0,00		0,75	0,05		0,21		0,00				
113	<i>H. planaltina</i>	0,00		1,72	0,11		0,60		5,86		0,02	1,38	1,03
114	<i>H. planaltina</i>	0,00		1,42	0,09		0,51		3,29		0,02	0,85	0,51
7	<i>H. pumila</i>	0,00		0,00					0,00				
115	<i>H. pumila</i>	0,00		5,03	0,62	0,96	4,41		64,56	0,34	0,53	47,82	28,31
116	<i>H. pumila</i>	0,00		9,67	0,58	0,77	3,57		50,23	0,12	0,25	13,61	11,58
117	<i>H. pumila</i>	0,00		11,35	0,37	0,65	3,43		30,26	0,23	0,14	5,86	5,64
3	<i>H. sp. nov. "rigida"</i>	0,00		2,27		0,22		0,23	0,00				
48	<i>H. sp. nov. "rigida"</i>	0,33	0,08	23,24	1,10	0,92	3,60	0,09	0,66		0,03	0,10	0,04
49	<i>H. sp. nov. "rigida"</i>	0,66	0,17	10,41	0,40	0,26	2,05		0,90		0,04	0,14	0,06
52	<i>H. subcymosa</i>	5,68	1,12	3,16		0,29	0,53	0,08	0,00				
53	<i>H. subcymosa</i>	0,00		3,86	0,10	0,37	0,32	0,03	0,00				
5	<i>H. suffruticosa</i>	0,00		0,17			0,03	0,01	0,00				
36	<i>H. suffruticosa</i>	1,38	1,05	1,96	0,69	0,35	0,47		14,41	0,27		1,18	9,57
74	<i>H. suffruticosa</i>	0,00		10,76	1,02	0,89	2,73		0,91			0,15	0,24
75	<i>H. suffruticosa</i>	0,00		8,13	0,57	0,70	1,67		0,00				
76	<i>H. suffruticosa</i>	0,00		0,65			0,18		0,00				

Continua na página seguinte

77	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			0,49		0,07		0,00				
78	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			3,27	0,11	0,09	0,24		0,00			
79	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			10,32	1,00	0,90	7,72		2,13	0,18	0,07	0,96 0,78
80	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			0,96			0,22		0,00			
81	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			7,92	0,78	0,61	4,22		0,18			0,13
82	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			7,22	0,73	0,87	2,81		0,00			
83	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			4,91	0,20	0,26	1,51		1,70		0,05	0,26 0,37
93	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			8,50	2,23	2,27	12,73		4,71		2,66	6,90
94	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			5,22	0,87	0,78	2,55		0,45			0,36
95	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			4,11	0,11	0,10	0,40		0,44			0,06
96	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			6,97	0,38	0,36	1,60		0,71		0,08	0,16
110	<i>H. suffruticosa</i>	0,00			15,49	1,07	1,08	7,88		25,47	0,45	0,36	8,95 6,73
38	<i>H. tocantina</i>	0,00			8,13	1,45		5,57		17,06	0,18	0,24	2,58 11,73
13	<i>H. trichilioides</i>	0,00			4,68	0,25		0,86		0,33		0,02	0,03 0,03
14	<i>H. trichilioides</i>	0,00			5,48	0,48		1,41 0,11		0,29		0,01	0,06 0,03
34	<i>H. trichilioides</i>	0,00			17,69	0,77	0,88	2,64 0,72		0,96			0,07 0,20
35	<i>H. trichilioides</i>	0,00			9,73	0,36	0,45	1,34 0,17		0,14			0,03
40	<i>H. trichilioides</i>	1,89	0,78		3,28	0,14	0,15	1,05		2,67			0,37 0,73
97	<i>H. trichilioides</i>	0,00			2,63	0,45	0,32	2,85		66,03	0,20	1,21	1,60 88,05
98	<i>H. trichilioides</i>	0,00			2,90	0,14	0,10	1,03 0,22		32,40		0,42	0,40 15,72
99	<i>H. trichilioides</i>	0,00			10,67	1,28	1,00	3,68		30,55		0,95	0,39 15,73
100	<i>H. trichilioides</i>	0,00			7,34	1,44	0,90	5,47		45,00		1,38	0,80 45,71
60	<i>H. warmingiana</i>	0,00			1,68	0,42		1,72		0,00			
61	<i>H. warmingiana</i>	0,00			2,12	0,16		1,08		0,00			
62	<i>H. warmingiana</i>	0,00			0,72			0,26		0,00			
63	<i>H. warmingiana</i>	0,00			0,00					0,00			
64	<i>H. warmingiana</i>	0,00			1,08	0,08		0,37		0,00			
65	<i>H. warmingiana</i>	0,00			0,34			0,14		0,00			
66	<i>H. warmingiana</i>	0,00			1,01	0,12		0,57		0,10			0,06
111	<i>H. warmingiana</i>	0,00			1,71	0,12		1,51		7,71		0,05	4,06 3,24
112	<i>H. warmingiana</i>	0,00			1,28	0,10		1,16		4,57		0,04	2,70 1,76
19	<i>Simaba guianensis</i>	0,26	0,05		1,34	0,04		0,16 0,03 0,02		0,56		0,03	0,04 0,03
50	<i>S. guianensis</i>	8,99		3,48 0,93	12,81	0,62		5,65		0,66			0,32
51	<i>S. guianensis</i>	7,57		4,81	2,75			1,75		0,00			
9	<i>S. obovata</i>	0,36	0,08		2,76	0,12	0,08	0,44		0,21		0,01	0,02 0,02
44	<i>S. obovata</i>	0,00			1,86	0,11		0,70		0,00			
10	<i>S. orinocensis</i>	0,00			1,42	0,03		0,15 0,09		0,00			

Continua na página seguinte

28	<i>S. orinocensis</i>	0,00		0,00				0,00			
20	<i>S. polyphylla</i>	0,00		0,25		0,01	0,01	0,07		0,01	0,01
29	<i>Quassia amara</i>	0,00		0,19			0,01	0,00			
21	<i>Simarouba amara</i>	0,82	0,26	2,24	0,05	0,29	0,30	0,07	0,26	0,03	0,05
106	<i>Simarouba amara</i>	0,00		5,75	0,16	0,40	0,49		0,56	0,07	0,03
107	<i>Simarouba amara</i>	0,00		6,23	0,09	0,16	0,26		0,05		0,01
103	<i>Simarouba versicolor</i>	4,81	1,92	2,16	0,26			0,60	1,02		0,41
104	<i>Simarouba versicolor</i>	3,10	0,66	1,33	0,04		0,22	0,02	0,00		
105	<i>Simarouba versicolor</i>	0,00		2,96	0,14	0,11	0,36		0,00		

*Valores em µg.cm². Valores ausentes indicam que a substância não foi identificada no indivíduo. Valores em negrito indicam o homólogo de maior teor. **LANOST**: Lanosterol; **CAMP**: Campesterol; **ESTIG**: Estigmasterol; **β-SIT**: β-sitosterol; **SIT**: Sitostenona; **COLES**: Colesterol; **β-TOCO**: β-tocoferol; **γ-TOCO**: γ-tocoferol; **α-TOCO** e **α-TOCO.TMS**: α-tocoferol.

5.3.6 Utilização da composição química das ceras na separação taxônomica dos indivíduos

Retomando, de maneira geral, *Homalolepsis* e *Simaba* s.s. podem ser distinguidos pela maior abundância de ácidos graxos em relação aos alcanos no primeiro, contrariamente ao observado no segundo. Entretanto, a análise da composição de homólogos destas classes majoritárias, além das demais, parece não contribuir com a distinção destes dois gêneros e nem na distinção entre as espécies. Para confirmar esta observação, foram realizadas análises multivariadas com os teores das substâncias encontradas nas ceras de cada indivíduo.

A figura 56 mostra a distribuição bidimensional dos indivíduos realizada a partir de uma PCA utilizando-se os teores de todas as substâncias encontradas (Mohtashamian et al., 2017). É possível observar a partir do gráfico de dispersão (figura 56A), que a grande maioria dos indivíduos se encontra concentrada na região central do gráfico, independente de seu gênero ou espécie. Este grande grupo central formado mostra que estes indivíduos independentemente de sua *taxa* são muito próximos entre si de acordo com a composição química de suas ceras. Alguns indivíduos encontram-se separados deste grupo central, deslocados no sentido da componente principal 1. Através do gráfico de vetores (figura 56B), é possível observar que a componente principal 1 foi bastante influenciada em seu sentido positivo essencialmente por homólogos de ácidos graxos (como o 16:0 e 18:0), alcanos (como C28 e C27) e esteroides (como o β -sitosterol e campesterol). Estes indivíduos deslocados do grupo central apresentam estes homólogos em teores mais elevados, mesmo que sutilmente, em relação ao encontrado para o restante dos indivíduos.

Uma análise de agrupamento (UPGMA) correspondente também foi realizada, utilizando-se o coeficiente de distância euclidiana média (figura 57) (Skorupa et al., 1998; Dodd & Poveda, 2003; Pimentel, 2014). A partir do dendrograma resultante é possível observar a ocorrência da formação de muitos grupos. Entretanto, a grande maioria dos indivíduos está contida em uma região do dendrograma que apresenta índices de dissimilaridade entre 0 e 3. Quanto menor o índice de dissimilaridade entre as OTUS, maior a similaridade entre elas, ou seja, mesmo que estes indivíduos tenham se dividido em muitos grupos diferentes, eles ainda são muito próximos entre si. Apenas uma pequena parcela dos indivíduos apresentou índices maiores que 3. Além disso, não houve a separação entre os gêneros e, de modo geral, nem entre as espécies, salvo as espécies com poucos indivíduos, tal como a *Simarouba versicolor*, que possui apenas três indivíduos. Estes resultados encontrados corroboram o que foi visto para a análise de PCA anterior.

Figura 56. Análise de componentes principais a partir da matriz de correlação do teor de todas as substâncias encontradas nas ceras dos indivíduos. Homólogos e substâncias não detectadas, tiveram seu teor igualado a zero para fim da análise. **A:** Gráfico de dispersão dos indivíduos, **círculos em vermelho** correspondem aos indivíduos de *Homalolepis*, em **azul** à *Simaba* s.s. e **verde** ao grupo externo; O delineamento em cinza corresponde ao agrupamento central de indivíduos, àqueles que não pertencem a este agrupamento central foram destacados. **B:** Gráfico de vetores dos homólogos.

É possível observar a formação de 4 grandes grupos (a, b, c e d). O grupo “a” representa a primeira divisão da topologia, separando dois indivíduos de *H. trichilioides* do restante dos indivíduos. O grupo “b” separa dois indivíduos de *H. warmingiana* e um dos indivíduos de *H. cedron* do restante dos indivíduos. O grupo “c” separa um indivíduo de *H. pohliana* de um de *H. suffruticosa* e estes dois do restante. E por último, o grupo “d” separa dois indivíduos de *H. glabra* de um de *H. pumila* e estes do restante dos indivíduos.

Figura 57. Análise de agrupamento por UPGMA a partir do teor de todas as substâncias encontradas nas ceras dos indivíduos, utilizando-se o coeficiente de distância euclidiana média. Índice de correlação cofenética (0,9490). De "a" a "d" representam os clados com índices de dissimilaridade maiores que 3.

Comparando este dendrograma (figura 57) com o da filogenia de *Simaba* s.s. e *Homalolepis* (figura 31), é possível observar que os ramos resultantes das análises quantitativas dos componentes de cera diferem bastante do que foi encontrado para os ramos a partir de dados moleculares. Na filogenia da figura 31, *Quassia* aparece separada dos outros três gêneros, sendo *Simaba* grupo irmão do clado (*Simarouba* – *Homalolepis*). O mesmo não foi visto a partir dos dados de composição das ceras (figura 57), em que os indivíduos de *Simaba* s.s. encontram-se dispersos entre os indivíduos de *Homalolepis* e do grupo externo, não havendo também a formação de um clado comum unindo as duas espécies de *Simarouba*.

Análises idênticas de componentes principais e de agrupamento por UPGMA foram realizadas utilizando-se apenas os teores dos homólogos de ácidos graxos (figuras v e viii, *Anexos*), alcanos (figuras vi e ix, *Anexos*) e ácidos graxos e alcanos (figuras vii e x, *Anexos*). Apesar dos resultados obtidos diferirem aos apresentados acima em relação a posição de alguns indivíduos, as conclusões obtidas foram as mesmas. As análises de PCA para os teores dos homólogos de ácidos graxos e alcanos separadamente e combinados resultaram na formação de um grupo central de indivíduos, com alguns indivíduos deslocados no sentido da componente principal 1 ou 2. O mesmo é visto em relação aos dendogramas resultantes das análises de agrupamento por UPGMA com estas substâncias. Não é possível observar a separação dos gêneros ou das espécies e, além disso, a grande maioria apresenta um índice de dissimilaridade bastante baixo, mostrando grande semelhança entre si em relação a composição química das ceras.

Os lipídeos das ceras são moléculas bastante estáveis e resistentes à degradação ao longo do tempo (Eglinton et al., 1991). Deste modo, muitas vezes são usadas em estudos quimiotaxonômicos, principalmente os alcanos (Salatino et al., 1989; Mimura et al., 1998; Skorupa et al., 1998; Santos et al., 2005; Rocini et al., 2005; Medina et al., 2006; Motta et al., 2008; Paroul et al., 2009; Bush & McInerney, 2013). Neste estudo foi visto que a composição das ceras não foi capaz de trazer uma contribuição a taxonomia de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*, assim como visto para *Camerea* (Malpighiaceae) (Motta et al., 2008).

Estudos apontam que a composição química das ceras de algumas espécies são bastante influenciadas por pressões ambientais, dificultando seu uso como marcadores quimiotaxonômicos (Dodd & Poveda, 2003; Bush & McInerney, 2013). *Simaba* s.s. e *Homalolepis* são bastante plásticas em relação ao ambiente em que se encontram, entretanto ainda não se sabe como a cera de suas espécies se comportam em relação as pressões ambientais.

5.4 Morfologia das ceras epicuticulares de *Homalolepis*

Foram analisados ao todo 33 indivíduos em relação à morfologia das ceras epicuticulares das superfícies abaxial e adaxial das folhas (tabela i, *Anexos*). Destes, 31 pertencem a 15 espécies de *Homalolepis*, 1 a *Simarouba amara* e 1 a *Simarouba versicolor*. Não foi possível a obtenção de amostras de *Simaba* s.s. para análise da morfologia da cera. A identificação da morfologia das ceras foi feita através das fotos em MEV baseando-se no que foi descrito por Barthlott e colaboradores (1998) e encontra-se na tabela 12.

A partir das imagens realizadas pelo MEV, foi possível observar que apenas a superfície abaxial das folhas dos indivíduos estudados apresentaram estômatos (figura 58A e B). Este padrão de distribuição dos estômatos é conhecido como padrão hipostomático e é o padrão mais comum presente nas plantas eudicotiledôneas. São exceção a esse padrão algumas plantas xeromórficas, como espécies de Caesalpiniaceae (Fabales) (Waldhoff & Parolin, 2010).

As ceras epicuticulares da grande maioria dos indivíduos analisados, para ambas as superfícies foliares, não apresentou a formação de cristaloides (ornamentos), exibindo uma camada contínua de cera amorfa. Esta camada de cera amorfa apresentou algumas variações entre os indivíduos quanto a diferentes graus de presença de crostas e/ou vilosidades (tabela 12).

Quanto ao grau de crostas, foram detectados quatro padrões: (i) praticamente sem crosta como em *H. trichilioides* (indivíduo 98), aparecendo nas imagens da microscopia com uma morfologia de filme com aspecto vítreo (figura 58C); (ii) pouco crostosas (figura 58D); (iii) crostosas (figura 58E), (iv) bastante crostosas (figura 58F) e (v) extremamente crostosa (figura 58G), como em *H. planaltina* (indivíduo 114) que apresentou a cera epicuticular abaxial com uma intensidade muito elevada de crostas, se destacando do restante dos indivíduos.

Quanto às vilosidades, elas podiam estar ausentes (amorfa planar), presentes em baixa intensidade (figura 58H) ou alta intensidade (figura 58I e J). As ceras epicuticulares abaxiais de *H. cedron* (indivíduo 101) (Figura 58K) e *H. suffruticosa* (indivíduo 74) e a cera adaxial de *Simarouba amara* (indivíduo 21) apresentaram estruturas cristaloides que se assemelham a formação do tipo lâminas, porém apresentam-se pouco intensas comparada a outras morfologias deste tipo (Barthlott et al., 1998). Já em *Simarouba versicolor* (indivíduo 103) há a formação de cristaloides do tipo lâminas por toda a superfície abaxial, ocorrendo de maneira bastante intensa e sem um padrão de orientação definido (figura 58L). Estes ornamentos

encontram-se praticamente cobrindo os estômatos, presentes em cavidades na superfície foliar.

Continua na página seguinte

Figura 58. Exemplos de morfologias das ceras epicuticulares encontradas em *Homalolepis* e *Simarouba* realizadas através de microscopia eletrônica de varredura. **A** e **B**: imagens realizadas com aproximação de 1.000 vezes da superfície adaxial (A), mostrando a ausência de estômatos e abaxial (B), com a presença de estômatos, de *H. suffruticosa* (indivíduo 36). **C**: Imagem da superfície abaxial de *H. trichilioides* (indivíduo 98) com aproximação de 3.250 vezes, mostrando a cera epicuticular com morfologia de filme com aspecto vítreo e com a presença de algumas vilosidades. **D**: Imagem da superfície abaxial de *H. arenaria* (indivíduo 17) com aproximação de 10.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por ser pouco crostosa. **E**: Imagem da superfície adaxial de *H. arenaria* (indivíduo 17) com aproximação de 10.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por ser crostosa. **F**: Imagem da superfície adaxial de *H. ferruginea* (indivíduo 37) com aproximação de 10.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por ser bastante crostosa. **G**: Imagem da superfície abaxial de *H. planaltina* (indivíduo 114) com aproximação de 1.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por ser extremamente crostosa. **H**: Imagem da superfície adaxial de *H. glabra* (indivíduo 118) com aproximação de 1.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por apresentar poucas vilosidades. **I**: Imagem da superfície abaxial de *H. floribunda* (indivíduo 88) com aproximação de 1.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por apresentar muitas vilosidades. **J**: Imagem da superfície abaxial de *S. amara* (indivíduo 21) com aproximação de 10.000 vezes, exemplificando outro exemplo de morfologia caracterizada por apresentar muitas vilosidades. **K**: Imagem da superfície abaxial de *H. cedron* (indivíduo 101) com aproximação de 10.000 vezes, exemplificando a morfologia caracterizada por apresentar estruturas semelhantes ao tipo lâminas, porém em menor intensidade. **L**: Imagem da superfície abaxial de *S. versicolor* (indivíduo 103) com aproximação de 10.000 vezes, mostrando a formação de cristaloides cerosos do tipo lâmina sem um padrão definido de orientação.

Tabela 12. Morfologias das ceras epicuticulares de *Homalolepis* e *Simarouba* de acordo com Barthlott e colaboradores (1998).

ESPÉCIE	IND.	VOUCHER	MORFOLOGIA ADAXIAL	MORFOLOGIA ABAXIAL
<i>Homalolepis arenaria</i>	17	MFD 398	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar pouco crostosa.
<i>H. cedron</i>	121	MFD 173	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
	122	MFD 194	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
	101	Pirani 6706	Amorfa planar pouco crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa com princípio de formação de cristalóides do tipo lâminas.
<i>H. cuneata</i>	120	MFD 175	Amorfa com poucas vilosidades e pouco crostosa.	Amorfa com pequenas vilosidades e bastante crostosa.
	23	MFD 247	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar pouco crostosa.
<i>H. ferruginea</i>	37	MFD 280	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar pouco crostosa.
	8	MFD 330	Amorfa com muitas vilosidades e crostosa.	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.
<i>Homalolepis floribunda</i>	88	MFD 442	Amorfa com muitas vilosidades e bastante crostosa.	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.
<i>H. glabra</i>	118	MFD 452	Amorfa com poucas vilosidades e pouco crostosa.	Amorfa com poucas vilosidades e pouco crostosa.
	119	MFD 452	Amorfa com muitas vilosidades e bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
<i>H. pohliana</i>	1	MFD 273	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
	2	MFD 276	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
<i>H. salubris</i>	39	MFD 294	Amorfa com presença de muitas crateras e regiões bastante crostosas.	Amorfa com presença de muitas crateras e regiões bastante crostosas.
	4	MFD 295	Amorfa com presença de muitas crateras e regiões bastante crostosas.	Amorfa com presença de muitas crateras e regiões bastante crostosas.
	43	MFD 296	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
	108	MFD 296	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
<i>H. planaltina</i>	113	MFD 445	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
	114	MFD 445	Amorfa planar pouco crostosa.	Amorfa planar extremamente crostosa.
<i>H. pumila</i>	115	MFD 467	Amorfa com muitas vilosidades e bastante crostosa.	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.
	116	MFD 467	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.
<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	48	MFD 286	Amorfa planar bastante crostosa.	Amorfa planar bastante crostosa.
<i>H. suffruticosa</i>	36	MFD 274	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.	Amorfa com poucas vilosidades e pouco crostosa.
	110	MFD 315	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.	Amorfa com poucas vilosidades e pouco crostosa.
	74	MFD 450	Amorfa com muitas vilosidades e bastante crostosa.	Amorfa com poucas vilosidades e bastante crostosas, com princípio de formação de cristalóides do tipo lâminas.
	93	Pirani 6683	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.	Amorfa com poucas vilosidades e pouco crostosa.
<i>H. tocantina</i>	38	MFD 293	Amorfa planar e pouco crostosa.	Amorfa planar e bastante crostosa.
<i>H. trichilioides</i>	40	MFD 297	Amorfa planar e bastante crostosa.	Amorfa planar e bastante crostosa.
	98	Pirani 6689	Amorfa planar e pouco crostosa.	Filme de aspecto vítreo com presença de algumas vilosidades.
<i>H. warmingiana</i>	123	MFD 416	Amorfa com muitas vilosidades e bastante crostosa.	Amorfa com muitas vilosidades e bastante crostosa.
	60	MFD 432	Amorfa com muitas vilosidades e crostosa.	Amorfa com muitas vilosidades e crostosa.
<i>Simarouba amara</i>	21	MFD 245	Amorfa planar com regiões com princípio de formação de cristalóides do tipo lâminas.	Amorfa com muitas vilosidades e pouco crostosa.
<i>S. versicolor</i>	103	Pirani 6666	Amorfa planar pouco crostosa.	Cristalóide do tipo lâminas sem um sentido de orientação.

Assim como foi visto para a composição química das ceras, a morfologia das ceras epicuticulares também não foi informativa para a diferenciação das espécies analisadas. Somente *Simarouba versicolor*, uma das espécies analisadas como grupo externo neste trabalho, apresentou ornamentação da cera claramente distinta do restante dos indivíduos, pela presença da formação densa de cristaloides em sua superfície abaxial.

De acordo com o levantamento realizado sobre a morfologia das ceras epicuticulares em Sapindales (tabela 3), foi visto que a morfologia das ceras foliares em Anacardiaceae e Rutaceae são bastante coerentes com o encontrado neste estudo para Simaroubaceae. Em Anacardiaceae e Rutaceae, foi visto a predominância de cera amorfa, podendo apresentar vilosidades e rugosidades, ou a presença de cristaloides do tipo lâminas. Já as ceras encontradas em diferentes espécies de *Acer* (Sapindaceae) apresentaram ornamentos abobadados, diferente do que foi visto nas outras espécies estudadas de Sapindales.

Barthlott e colaboradores (2017) realizaram um levantamento sobre a composição química das ceras foliares de diferentes espécies e associaram os principais tipos de morfologia das ceras epicuticulares com as principais substâncias presentes nas mesmas. É possível observar que as morfologias não cristaloides (como filmes e crostas) estão associadas às classes dos ácidos graxos, alcanos, álcoois primários e aldeídos, que apresentam diferentes homólogos majoritários nas ceras. Já as morfologias cristaloides encontram-se geralmente associadas a um homólogo majoritário, principalmente da classe das cetonas, álcoois secundários e álcoois primários, e à classe dos aldeídos.

Em *Homalolepis* e em *Simarouba versicolor*, os dados obtidos encontram-se de acordo com o descrito na literatura. As principais classes encontradas nas ceras de morfologia amorfa (tabela 12) de *Homalolepis* foram os ácidos graxos e alcanos (figura 39), em consonância com o descrito por Barthlott e colaboradores (2017).

A morfologia de lâminas (*platelets*) encontram-se altamente associadas à álcoois primários, especificamente com os homólogos de 26 e/ou 28 carbonos, que podem ou não estar associados à presença de aldeídos (Barthlott et al., 2017). Foi visto que *Simarouba versicolor* foi a espécie estudada com a maior quantidade de álcoois primários (figura 39), além disso, o álcool primário de 28 carbonos foi o majoritário entre os álcoois primários (tabela 9), apesar de não ser a substância majoritária na cera.

5.5 Relação dos domínios de coleta com as ceras cuticulares foliares de *Homalolepis* e *Simaba* s.s.

Simaba s.s. e *Homalolepis* são gêneros muito interessantes devido a sua grande plasticidade, por exemplo, em relação a sua capacidade de ocupar diferentes domínios vegetais (Devecchi et al., 2017). A tabela 13 traz as informações sobre as regiões de coleta dos indivíduos estudados quanto à composição química das ceras, além da porcentagem relativa de cada classe de substância encontrada.

De acordo com os dados meteorológicos obtidos pelo INMET, o domínio do Cerrado apresentou umidade relativa menor no período de coleta dos indivíduos analisados quando comparado aos domínios Amazônico e Atlântico. A menor umidade é coerente com os dados de precipitação média, também menor no Cerrado quando comparado a Amazônia. Entretanto, no que se refere a temperatura, o domínio Amazônico foi, em média, mais quente que os outros dois (figura 59).

Figura 59. Comparação entre os teores de cera encontrados nos indivíduos coletados nos domínios Amazônicos, Atlântico e Cerrado, além da caracterização quanto a umidade relativa, temperatura e precipitação nestes três domínios. Letras iguais indicam não haver diferença significativa entre as médias. O domínio da Caatinga não foi considerado nestas análises, pois teve apenas um indivíduo coletado nele, indivíduo 55 (*H. ferruginea*).

Tabela 13. Caracterização das regiões de coleta dos indivíduos estudados quanto a composição química das ceras e porcentagem relativa das classes de substâncias encontradas nas ceras.

IND	ESPÉCIE*	DOMÍNIO	ESTAÇÃO DO INMET	INSOLAÇÃO (hrs)	PRECIPITAÇÃO (mm)	TEMPERATURA (°C)	UMIDADE RELATIVA (%)	AG (%)	AP (%)	AL (%)	EST (%)	FIT (%)	TRI (%)	STD (%)	TOCO (%)
30	<i>H. cedron</i>	Amazônico	PA - Belém	201,5	198,1	28,09	80,65	25,28	4,46	48,81	0,12	0,00	0,00	2,85	0,12
31	<i>H. cedron</i>	Amazônico	AM - Manaus	177,8	202,17	29,26	76,99	36,18	1,24	42,81	0,00	0,00	0,00	2,81	0,58
15	<i>H. paraensis</i>	Amazônico	AC - Rio Branco	130,1	200,33	27,06	87,5	42,05	4,01	15,70	0,90	0,00	0,00	7,80	0,96
54	<i>H. paraensis</i>	Amazônico	AM - Manaus	141,63	244,03	27,66	-	47,35	0,01	6,86	0,00	0,00	0,00	3,82	0,00
19	<i>S. guianensis</i>	Amazônico	AM - Manaus	177,8	202,17	29,26	76,99	10,30	6,86	65,45	0,00	0,00	0,26	1,34	0,56
50	<i>S. guianensis</i>	Amazônico	PA - Belterra	221,83	32,33	28,17	81,51	13,04	1,30	13,52	0,00	0,00	8,99	12,81	0,66
9	<i>S. obovata</i>	Amazônico	AM - Manaus	232,57	32,97	29,78	70,15	24,74	2,66	36,80	0,79	0,00	0,36	2,76	0,21
44	<i>S. obovata</i>	Amazônico	AM - Manaus	126,37	251,07	28,44	82,43	7,67	1,05	68,70	0,00	0,00	0,00	1,86	0,00
10	<i>S. orinocensis</i>	Amazônico	RR - Caracará	219,47	130,8	28,41	82,01	27,36	7,24	21,50	0,00	0,00	0,00	1,42	0,00
28	<i>S. orinocensis</i>	Amazônico	PA - Belém	201,5	198,1	28,09	80,65	29,44	12,65	52,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	<i>S. polyphylla</i>	Amazônico	AM - Manaus	177,8	202,17	29,26	76,99	12,11	2,59	77,59	0,00	0,00	0,00	0,25	0,07
29	<i>Quassia amara</i>	Amazônico	PA - Belém	201,5	198,1	28,09	80,65	29,60	16,54	36,89	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00
17	<i>H. arenaria</i>	Atlântico	SE - Aracaju	249,2	24,3	27,73	72,17	45,54	3,30	12,16	0,00	0,00	0,00	1,48	0,11
59	<i>H. arenaria</i>	Atlântico	BA - Salvador Ondina	196,07	111,7	26,87	80,89	48,35	1,54	38,75	0,00	0,00	0,00	1,83	0,00
12	<i>H. bahiensis</i>	Atlântico	RN - Natal	293,67	26,47	27,02	79,53	36,35	5,80	9,87	0,00	0,00	0,00	1,28	0,12
24	<i>H. cedron</i>	Atlântico	BA - Caravelas	170,6	157,13	24,64	81,87	54,63	0,19	7,09	0,24	0,00	0,00	21,27	0,59
26	<i>H. cedron</i>	Atlântico	BA - Caravelas	170,6	157,13	24,64	81,87	48,40	1,74	11,74	0,00	0,00	0,00	7,55	0,73
27	<i>H. cedron</i>	Atlântico	BA - Salvador Ondina	197,57	175,73	24,61	83,16	43,73	0,92	14,60	0,75	0,00	0,00	1,11	0,56
22	<i>H. cuneata</i>	Atlântico	ES - Vitória	158,37	151,1	24,68	76,47	65,13	5,82	4,19	4,41	0,00	0,00	0,74	0,00
23	<i>H. cuneata</i>	Atlântico	ES - Vitória	158,37	151,1	24,68	76,47	70,24	2,98	4,23	0,00	0,00	0,00	3,30	0,00
25	<i>H. cuneata</i>	Atlântico	BA - Caravelas	170,6	157,13	24,64	81,87	40,78	2,43	6,94	0,00	0,00	0,00	4,36	0,69
16	<i>H. insignis</i>	Atlântico	SP - Mir de Santana	174,27	158,93	24,34	70,74	44,45	3,58	20,09	0,00	0,00	0,00	2,79	0,48
18	<i>H. insignis</i>	Atlântico	SP - Mir de Santana	207,47	148,2	24,08	70,64	73,98	0,87	12,25	0,00	0,00	0,00	0,37	0,00
32	<i>H. insignis</i>	Atlântico	SP - Mir de Santana	207,47	148,2	24,08	70,64	56,78	0,46	5,15	0,00	0,00	0,71	6,43	0,00
33	<i>H. insignis</i>	Atlântico	SP - Mir de Santana	207,47	148,2	24,08	70,64	27,34	0,00	11,33	0,00	0,00	0,00	7,97	0,06
52	<i>H. subcymosa</i>	Atlântico	ES - Vitoria	178,6	54,07	24,18	77,43	9,26	3,73	16,31	0,00	0,00	5,68	3,16	0,00
53	<i>H. subcymosa</i>	Atlântico	ES - São Mateus	233,07	103,6	28,68	75,94	12,07	0,41	18,57	0,00	0,00	0,00	3,86	0,00
13	<i>H. trichilioides</i>	Atlântico	RN - Natal	293,67	26,47	27,02	79,53	44,32	2,65	25,55	0,00	0,00	0,00	4,68	0,33
14	<i>H. trichilioides</i>	Atlântico	RN - Natal	293,67	26,47	27,02	79,53	43,70	1,93	29,09	0,21	0,00	0,00	5,48	0,29
21	<i>Simarouba amara</i>	Atlântico	ES - Vitória	158,37	151,1	24,68	76,47	30,79	4,21	36,43	0,00	0,00	0,82	2,24	0,26
101	<i>H. cedron</i>	Cerrado	GO - Pirenópolis	183	123,5	25,44	73,87	5,87	2,67	80,18	0,00	0,00	0,00	2,16	5,44
102	<i>H. cedron</i>	Cerrado	GO - Pirenópolis	183	123,5	25,44	73,87	8,77	1,03	71,46	0,00	2,00	0,00	1,29	15,06
85	<i>H. cuneata</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	48,60	5,65	15,83	0,00	0,00	0,38	4,57	0,00
86	<i>H. cuneata</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	43,64	6,41	15,35	0,00	0,00	0,31	8,41	1,10
87	<i>H. cuneata</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	35,90	10,71	26,78	0,00	0,00	0,00	2,21	0,17
8	<i>H. ferruginea</i>	Cerrado	MT - Poxoreo	200,17	18,33	25,75	66,64	26,37	5,06	27,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	<i>H. ferruginea</i>	Cerrado	MT - Nova xav	187,6	230,03	28,01	78,56	35,42	2,98	27,67	0,00	1,00	0,00	8,46	0,87
37	<i>H. ferruginea</i>	Cerrado	TO - Palmas	122,9	312,03	26,83	82,41	56,19	1,03	0,44	0,00	0,00	0,00	16,63	0,50
56	<i>H. ferruginea</i>	Cerrado	TO - Palmas	240	41,73	30,52	50,91	31,69	0,00	14,15	0,00	1,00	0,00	8,18	0,00
88	<i>H. floribunda</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	13,32	5,39	79,18	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00
89	<i>H. floribunda</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	36,77	3,14	44,59	0,00	0,00	0,00	3,70	0,66
90	<i>H. floribunda</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	42,86	5,42	42,40	0,00	0,00	0,00	1,49	0,00

Continua na página seguinte

91	<i>H. floribunda</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	23,46	7,00	64,26	0,00	0,00	0,00	1,91	0,00
92	<i>H. floribunda</i>	Cerrado	MG - Araçuaí	204,47	53,17	27,63	55,32	31,53	13,87	42,03	0,00	0,00	0,00	4,33	0,00
45	<i>H. glabra</i>	Cerrado	MS - Ponta Pora	180,6	109,2	27,81	78,77	27,68	1,23	34,79	0,00	2,00	2,61	1,81	1,21
47	<i>H. glabra</i>	Cerrado	MS - Nhumirim Nhecolandia	219,97	31,67	25,14	78,78	41,60	1,68	32,55	0,00	0,00	0,00	5,88	0,00
118	<i>H. glabra</i>	Cerrado	MS - Bela Vista	-	0	20,05	22,05	6,79	1,16	37,54	0,00	1,00	0,00	2,54	48,51
119	<i>H. glabra</i>	Cerrado	MS - Bela Vista	-	0	20,05	22,05	9,67	1,13	40,04	0,00	1,00	0,00	2,91	42,43
57	<i>H. intermedia</i>	Cerrado	TO - Palmas	261	24,03	27,91	58,85	32,56	1,33	9,99	0,00	3,00	2,65	30,59	0,95
58	<i>H. intermedia</i>	Cerrado	TO - Palmas	269,33	37	30,46	45,45	35,45	4,71	0,00	0,00	1,00	1,88	14,54	6,93
1	<i>H. pohliana</i>	Cerrado	TO - Peixe	159,5	244,6	27,1	82,25	37,63	2,43	2,90	0,00	1,00	0,00	18,20	2,38
2	<i>H. pohliana</i>	Cerrado	TO - Peixe	159,5	244,6	27,1	82,25	42,72	1,91	1,97	0,00	4,00	0,00	13,39	4,26
42	<i>H. pohliana</i>	Cerrado	TO - Palmas	122,9	312,03	26,83	82,41	44,13	0,00	11,37	0,00	3,00	2,08	8,63	7,62
4	<i>H. salubris</i>	Cerrado	MS - Ponta Pora	180,6	109,2	27,81	78,77	40,76	6,13	8,58	0,00	1,00	0,00	8,28	1,17
39	<i>H. salubris</i>	Cerrado	MS - Ponta Pora	180,6	109,2	27,81	78,77	71,06	5,12	2,27	0,00	0,00	0,00	5,96	0,00
43	<i>H. salubris</i>	Cerrado	MS - Ponta Pora	180,6	109,2	27,81	78,77	49,33	5,88	3,00	0,00	1,00	1,20	7,14	5,21
108	<i>H. salubris</i>	Cerrado	MS - Sidrolândia	-	0	24,55	56,16	29,72	7,02	27,97	0,00	0,00	0,00	5,10	0,00
109	<i>H. salubris</i>	Cerrado	MS - Sidrolândia	-	0	24,55	56,16	51,91	6,03	3,55	0,00	0,00	0,00	14,40	0,44
6	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Uberaba	259,63	29,33	22,76	55,37	81,94	1,65	3,27	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00
68	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	202,87	112,13	23,78	74,99	91,09	1,49	2,08	0,00	0,00	0,00	1,03	0,00
69	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	202,87	112,13	23,78	74,99	88,01	0,55	3,73	0,00	0,00	0,00	1,88	0,00
70	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	202,87	112,13	23,78	74,99	92,11	1,42	1,54	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00
71	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	202,87	112,13	23,78	74,99	95,90	1,10	0,19	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00
72	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	202,87	112,13	23,78	74,99	95,18	0,75	0,64	0,00	0,00	0,00	1,06	0,00
73	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	202,87	112,13	23,78	74,99	82,27	1,30	7,03	0,00	0,00	0,00	0,75	0,00
113	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	-	0,06	17,39	78,53	4,01	0,67	84,70	0,00	0,00	0,00	1,72	5,86
114	<i>H. planaltina</i>	Cerrado	MG - Bambuí	-	0,06	17,39	78,53	2,76	0,36	87,90	0,00	0,00	0,00	1,42	3,29
7	<i>H. pumila</i>	Cerrado	GO - Jataí	232,07	49	23,3	55,42	59,48	7,77	5,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
115	<i>H. pumila</i>	Cerrado	MS - Costa Rica	-	0,05	21,13	63,51	10,24	0,54	0,65	0,00	6,00	0,00	5,03	64,56
116	<i>H. pumila</i>	Cerrado	MS - Costa Rica	-	0,05	21,13	63,51	14,57	2,99	3,55	0,00	2,00	0,00	9,67	50,23
117	<i>H. pumila</i>	Cerrado	MS - Costa Rica	-	0,05	21,13	63,51	21,72	6,31	3,41	0,00	1,00	0,00	11,35	30,26
3	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	Cerrado	TO - Palmas	122,9	312,03	26,83	82,41	65,82	1,88	1,75	0,00	0,00	0,00	2,27	0,00
48	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	Cerrado	TO - Palmas	122,9	312,03	26,83	82,41	43,94	0,08	2,14	0,00	1,00	0,33	23,24	0,66
49	<i>H. sp.nov. "rigida"</i>	Cerrado	TO - Porto Nacional	261,03	9,2	28,57	50,83	57,72	5,04	4,08	0,00	0,00	0,66	10,41	0,90
5	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Uberaba	266,4	31,8	21,38	59,83	53,87	10,30	3,02	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00
36	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	TO - Peixe	159,5	244,6	27,1	82,25	47,40	3,31	0,73	0,00	3,00	1,38	1,96	14,41
74	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	26,67	7,75	14,73	0,00	0,00	0,00	10,76	0,91
75	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	41,08	10,22	14,58	0,00	0,00	0,00	8,13	0,00
76	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	14,10	2,79	18,39	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00
77	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	21,68	10,23	30,79	0,00	0,00	0,00	0,49	0,00
78	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	29,45	9,85	27,78	0,00	0,00	0,00	3,27	0,00
79	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	59,24	5,30	5,75	0,00	2,00	0,00	10,32	2,13
80	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	53,67	4,28	14,58	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00
81	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	52,15	6,95	8,11	0,00	2,00	0,00	7,92	0,18
82	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	40,44	8,98	18,08	0,00	0,00	0,00	7,22	0,00
83	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Araxá	204,47	133,1	23,36	63,11	59,27	7,40	13,50	0,00	1,00	0,00	4,91	1,70
93	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	GO - Formosa	207,7	228	24,56	69,86	50,91	2,34	12,60	0,00	9,00	0,00	8,50	4,71
94	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	GO - Formosa	207,7	228	24,56	69,86	44,14	8,81	13,51	0,00	2,00	0,00	5,22	0,45
95	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	GO - Formosa	207,7	228	24,56	69,86	27,82	9,68	21,85	0,00	0,00	0,00	4,11	0,44
96	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	GO - Formosa	207,7	228	24,56	69,86	51,34	11,10	12,06	0,00	0,00	0,00	6,97	0,71
110	<i>H. suffruticosa</i>	Cerrado	MG - Uberlândia	-	0,03	20,86	56,86	29,01	2,16	3,26	0,00	1,00	0,00	15,49	25,47

Continua na página seguinte

38	<i>H. tocatina</i>	Cerrado	TO - Palmas	122,9	312,03	26,83	82,41	29,22	2,25	22,14	0,00	3,00	0,00	8,13	17,06
34	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	GO - Formosa	271,17	19,23	22,82	49,65	58,36	2,51	0,37	0,00	2,00	0,00	17,69	0,96
35	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	Go - Formosa	271,17	19,23	22,82	49,65	49,01	1,60	6,15	0,00	1,00	0,00	9,73	0,14
40	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	MS - Ponta Pora	180,6	109,2	27,81	78,77	28,84	1,99	28,07	0,00	1,00	1,89	3,28	2,67
97	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	GO - Pirenopolis	183	123,5	25,44	73,87	18,82	0,46	1,72	0,00	1,00	0,00	2,63	66,03
98	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	GO - Pirenopolis	183	123,5	25,44	73,87	35,46	2,26	2,49	0,00	0,00	0,00	2,90	32,40
99	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	GO - Formosa	191,1	184	24,45	71,71	32,48	2,33	2,33	0,00	3,00	0,00	10,67	30,55
100	<i>H. trichilioides</i>	Cerrado	GO - Formosa	191,1	184	24,45	71,71	23,04	1,62	3,29	0,00	4,00	0,00	7,34	45,00
60	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	15,04	3,48	67,88	0,00	0,00	0,00	1,68	0,00
61	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	21,39	4,85	60,02	0,00	0,00	0,00	2,12	0,00
62	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	21,20	4,13	67,32	0,00	0,00	0,00	0,72	0,00
63	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	18,14	5,56	70,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	12,74	3,54	76,65	0,00	0,00	0,00	1,08	0,00
65	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	13,07	6,83	74,70	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00
66	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Belo Horizonte	189,17	136,37	23,58	60,98	16,68	3,38	68,96	0,00	0,00	0,00	1,01	0,10
111	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Sete lagoas	-	0,02	18,58	71,4	2,76	1,23	84,28	0,00	0,00	0,00	1,71	7,71
112	<i>H. warmingiana</i>	Cerrado	MG - Sete lagoas	-	0,02	18,58	71,4	3,68	1,22	84,71	0,00	0,00	0,00	1,28	4,57
51	<i>S. guianensis</i>	Cerrado	PA - Obidos	223,33	54,47	28,48	76,9	10,69	0,01	37,02	0,00	0,00	7,57	2,75	0,00
106	<i>Simarouba amara</i>	Cerrado	GO - Pirenopolis	183	123,5	25,44	73,87	31,97	8,17	28,99	0,00	0,00	0,00	5,75	0,56
107	<i>Simarouba amara</i>	Cerrado	GO - Pirenopolis	183	123,5	25,44	73,87	40,19	9,91	26,47	0,00	0,00	0,00	6,23	0,05
103	<i>Simarouba versicolor</i>	Cerrado	GO - Formosa	191,1	184	24,45	71,71	9,66	12,15	16,46	0,00	0,00	4,81	2,16	1,02
104	<i>Simarouba versicolor</i>	Cerrado	GO - Formosa	191,1	184	24,45	71,71	58,90	20,87	6,20	0,00	0,00	3,10	1,33	0,00
105	<i>Simarouba versicolor</i>	Cerrado	GO - Formosa	191,1	184	24,45	71,71	49,15	18,42	3,61	0,00	0,00	0,00	2,96	0,00
55	<i>H. ferruginea</i>	Caatinga	-	-	-	-	-	30,56	3,55	51,68	0,00	0,11	0,52	3,27	0,00

* **AG:** ácidos graxos; **AP:** álcoois primários; **AL:** alcanos; **EST:** éster; **FIT:** fitol; **TRI:** triterpenos; **STD:** esteroides; **TOCO:** tocoferóis.

De acordo com a literatura, ambientes menos úmidos, assim como aqueles com maiores temperaturas, podem estimular a maior produção de cera pelas plantas (Koch et al., 2006c; Shepherd & Griffiths, 2006). Aparentemente, a menor umidade parece ter mais influência no teor geral de cera dos indivíduos analisados neste trabalho, visto a média obtida para os indivíduos coletados no Cerrado ser significativamente maior que aquelas obtidas para os indivíduos coletados nos domínios Amazônico e Atlântico (figura 59).

Cabe lembrar que, como já mencionado, *Simaba* s.s. é predominantemente amazônico e, nossos dados mostram que as espécies deste gênero apresentam expressivas quantidades de alcanos nas suas ceras (figura 39). Analisando a porcentagem relativa das classes dos componentes das ceras, os indivíduos do domínio Amazônico apresentaram porcentagens relativas de alcanos muito altas (tabela 13). Segundo Oliveira e colaboradores (2003) esta classe é a mais eficiente como barreira a perda de água, quando comparada a outras classes comuns em ceras cuticulares. Dessa forma, sugerimos que essa maior porcentagem de alcanos nas ceras dos indivíduos do domínio amazônico parece estabelecer um equilíbrio entre os menores teores de cera e maiores temperaturas.

Outra característica ambiental que pode influenciar a deposição de ceras cuticulares nas superfícies das plantas é a radiação. A maior exposição dos indivíduos as radiações solares pode ser um fator capaz de estimular maiores teores de cera (Baker, 1974; Shepherd & Griffiths, 2006). De acordo com Coutinho (2006) o domínio do Cerrado é caracterizado, de modo geral, por apresentar formações mais abertas, muitas vezes sem a formação de um dossel, levando a maior exposição dos indivíduos a luminosidade. O oposto é encontrado para os domínios Amazônico e Atlântico, os quais são geralmente compostos por florestas densas com a formação de um dossel. Ainda que este parâmetro (radiação) não tenha sido medido efetivamente nas regiões de coleta dos indivíduos analisados, este pode também ser visto como importante no maior teor de cera observado nas plantas de Cerrado quando comparada àquelas dos domínios Amazônico e Atlântico.

Numa análise de componentes principais considerando a porcentagem relativa de cada classe de componentes das ceras cuticulares nos indivíduos amostrados relacionada aos domínios de coleta, observa-se uma ampla distribuição destes indivíduos ao longo dos eixos (figura 60). Ou seja, não há, no geral, formação de grupos definidos de indivíduos relacionados aos domínios. Somente parte dos indivíduos Amazônicos parece formar um aglomerado distinguível, influenciado pela classe dos alcanos, sendo composto pelos indivíduos de *Simaba*

s.s., com exceção apenas de um, *S. guianensis* (50) e por dois indivíduos de *H. cedron* e o único de *Q. amara*.

Figura 60. Análise de componentes principais a partir da matriz de correlação da porcentagem relativa de cada classe de substâncias identificadas nos indivíduos realçadas de acordo com o domínio de coleta. O círculo tracejado em vermelho mostra o aglomeramento de indivíduos Amazônicos. Setas em cinza nomeiam os indivíduos pertencentes ao domínio Amazônico.

Já os indivíduos coletados nos domínios do Cerrado e Atlântico compreendem principalmente as espécies de *Homalolepis*, caracterizadas por apresentar ampla distribuição geográfica e ocupar biomas bastante diferentes, desde campos e savanas no Cerrado a regiões de mata ombrófila e restingas Atlânticas. Essa diversidade de ambientes em que estes indivíduos estão presentes parece contribuir para a ampla diversidade observada na composição química das ceras, fazendo com que não haja a formação de grupos claros em relação aos domínios (Shepherd & Griffiths, 2006).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Poucos dados sobre a composição química e morfologia das ceras cuticulares de Sapindales encontram-se disponíveis na literatura. Este estudo traz dados inéditos sobre estes aspectos para diferentes espécies de *Simaba* s.s. e *Homalolepis*, gêneros recém divididos e que ainda apresentam espécies não completamente bem definidas. Dessa forma, os dados deste trabalho contribuem para o conhecimento das ceras na ordem, visto que ainda muito pouco foi estudado em Sapindales.

As ceras das diferentes espécies estudadas mostraram-se ser muito semelhantes em relação às classes de substâncias apresentadas, sendo as principais os ácidos graxos e alcanos. A análise do teor destas duas classes permitiu distinguir as espécies em nível de gênero. Entretanto, o estudo da composição de homólogos e a morfologia das ceras cuticulares não foram capazes de trazer informações que contribuíssem para a distinção entre os gêneros e/ou as espécies. Entretanto *Simaba* s.s. e *Homalolepis* são gêneros caracteristicamente plásticos em diversos aspectos, sendo um deles a capacidade de se estabelecer em ambientes distintos. Um estudo focado nas espécies de ampla distribuição poderia fornecer dados mais conclusivos de como as ceras se comportam em relação às características ambientais, além de poder auxiliar no estabelecimento do restante das espécies na filogenia.

Os dados obtidos em relação a composição química e morfologia das ceras foliares de *Simaba* s.s. e *Homalolepis* estão de acordo com o que há descrito para outros gêneros em Sapindales e para angiospermas de modo geral, entretanto a presença de fitol e ácidos dicarboxílicos, precisa ser revista, visto que foram substâncias identificadas e não reportadas em cera.

A correlação do teor e/ou composição das ceras com os domínios de coleta foi parcialmente possível. De modo geral, indivíduos coletados no Cerrado apresentam mais cera do que aqueles coletados nos domínios Amazônico e Atlântico. Entretanto, quanto à proporção das classes de componentes da cera, não houve a formação de grupos claros relacionados aos domínios, principalmente em relação aos domínios Atlântico e Cerrado, pois os indivíduos presentes nestes domínios ocupam grande diversidade de biomas, que podem ter influenciado de diferentes formas cada classe de substância das ceras.

7. REFERÊNCIAS

- Al-Khatib, M., & Al-Eisawi, D. (2015). Leaf Surface Properties of the Genus *Haplophyllum* (Rutaceae) in Jordan. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(12), 151-156.
- Almeida, M. M. B., Arriaga, Â. M. C., Dos Santos, A. K. L., Lemos, T. L. G., Braz-Filho, R., & Curcino Vieira, I. J. (2007). Ocorrência e atividade biológica de quassinoides da última década. *Química Nova*, 30(4), 935–951.
- Alves, I. A., Miranda, H. M., Soares, L. A., & Randau, K. P. (2014). Simaroubaceae family: botany, chemical composition and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(4), 481-501.
- Andrási, N., Helenkár, A., Záray, G., Vasanits, A., & Molnár-Perl, I. (2011). Derivatization and fragmentation pattern analysis of natural and synthetic steroids, as their trimethylsilyl (oxime) ether derivatives by gas chromatography mass spectrometry: Analysis of dissolved steroids in wastewater samples. *Journal of Chromatography A*, 1218(14), 1878-1890.
- Andreoli, R., Manini, P., Poli, D., Bergamaschi, E., Mutti, A., & Niessen, W. M. (2004). Development of a simplified method for the simultaneous determination of retinol, α -tocopherol, and β -carotene in serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 378(4), 987-994.
- Atkin, D. S. J., & Hamilton, R. J. (1982). The changes with age in the epicuticular wax of *Sorghum bicolor*. *Journal of Natural Products*, 45(6), 697-703.
- Báez-Sañudo, R., Tafolla-Arellano, J. C., González-León, A., Tiznado-Hernández, M. E., & García, L. Z. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en Plantas. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 36(1), 3–12.
- Baker, E. A. (1974). The influence of environment on leaf wax development in *Brassica oleracea* var. *gemmifera*. *New Phytologist*, 73(5), 955-966.
- Baker, E. A. (1982). Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In *Linnean Society symposium series*.

- Baker, E. A., Procopiou, J., & Hunt, G. M. (1975). The cuticles of *Citrus* species. Composition of leaf and fruit waxes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26(8), 1093-1101.
- Barbosa, L. F., Braz-Filho, R., & Vieira, I. J. C. (2011). Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae). *Chemistry & biodiversity*, 8(12), 2163-2178.
- Barthlott, W., Mail, M., Bhushan, B., & Koch, K. (2017). Plant surfaces: structures and functions for biomimetic innovations. *Nano-Micro Letters*, 9(2), 23.
- Barthlott, W. (1994). In H. D. Behnke & T. Mabry(Eds.), *Caryophyllales: Evolution and systematics*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Barthlott, W., & Neinhuis, C. (1997). Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta*, 202(1), 1-8.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., & Wilhelm, H. (1998). Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 126, 237–260.
- Bateman, R. M., Crane, P. R., Dimichele, W. A., Kenrick, P. R., Rowe, N. P., Speck, T., ... Stein, W. E. (2016). Early evolution of land plants: Phylogeny, physiology, and ecology of the primary terrestrial radiation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29(1998), 263–292.
- Baumgartner, W., Scholz, I., Bückins, M., Dolge, L., Erlinghagen, T., Weth, A., Hischen, F., Mayer, J., Hoffmann, S., Riederer, M. & Riedel, M. (2010). Slippery surfaces of pitcher plants: *Nepenthes* wax crystals minimize insect attachment via microscopic surface roughness. *Journal of Experimental Biology*, 213(7), 1115-1125.
- Becker, R., Pączkowski, C., & Szakiel, A. (2017). Triterpenoid profile of fruit and leaf cuticular waxes of edible honeysuckle *Lonicera caerulea* var. *kamtschatica*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 86(1), 3539.
- Beisson, F., Li-Beisson, Y., & Pollard, M. (2012). Solving the puzzles of cutin and suberin polymer biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(3), 329–337.
- Behrman, E. J., & Gopalan, V. (2005). Cholesterol and plants. *Journal of Chemical Education*, 82(12), 1791-1793.

- Belhadj, S., Derridj, A., Aigouy, T., Gers, C., Gauquelin, T., & Mevy, J. P. (2007). Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). *Microscopy research and technique*, 70(10), 837-846.
- Bernard, A., & Joubès, J. (2013). Arabidopsis cuticular waxes: Advances in synthesis, export and regulation. *Progress in Lipid Research*, 52(1), 110–129.
- Bi, X., Sheng, G., Liu, X., Li, C., & Fu, J. (2005). Molecular and carbon and hydrogen isotopic composition of n-alkanes in plant leaf waxes. *Organic geochemistry*, 36(10), 1405-1417.
- Bonato, P. S. (2006). Cromatografia gasosa. In: C. H. Collins, G. L. Braga & P. S. Bonato (orgs.). *Fundamentos de Cromatografia*. Editora Unicamp.
- Bondada, B. R., Oosterhuis, D. M., Murphy, J. B., & Kim, K. S. (1996). Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. *Environmental and Experimental Botany*, 36(1), 61-69.
- Bourdenx, B., Bernard, A., Domergue, F., Pascal, S., Léger, A., Roby, D., ... & Lessire, R. (2011). Overexpression of Arabidopsis CER1 promotes wax VLC-alkane biosynthesis and influences plant response to biotic and abiotic stresses. *Plant physiology*, pp-111.
- Bouzoubaâ, Z., El Mousadik, A., & Belahsen, Y. (2006). Variation in amounts of epicuticular wax on leaves of *Argania spinosa* (L). Skeels. *Acta Botanica Gallica*, 153(2), 167-177.
- Brooks, C. J. W., Horning, E. C., & Young, J. S. (1968). Characterization of sterols by gas chromatography-mass spectrometry of the trimethylsilyl ethers. *Lipids*, 3(5), 391-402.
- Budke, J. M., Goffinet, B., & Jones, C. S. (2012). The cuticle on the gametophyte calyptra matures before the sporophyte cuticle in the moss *Funaria hygrometrica* (Funariaceae). *American Journal of Botany*, 99(1), 14-22.
- Budzikiewicz, H., Wilson, J., & Djerassi, C. (1963). Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. 1 Pentacyclic triterpenes. *Journal of the American Chemical Society*, 85(22), 3688-3699.
- Bush, R. T., & McInerney, F. A. (2013). Leaf wax n-alkane distributions in and across modern plants: implications for paleoecology and chemotaxonomy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 117, 161-179.

- Busta, L., Budke, J. M., & Jetter, R. (2016). Identification of β -hydroxy fatty acid esters and primary, secondary-alkanediol esters in cuticular waxes of the moss *Funaria hygrometrica*. *Phytochemistry*, 121, 38-49.
- Cajuste, J. F., González-Candelas, L., Veyrat, A., García-Breijo, F. J., Reig-Armiñana, J., & Lafuente, M. T. (2010). Epicuticular wax content and morphology as related to ethylene and storage performance of 'Navelate' orange fruit. *Postharvest biology and technology*, 55(1), 29-35.
- Carr, A. S., Boom, A., Grimes, H. L., Chase, B. M., Meadows, M. E., & Harris, A. (2014). Leaf wax n-alkane distributions in arid zone South African flora: environmental controls, chemotaxonomy and palaeoecological implications. *Organic Geochemistry*, 67, 72-84.
- Carpita, N. C., Ralph, J., & McCann, M. C. (2015). The cell wall. In: B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular biology of plants*. John Wiley & Sons Ltd.
- Cavalcante, P. B. (1983). Revisão taxonomica do gênero *Simaba* Aubl. (Simaroubaceae) na América do Sul. *Publicações Avulsas*, Museu Goldi, (37).
- Cavalli, S. S., & Winge, H. (2003). Variabilidade genética em populações naturais. In L. B. Freitas & F. Bered (org.), *Genética & Evolução vegetal*. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Christie, W. W. (2017). *Mass spectrometry of wax esters*. Acessado em fevereiro de 2018. Disponível em <http://www.lipidhome.co.uk/ms/others/waxesters/index.htm>
- Clayton, J. W., Fernando, E. S., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2007). Molecular phylogeny of the tree-of-heaven family (*Simaroubaceae*) based on chloroplast and nuclear markers. *International Journal of Plant Sciences*, 168(9), 1325-1339.
- Clayton, J. W., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2009). Recent long-distance dispersal overshadows ancient biogeographical patterns in a pantropical angiosperm family (*Simaroubaceae*, Sapindales). *Systematic Biology*, 58(4), 395-410.
- Clayton, J. W. (2011). *Simaroubaceae*. In: K. Kubitzki (Ed.), *The families and genera of vascular plants, volume X: Flowering plants eudicots Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae*. Springer US.
- Coutinho, L. M. (2006). O conceito de bioma. *Acta Botanica Brasilica*, 20(1), 13–23.

- Coutinho, L. M. (2016). *Biomass brasileiros*. In: B. Dias (apresentação). Oficina de textos.
- Crisci, J. V., & Armengol, M. F. L. (1983). *Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica* (No. 57.06 CRI). Washington^ Ed.
- Cronquist, A. (1944). Studies in the Simaroubaceae III: the genus *Simaba*. *Lloydia*, 7, 81-92.
- Darienko, T., Gustavs, L., Mudimu, O., Menendez, C. R., Schumann, R., Karsten, U., Friedl, T., & Pröschold, T. (2010). Chloroidium, a common terrestrial coccoid green alga previously assigned to Chlorella (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *European Journal of Phycology*, 45(1), 79-95.
- DellaPenna, D., & Pogson, B. J. (2006). Vitamin synthesis in plants: Tocopherols and carotenoids. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 711–738.
- Devecchi, M. F., & Pirani, J. R. (2015). A new species of *Simaba* sect. *Grandiflorae* (Simaroubaceae) from Jalapão region, Tocantins, Brasil. *Phytotaxa*, 227(2), 167.
- Devecchi, M. F., Thomas, W. W., & Pirani, J. R. (2016). *Simaba arenaria* (Simaroubaceae): a new species from sandy coastal plains in northeastern Brazil, with notes on seedling morphology. *Systematic Botany*, 41(2), 401–407.
- Devecchi, M. F., Thomas, W. W., & Pirani, J. R. (2018). Two new dwarf species of *Homalolepis* (Simaroubaceae) from the Brazilian Cerrado (Neotropical savanna). *Phytotaxa*, 336(3), 252-262.
- Devecchi, M. F., Thomas, W. W., Plunkett, G. M., & Pirani, J. R. (2017). Testing the monophyly of *Simaba* (Simaroubaceae): Evidence from five molecular regions and morphology. *Molecular phylogenetics and evolution*, 120, 63-82.
- Devecchi, M. F. (2017). Phylogeny and Systematics of *Simaba* Aubl. (Simaroubaceae). *Tese de doutorado*. Universidade de São Paulo, Brasil.
- Dewick, P. (2002). *Medicinal natural products: A biosynthetic Approach (Second)*. John Wiley & Sons Ltd.
- Dewick, P. (2009). *Medicinal natural products: A biosynthetic Approach (Third)*. John Wiley & Sons Ltd.

- Dias-Leme, C. L., Hohlemwerger, S. V., Armando-Jr, J., Guedes, M. L., Edijane, M., & Eudes, S. V. (2013). Leaflet Anatomy and Epicuticular Wax Composition of *Zanthoxylum tingoassuiba* (Rutaceae). *Lat. Am. J. Pharm*, 32(3), 425-30.
- Dodd, R. S., & Poveda, M. M. (2003). Environmental gradients and population divergence contribute to variation in cuticular wax composition in *Juniperus communis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11), 1257-1270.
- Domínguez, E., Heredia-Guerrero, J. A., & Heredia, A. (2011). The biophysical design of plant cuticles: An overview. *New Phytologist*, 189(4), 938–949.
- Dorp, K., Hölzl, G., Plohmman, C., Eisenhut, M., Abraham, M., Weber, A. P., ... & Dörmann, P. (2015). Remobilization of phytol from chlorophyll degradation is essential for tocopherol synthesis and growth of Arabidopsis. *The Plant Cell*, 27(10), 2846-2859.
- Doyle, J. A. (2013). Phylogenetic analyses and morphological innovations in land plants. In: B. A. Ambrose & M. Purugganan (Eds.), *Annual plant reviews, volume 45: The evolution of plant form*.
- Dutra, N. N., Alves, H. D. M., Carvalho, M. G., & Braz-Filho, R. (1992). Constituintes Químicos de *Simaba obovata* (Sprice). *Química Nova*, 15, 10-13.
- Eastman, P. A. K., Dengler, N. G., & Peterson, C. A. (1988). Suberized bundle sheaths in grasses (Poaceae) of different photosynthetic types I. Anatomy, ultrastructure and histochemistry. *Protoplasma*, 142(2-3), 92–111.
- Eglinton, G., & Logan, G. A. (1991). Molecular preservation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 333(1268), 315-328.
- Eigenbrode, S. D. & Espelie, K. E. (1995). Effects of plant epicuticular lipids on insects herbivores. *Annual review of entomology*, 40(1), 171-194.
- Engler, A. (1874). Simaroubaceae. In C. P. F. Martius & A. G. Eichler (Eds.), *Flora brasiliensis, vol 12, pars 2*, Frid. Fleischer, Leipzig.
- Faboya, O. O. P., Okogun, J. I., & Goddard, D. R. (1980). Dependence of the hydrocarbon constituents of the leaf waxes of *Khaya* species on leaf age. *Phytochemistry*, 19(6), 1226-1227.

- Fahn, A., Shomer, I., & Ben-Gera, I. (1973). Occurrence and structure of epicuticular wax on the juice vesicles of citrus fruits. *Annals of Botany*, 38(4), 869-872.
- Felfili, J. M., Eisenlohr, P. V., Melo, M. M. R. F., Andrade, L. A., & Meira-Neto, J. A. A. (2011). Fitossociologia no Brasil: métodos e estudos de casos. *Viçosa: Editora UFV*, 558.
- Fernandes, A. M. S.; Baker, E. A. & Martin, J. T. (1964). Studies on plant cuticle. VI. The isolation and fractionation of cuticular waxes. *Annals of Applied Biology*, 53(1), 43-58.
- Fich, E. A., Segerson, N. A., & Rose, J. K. C. (2016). The plant polyester cutin: Biosynthesis, structure, and biological roles. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1).
- Flora do Brasil 2020. (2017). *Administrado pelo Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Acessado em março de 2017. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/-reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxonCP>
- Flora do Brasil 2020. (2018). *Administrado pelo Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Acessado em fevereiro de 2018. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB222>
- Graham, L. E. (1996). Green algae to land plants: An evolutionary transition. *Journal of Plant Research*, 109, 241–251.
- Griffiths, D. W., Robertson, G. W., Shepherd, T., Birch, A. N. E., Gordon, S. C., & Woodford, J. A. T. (2000). A comparison of the composition of epicuticular wax from red raspberry (*Rubus idaeus* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) flowers. *Phytochemistry*, 55(2), 111–116.
- Grimm, B; Tanaka, R., Oster, U., Kruse, E., & Rüdiger, W. (1999). Reduced activity of geranylgeranyl reductase leads to loss of chlorophyll and tocopherol and to partially geranylgeranylated chlorophyll in transgenic tobacco plants expressing antisense RNA for geranylgeranyl reductase. *Plant Physiology*, 120(3), 695-704.
- Ghosh, S. (2016). Biosynthesis of structurally diverse triterpenes in plants: the role of oxidosqualene cyclases. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 82(4), 1189-1210.
- Guelz, P. G., Scora, R. W., Mueller, E., & Marner, F. J. (1987). Epicuticular leaf waxes of *Citrus halimii* Stone. *Journal of agricultural and food chemistry*, 35(5), 716-720.

- Gülz, P. G., Müller, E., & Prasad, R. B. N. (1991). Developmental and seasonal variations in the epicuticular waxes of *Tilia tomentosa* leaves. *Phytochemistry*, 30(3), 769-773.
- Guo, N., Gao, J., He, Y., & Guo, Y. (2016). Compositae plants differed in leaf cuticular waxes between high and low altitudes. *Chemistry & biodiversity*, 13(6), 710-718.
- Guo, Y., He, Y., Guo, N., Gao, J., & Ni, Y. (2015). Variations of the Composition of the Leaf Cuticular Wax among Chinese Populations of *Plantago major*. *Chemistry & biodiversity*, 12(4), 627-636.
- Guo, Z., Vangapandu, S., Sindelar, R. W., Walker, L. a, & Sindelar, R. D. (2005). Biologically active quassinoids and their chemistry: potential leads for drug design. *Current Medicinal Chemistry*, 12(2), 173–190.
- Heartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22), 2831-2846.
- Hauke, V., & Schreiber, L. (1998). Ontogenetic and seasonal development of wax composition and cuticular transpiration of ivy (*Hedera helix* L.) sun and shade leaves. *Planta*, 207(1), 67-75.
- Heldt, H. W., & Heldt, F. (1997). *Plant biochemistry and molecular biology*.
- Heredia, A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1620(1-3), 1-7.
- Heredia, A., Casado, C. G., Laguna, L., Reina, J. J., Serrano, J. M., & Dominguez, E. (1998). La cutícula vegetal : Estructura y funciones. *Ecología*, (12), 293–305.
- Jeffree, C. E. (2006). The fine structure of the plant cuticle. In: M. Riederer & C. Müller (Eds.), *Annual plant reviews, volume 23: Biology of the plant cuticle*. Blackwell publishing Ltd.
- Jeffree, C. E., Baker, E. A., & Holloway, P. J. (1975). Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular wax. *New Phytologist*, 75(3), 539-549.
- Jetter, R., Schäffer, S., & Riederer, M. (2000). Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L. *Plant, Cell & Environment*, 23(6), 619-628.

- Johann, S., Oliveira, V. L. D., Pizzolatti, M. G., Schripsema, J., Braz-Filho, R., Branco, A., & Smânia Jr, A. (2007). Antimicrobial activity of wax and hexane extracts from *Citrus spp.* peels. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102(6), 681-685.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., & Donoghue, M. J. (2008). *Sistemática vegetal: Um enfoque filogenético* (Terceira). ARTMED Editora SA.
- Juniper B. E. & Jeffree, C. E. (1983). *Plant surfaces*. Butler & Tanner Ltd.
- Kerstiens, G. (1996). Cuticular water permeability and its physiological significance. *Journal of Experimental Botany*, 47(305), 1813–1832.
- Kerstiens, G. (2006). Water transport in plant cuticles: an update. *Journal of Experimental Botany*, 57(11), 2493-2499.
- Knights, B. A. (1967). Identification of plant sterols using combined GLC/mass spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, 5(6), 273-282.
- Koch, K., Ensikat, H. J., Boese, M., Mader, W. & Barthlott, W. (2006a). Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. *Chemistry and Physics of lipids*, 144(1), 45-59.
- Koch, K., Barthlott, W., Koch, S., Hommes, A., Wandelt, K., Mamdouh, W., De-Feyter, S. & Broekmann, P. (2006b). Structural analysis of wheat wax (*Triticum aestivum*, cv ‘Naturastar’L.): from the molecular level to three dimensional crystals. *Planta*, 223(2), 258-270.
- Koch, K., Hartmann, K. D., Schreiber, L., Barthlott, W., & Neinhuis, C. (2006c). Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 1-9.
- Koch, K., & Barthlott, W. (2009). Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Philosophical transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1893), 1487–509.
- Koch, K., & Ensikat, H. J. (2008). The hydrophobic coatings of plant surfaces: Epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly. *Micron*, 39(7), 759–772.

- Kolattukudy, P. E. (2001). Polyesters in higher plants. *Advances in Biochemical Engineering/biotechnology*, 71, 1–49.
- Kolesnikova, M. D., Xiong, Q., Lodeiro, S., Hua, L., & Matsuda, S. P. (2006). Lanosterol biosynthesis in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 447(1), 87-95.
- Kopp, M. M., De Souza, V. Q., Coimbra, J. L. M., da Luz, V. K., Marini, N., & de Oliveira, A. C. (2007). Melhoria da correlação cofenética pela exclusão de unidades experimentais na construção de dendrogramas. *Revista da FZVA*, 14(2).
- Kosma, D. K., Bourdenx, B., Bernard, A., Parsons, E. P., Lü, S., Joubès, J., & Jenks, M. A. (2009). The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151(4), 1918-1929.
- Kosma, D. K., Nemacheck, J. A., Jenks, M. A., & Williams, C. E. (2010). Changes in properties of wheat leaf cuticle during interactions with Hessian fly. *The Plant Journal*, 63(1), 31-43.
- Krishna, K. N., Wolosiuk, R. A. & Malkin, R. (2015). In B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular biology of plants*. John Wiley & Sons Ltd.
- Kunst, L. & Haslam T. M. (2013). Extending the story of very-long-chain fatty acid elongation. *Plant Science*, 210, 93-107.
- Kunst, L. & Samuels, A. L. (2003). Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Progress in Lipid Research*, 42(1), 51–80.
- Kunst, L., & Samuels, L. (2009). Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(6), 721–727.
- Kutchan, T. M., Gershenzon, J., Moller, B. L. M., & Gang, D. R. (2015). Natural products. In B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular biology of plants*. John Wiley & Sons Ltd.
- Le Provost, G., Domergue, F., Lalanne, C., Campos, P. R., Grosbois, A., Bert, D., ... & Gion, J. M. (2013). Soil water stress affects both cuticular wax content and cuticle-related gene expression in young saplings of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). *BMC plant biology*, 13(1), 95.
- Leide, J., Hildebrandt, U., Reussing, K., Riederer, M., & Vogg, G. (2007). The developmental pattern of tomato fruit wax accumulation and its impact on cuticular transpiration

barrier properties: effects of a deficiency in a β -ketoacyl-coenzyme A synthase (LeCER6). *Plant Physiology*, 144(3), 1667-1679.

- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., & De Clerck, O. (2012). Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(1), 1–46.
- Lewis, L. A., & McCourt, R. M. (2004). Green algae and the origin of land plants. *American journal of botany*, 91(10), 1535-1556.
- Liu, D. C., Zeng, Q., Ji, Q. X., Liu, C. F., Liu, S. B., & Liu, Y. (2012). A comparison of the ultrastructure and composition of fruits' cuticular wax from the wild-type 'Newhall' navel orange (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck cv. Newhall) and its glossy mutant. *Plant cell reports*, 31(12), 2239-2246.
- Liu, D., Yang, L., Zheng, Q., Wang, Y., Wang, M., Zhuang, X., ... & Liu, Y. (2015). Analysis of cuticular wax constituents and genes that contribute to the formation of 'glossy Newhall', a spontaneous bud mutant from the wild-type 'Newhall' navel orange. *Plant molecular biology*, 88(6), 573-590.
- Massaro, C. F., Simpson, J. B., Powell, D., & Brooks, P. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of honeybee (*Apis mellifera* ligustica) propolis from subtropical eastern Australia. *The Science of Nature*, 102(11-12), 68.
- McChesney, J. D., Cabral, J. A., & Milhous, W. K. (1993). A new antimalarial quassinoid from *Simaba orinocensis*. *Journal of Natural Products*, 56(11), 1954–1961.
- McDonald, R. E., Nordby, H. E., & McCollum, T. G. (1993). Epicuticular wax morphology and composition are related to grapefruit chilling injury. *HortScience*, 28(4), 311-312.
- Medina, E., Aguiar, G., Gomez, M., Aranda, J., Medina, J. D., & Winter, K. (2006). Taxonomic significance of the epicuticular wax composition in species of the genus *Clusia* from Panama. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(4), 319-326.
- Mikaia, A., Neta, P., ... & Yang, X. (2008). NIST Standard Reference Database 1A.
- Mimura, M. R., Salatino, M. L., Salatino, A., & Baumgratz, J. F. (1998). Alkanes from foliar epicuticular waxes of *Huberia* species: taxonomic implications. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26(5), 581-588.

- Mohtashamian, M., Attar, F., Kavousi, K., & Masoudi-Nejad, A. (2017). Micromorphological studies of leaf epidermal features in populations of maples (*Acer* L.) from Iran. *Phytotaxa*, 299(1), 36-54.
- Moretti, C., Deharo, E., Sauvain, M., Jardel, C., Timon David, P., & Gasquet, M. (1994). Antimalarial activity of cedronin. *Journal of Ethnopharmacology*, 43(1), 57–61.
- Motta, L. B., Salatino, A., & Salatino, M. L. (2009). Foliar cuticular alkanes of Camarea (Malpighiaceae) and their taxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(1), 35-39.
- Muellner-Riehl, A. N., Weeks, A., Clayton, J. W., Buerki, S., Nauheimer, L., Chiang, Y. C., ... & Pell, S. K. (2016). Molecular phylogenetics and molecular clock dating of Sapindales based on plastid *rbcL*, *atpB* and *trnL-trnF* DNA sequences. *Taxon*, 65(5), 1019-1036.
- Muhammad, I., Bedir, E., Khan, S. I., Tekwani, B. L., Khan, I. A., Takamatsu, S., ... & Walker, L. A. (2004). A New Antimalarial Quassinoid from *Simaba orinocensis*. *Journal of natural products*, 67(5), 772-777.
- Müller, C. (2006). Plant-insect interactions on cuticular surfaces. In: M. Riederer & C. Müller (Eds.), *Annual plant reviews, volume 23: Biology of the plant cuticle*. Blackwell publishing Ltd.
- Müller, C., & Riederer, M. (2005). Plant surface properties in chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 31(11), 2621-2651.
- Negri, G., Salatino, M. L., Salatino, A., & Skorupa, L. A. (1998). An aromatic hydrocarbon from the foliar epicuticular wax of *Pilocarpus jaborandi*. *Phytochemistry*, 49(1), 127-129.
- Nip, M., Tegelaar, E. W., de Leeuw, J. W., Schenck, P. A., & Holloway, P. J. (1986). A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles: Evidence from pyrolysis and ¹³C-NMR analysis of present-day and fossil plants. *Naturwissenschaften*, 73(10), 579–585.
- NIST. (2017a). *Suberic acid, 2TMS derivative*. Acessado em março de 2018. Disponível em <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C43199480&Units=SI&Mask=200#Mass-Spec>
- NIST. (2017b). *Azelaic acid, 2TMS derivative*. Acessado em março de 2018. Disponível em <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C17906080&Units=SI&Mask=200#Mass-Spec>

- Noda, M., Tanaka, M., Seto, Y., Aiba, T., & Oku, C. (1988). Occurrence of cholesterol as a major sterol component in leaf surface lipids. *Lipids*, 23(5), 439-444.
- Nordby, H. E., & McDonald, R. E. (1990). Squalene in grapefruit wax as a possible natural protectant against chilling injury. *Lipids*, 25(12), 807-810.
- Nordby, H. E., & McDonald, R. E. (1994). Friedelin, the major component of grapefruit epicuticular wax. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3), 708-713.
- Nordby, H. E., & Nagy, S. (1977). Hydrocarbons from epicuticular waxes of citrus peels. *Phytochemistry*, 16(9), 1393-1397.
- Noronha, J. P. C. (2001). Metabólitos secundários do fruto de *Arbutus unedo* L. (Medronho). *Dissertação de mestrado*. Universidade Nova de Lisboa, Portugal.
- Nunomura, R. C. V.; Pinto, A. C.; Nunomura, S. M.; Pohlit, A. M. & Amaral, A. C. F. (2012). Constituintes químicos dos galhos de *Simaba guianensis* subesp. *ecaudata* (cronquist). *Química Nova*, 35(11), 2153-2158
- Ohlrogge, J., Browse, J., Jaworski, J., & Somerville, C. (2015). Lipids. In B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular biology of plants*. John Wiley & Sons Ltd.
- Oliveira, A. F., & Salatino, A. (2000). Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(9-10), 688-692.
- Oliveira, A. F. M., Meirelles, S. T., & Salatino, A. (2003). Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 75(4), 431-439.
- Oliveira, E. C. (2003). *Introdução à biologia vegetal* (Segunda). Editora da Universidade de São Paulo.
- Olubunmi, A., Gabriel, O. A., Stephen, A. O., & Scott, F. O. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of cuticular wax from *Kigelia africana*. *FABAD J Pharm Sci*, 34, 187-194.

- Paroul, N., Cansian, R. L., Rossato, M., Pauletti, G. F., Serafini, L. A., Rota, L., ... & Heinzen, H. (2009). Use of palmae wax hydrocarbon fractions as chemotaxonomical markers in *Butia* and *Syagrus*. *Brazilian Journal of Biology*, 69(2), 353-361.
- Peschel, S., Franke, R., Schreiber, L., & Knoche, M. (2007). Composition of the cuticle of developing sweet cherry fruit. *Phytochemistry*, 68(7), 1017-1025.
- Pimentel, B. S. (2014). Constituintes de ceras cuticulares de espécies de *Croton* L. *Dissertação de mestrado*. Universidade de São Paulo, Brasil.
- Polonsky, J. (1973). Quassinoid Bitter Principles. In: M. J. Cormier *et al.* (Eds.). *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*. Springer Vienna, 101-150.
- Polonsky, J. (1985). Quassinoid Bitter Principles II. In: *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Springer Vienna, 221-264.
- Polonsky, J., Moretti, C., Bhatnagar, S., & Beloeil, J. (1986). Two new quassinoids from *Simaba multiflora* fruits. *Journal of Natural Products*, 49(3), 440-444.
- Post-Beittenmiller, D. (1996). Biochemistry and molecular biology of wax production in plants. *Plant Biology*, 47(1), 405-430.
- Qiu, Y. L., Li, L., Wang, B., Chen, Z., Knoop, V., Groth-Malonek, M., ... & Estabrook, G. F. (2006). The deepest divergences in land plants inferred from phylogenomic evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(42), 15511-15516.
- Randau, K. P., Alves, I. A. B. S., Miranda, H. M., & Soares, L. A. L. (2014). Simaroubaceae family: Botany, chemical composition and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 24(4), 481-501.
- Rao, M. K., & Perkins, E. G. (1972). Identification and estimation of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 20(2), 240-245.
- Reynhardt, E. C., & Riederer, M. (1991). Structure and molecular dynamics of the cuticular wax from leaves of *Citrus aurantium* L. *Journal of Physics D: applied physics*, 24(3), 478.
- Riedel, M., Eichner, A., & Jetter, R. (2003). Slippery surfaces of carnivorous plants: composition of epicuticular wax crystals in *Nepenthes alata* Blanco pitchers. *Planta*, 218(1), 87-97.

- Riederer, M. (2006). Introduction: biology of the plant cuticle. In: M. Riederer & C. Müller (Eds.), *Annual plant reviews, volume 23: Biology of the plant cuticle*. Blackwell publishing Ltd.
- Riederer, M., & Schneider, G. (1989). Comparative study of the composition of waxes extracted from isolated leaf cuticles and from whole leaves of *Citrus*: Evidence for selective extraction. *Physiologia plantarum*, 77(3), 373-384.
- Riederer, M., & Schreiber, L. (2001). Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany*, 52(363), 2023–2032.
- Renault, H., Alber, A., Horst, N. A., Lopes, A. B., Fich, E. A., Kriegshauser, L., ... & Pineau, E. (2017). A phenol-enriched cuticle is ancestral to lignin evolution in land plants. *Nature Communications*, 8.
- Robertson, G. W., Griffiths, D. W., Birch, A. N. E., Jones, A. T., McNicol, J. W., & HALL, J. E. (1991). Further evidence that resistance in raspberry to the virus vector aphid, *Amphorophora idaei*, is related to the chemical composition of the leaf surface. *Annals of applied biology*, 119(3), 443-449.
- Rocini, C., dos Santos, D. Y. A. C., & Graham, S. (2006). n-Alkane distribution patterns in species of Lythraceae sensu lato (Myrtales). *Biochemical systematics and ecology*, 34(3), 273-274.
- Rodrigues, C. A.; Cunha, G. P.; Cechinel-Filho, V.; Martins, D. T. O.; Marcello, C. M.; Lima, J. C. S.; Silva, R. M. & Noldin, V. F. 2008. Utilization of Chitin and Chitosan as chromatography supports for separation of alkaloids from dichloromethane extract of *Simaba ferruginea*. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27(2), 255.
- Sala, J. M., Lafuente, T., & Cunat, P. (1992). Content and chemical composition of epicuticular wax of 'Navelina' oranges and 'Satsuma' mandarins as related to rindstaining of fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59(4), 489-495.
- Sala, J. M. (2000). Content, chemical composition and morphology of epicuticular wax of Fortune mandarin fruits in relation to peel pitting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1887-1894.
- Salatino, M. L., Salatino, A., de Menezes, N. L., & de Mello-Silva, R. (1989). Alkanes of foliar epicuticular waxes of Velloziaceae. *Phytochemistry*, 28(4), 1105-1114.

- Salatino, A., Salatino, M. L. F., De Mello-Silva, R., & Duerholt-Oliveira, I. (1991). An appraisal of the plasticity of alkane profiles of some species of Velloziaceae. *Biochemical systematics and ecology*, 19(3), 241-248.
- Salatino, A., Sugayama, R. L., Negri, G., & Vilegas, W. (1998). Effect of constituents of the foliar wax of *Didymopanax vinosum* on the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86(3), 261-266.
- Samanta, T. D., Ghosh, T., & Laskar, S. (2013). Variation of hydrocarbon constituents of epicuticular wax of leaves of *Litchi chinensis* Sonn. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, 31(1), 73-79.
- Santos, L. C. D., Dokkedal, A. L., Sannomiya, M., Soares, M. C. P., & Vilegas, W. (2005). n-alkanes from *Paepalanthus* Mart. species (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 19(4), 727-732.
- Sase, H., Takamatsu, T., Yoshida, T., & Inubushi, K. (1998). Changes in properties of epicuticular wax and the related water loss in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) affected by anthropogenic environmental factors. *Canadian Journal of Forest Research*, 28(4), 546-556.
- Saraiva, R. C. G.; Pinto, A. C.; Nunomura, S. M. & Pohlit, A. M. (2006). Triterpenos e alcalóide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (cavalcante) WW Thomas (simaroubaceae). *Química Nova*, 29(2), 264-268.
- Schulman, Y., & Monselise, S. P. (1970). Some studies on the cuticular wax of citrus fruits. *Journal of Horticultural Science*, 45(4), 471-478.
- Shepherd, T., Robertson, G. W., Griffiths, D. W., & Birch, A. N. E. (1999b). Epicuticular wax ester and triacylglycerol composition in relation to aphid infestation and resistance in red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Phytochemistry*, 52(7), 1255–1267.
- Shepherd, T., Robertson, G. W., Griffiths, D. W., & Birch, A. N. E. (1999a). Epicuticular wax composition in relation to aphid infestation and resistance in red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Phytochemistry*, 52(7), 1239-1254.
- Shepherd, T., & Wynne Griffiths, D. (2006). The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist*, 171(3), 469-499.

- Shepherd, T., Robertson, G. W., Griffiths, D. W., Birch, A. N. E., & Duncan, G. (1995). Effects of environment on the composition of epicuticular wax from kale and swede. *Phytochemistry*, 40(2), 407-417.
- Shomer, I., Ben-Gera, I., & Ben-Shalom, N. (1980). Epicuticular wax and its hydrocarbons from inter-juice-sac spaces in citrus fruit segments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(6), 1158-1163.
- Silverstein, R. M., & Webster, F. X. (2000). *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 6ª ed. LTC Editora S.A.
- Simpson, M. G. (2010). *Plant Systematics* (Second). Academic press.
- Siqueira, D. S., dos S. Pereira, A., de Aquino Neto, F. R., Cabral, J. A., Ferreira, C. A. C., Simoneit, B. R., & Elias, V. O. (2003). Determinação de compostos de massa molecular alta em folhas de plantas da Amazônia. *Química Nova*, 26(5), 633-640.
- Skorupa, L. A., Salatino, M. L. F., & Salatino, A. (1998). Hydrocarbons of leaf epicuticular waxes of *Pilocarpus* (Rutaceae): taxonomic meaning. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26(6), 655-662.
- Sriprapat, W., Suksabye, P., Areephak, S., Klantup, P., Waraha, A., Sawattan, A., & Thiravetyan, P. (2014). Uptake of toluene and ethylbenzene by plants: removal of volatile indoor air contaminants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 102, 147-151.
- Stevens, P. F. (2017). *Angiosperm Phylogeny Website, version 14, july 2017*. Acessado em abril de 2018. Disponível em <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/>
- Sun, M. Y. (2000). Mass spectrometric characterization of ¹³C-labeled lipid tracers and their degradation products in microcosm sediments. *Organic geochemistry*, 31(2-3), 199-209.
- Suzuki, M., Xiang, T., Ohyama, K., Seki, H., Saito, K., Muranaka, T., ... & Ebizuka, Y. (2006). Lanosterol synthase in dicotyledonous plants. *Plant and Cell Physiology*, 47(5), 565-571.
- Taghizadeh, T. (2001). Identificação de substâncias voláteis de insetos através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. In: J. T. B. Ferreira, A. G. Corrêa & P. C. Vieira (orgs.), *Produtos naturais no controle de insetos*. Editora da Universidade Federal de São Carlos.

- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Metabólitos secundários e defesa vegetal*. In: Fisiologia vegetal (Terceira). ARTMED Editora SA.
- Tomasi, P., Wang, H., Lohrey, G. T., Park, S., Dyer, J. M., Jenks, M. A., & Abdel-Haleem, H. (2017). Characterization of leaf cuticular waxes and cutin monomers of *Camelina sativa* and closely-related *Camelina* species. *Industrial Crops and Products*, 98, 130-138.
- Tomaszewski, D., & Zieliński, J. (2014). Sequences of epicuticular wax structures along stems in four selected tree species. *Biodiversity Research and Conservation*, 35(1), 9-14.
- Valenta, Z. Papadopoulos, S., & Podešva, C. (1961). Quassin and neoquassin. *Tetrahedron*, 15(1-4), 100-110.
- Valentin, J. L. (1995). Agrupamento e ordenação. *Oecologia brasiliensis*, 2(1), 2.
- Valentin, J. L. (2000). *Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos*. Rio de Janeiro: Interciência.
- Varanda, E. M., Zúñiga, G. E., Salatino, A., Roque, N. F., & Corcuera, L. J. (1992). Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. *Journal of Natural Products*, 55(6), 800-803.
- Vieira, I. J. C.; Barbosa L. F.; Braz-Filho R; Sousa, R. P.; Oliveira, A. F. & Mathias, L. (2005). Cymosanine, a novel C19-quassinoid from *Simaba subcymosa*. *Natural product research*, 19(2), 151-155.
- Vieira, I. C., & Braz-Filho, R. (2006). Quassinoids: Structural diversity, biological activity and synthetic studies. *Studies in Natural Products Chemistry* 33, 433-492.
- Vickery, M. L., & Vickery, B. (1981). *Secondary plant metabolism*. The Macmillan Press Ltd.
- Viskari, E. L. (1999). Epicuticular wax of Norway spruce needles as indicator of traffic pollutant deposition. *Water, Air, and Soil Pollution*, 121(1-4), 327-337.
- Waldhoff, D., & Parolin, P. (2010). Morphology and anatomy of leaves. In *Amazonian Floodplain Forests* (pp. 179-202). Springer Netherlands.
- Wang, J., Hao, H., Liu, R., Ma, Q., Xu, J., Chen, F., ... & Deng, X. (2014). Comparative analysis of surface wax in mature fruits between Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) and 'Newhall' navel orange (*Citrus sinensis*) from the perspective of crystal morphology, chemical composition and key gene expression. *Food chemistry*, 153, 177-185.

- Wang, J., Sun, L., Xie, L., He, Y., Luo, T., Sheng, L., ... & Cheng, Y. (2016). Regulation of cuticle formation during fruit development and ripening in 'Newhall' navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck) revealed by transcriptomic and metabolomic profiling. *Plant Science*, 243, 131-144.
- Wisseemann, V. (2000). Epicuticular wax morphology and the taxonomy of Rosa (section Caninae, subsection Rubiginosae). *Plant Systematics and Evolution*, 221(1), 107-112.
- Wollenweber, E., & Kohorst, G. (1981). Epicuticular leaf flavonoids from eucalyptus species and from *kalmia latifolia*. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 36(11-12), 913-915.
- Yeats, T. H., & Rose, J. K. C. (2013). The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiology*, 163(September), 5-20.

8. ANEXOS

Tabela i. Dados de coleta e identificação dos indivíduos utilizados e para quais testes foram destinados.

ESPÉCIE	IND ^a	VOUCHER	ESTADO - LOCALIDADE	BIOMA IBGE	COLETA	LONGITUDE	LATITUDE	EXT. ^c	MEV ^d
<i>Homalolepis arenaria</i>	59	MFD ^b 394	BA - Salvador	Atlântico	06/02/2015	-12.946127	-38.357297	✓	
	17	MFD 398	SE - Pirambu	Atlântico	11/02/2015	-10.694	-36.84541667	✓	✓
<i>Homalolepis bahiensis</i>	12	MFD 375	RN - Bahía Formosa	Atlântico	17/12/2014	-6.377222222	-35.01461111	✓	
<i>Homalolepis cedron</i>	121	MFD 173	ES - Linhares	Atlântico	18/06/2013	-19.17619444	-40.01894444		✓
	122	MFD 194	ES - Linhares	Atlântico	12/07/2013	-18.40758333	-39.698		✓
	24	MFD 250	BA - Prado	Atlântico	22/11/2013	-17.06480556	-39.43897222	✓	
	26	MFD 253	BA - Eunápolis	Atlântico	23/11/2013	-16.38436111	-39.49088889	✓	
	27	MFD 257	BA - Nilo Peçanha	Atlântico	24/11/2013	-13.55861111	-39.04891667	✓	
	30	MFD 261	PA - Belém	Amazônico	09/12/2013	-1.438333333	-48.44472222	✓	
	31	MFD 267	AM - Manaus	Amazônico	18/12/2013	-2.933916667	-59.96216667	✓	
	101	Pirani 6706	GO - Niquelândia	Cerrado	09/02/2017	-14.447247	-48.450233	✓	✓
	102	Pirani 6706	GO - Niquelândia	Cerrado	09/02/2017	-14.447247	-48.450233	✓	
<i>Homalolepis cuneata</i>	120	MFD 175	ES - Linhares	Atlântico	18/06/2013	-19.15102778	-40.06841667		✓
	22	MFD 246	ES - Linhares	Atlântico	20/11/2013	-19.15102778	-40.06841667	✓	
	23	MFD 247	ES - Linhares	Atlântico	20/11/2013	-19.15102778	-40.06841667	✓	✓
	25	MFD 252	BA - Arrail d'Ajuda	Atlântico	22/11/2013	-16.47486111	-39.06452778	✓	
	85	MFD 440	MG - Carai	Cerrado	07/11/2016	-16.8742	-41.9412	✓	
	86	MFD 441	MG - Carai	Cerrado	07/11/2016	-16.8742	-41.9412	✓	
	87	MFD 441	MG - Carai	Cerrado	07/11/2016	-16.8742	-41.9412	✓	
<i>Homalolepis ferruginea</i>	56	Antar 309	TO - Mateiros	Cerrado	01/11/2013	-10.570583	-46.502278	✓	
	37	MFD 280	TO - Ponte Alta do Tocantins	Cerrado	13/03/2014	-10.71630556	-47.86461111	✓	✓
	8	MFD 330	MT - Rondonópolis	Cerrado	09/09/2014	-16.50006389	-54.64791667	✓	✓
	11	MFD 367	MT - Água Boa	Cerrado	06/12/2014	-14.00483333	-52.15030556	✓	
	55	Miniscalchi 629	BA - Gentio do ouro	Caatinga	07/11/2015	-11.399664	-42.418181	✓	
<i>Homalolepis floribunda</i>	88	MFD 442	MG - Araçuaí	Cerrado	07/11/2016	-16.764498	-41.936878	✓	✓
	89	MFD 442	MG - Araçuaí	Cerrado	07/11/2016	-16.764498	-41.936878	✓	
	90	MFD 442	MG - Araçuaí	Cerrado	07/11/2016	-16.764498	-41.936878	✓	
	91	MFD 442	MG - Araçuaí	Cerrado	07/11/2016	-16.764498	-41.936878	✓	
	92	MFD 442	MG - Araçuaí	Cerrado	07/11/2016	-16.764498	-41.936878	✓	
<i>Homalolepis glabra</i>	45	MFD 298	MS - Bonito	Cerrado	26/03/2014	-21.171056	-56.410722	✓	

Continua na página seguinte

	47	MFD 322	MS - Bonito	Cerrado	06/09/2014	-21.162525	-56.415325	v	
	118	MFD 452	MS - Caracol	Cerrado	21-27/07/2017	-21.72816667	-57.08513889	v	v
	119	MFD 452	MS - Caracol	Cerrado	21-27/07/2017	-21.72816667	-57.08513889	v	v
<i>Homalolepis insignis</i>	18	MFD 269	SP - Ubatuba	Atlântico	30/01/2014	-23.54152778	-45.07191667	v	
	32	MFD 270	SP - Ubatuba	Atlântico	30/01/2014	-23.54152778	-45.07191667	v	
	33	MFD 271	SP - Ubatuba	Atlântico	31/01/2014	-23.54152778	-45.07191667	v	
	16	MFD 389	SP - Ilha Anchieta	Atlântico	15/01/2015	-23.54152778	-45.07191667	v	
<i>Homalolepis intermedia</i>	57	Ceccantini 3763	TO - Almas	Cerrado	17/07/2012	-11.576634	-47.197277	v	
	58	Mendonça 6206	TO - São Valério da Natividade	Cerrado	11/10/2008	-12.219528	-48.219528	v	
<i>Homalolepis paraensis</i>	54	Campos & Kukle nº 41	AM - Manaus	Amazônico	07/12/1989	-2.416667	-59.9	v	
	15	MFD 384	AC - Rio Branco	Amazônico	09/01/2015	-10.014	-67.71725	v	
<i>Homalolepis pohliana</i>	1	MFD 273	TO - Natividade	Cerrado	12/03/2014	-11.66611111	-47.71033333	v	v
	2	MFD 276	TO - Natividade	Cerrado	12/03/2014	-11.70010278	-47.60138889	v	v
	42	MFD 282	TO - São Félix do Tocantins	Cerrado	15/03/2014	-10.16833333	-46.65944444	v	
<i>Homalolepis salubris</i>	39	MFD 294	MS - Campo Grande	Cerrado	25/03/2014	-21.00853333	-54.50704722	v	v
	4	MFD 295	MS - Campo Grande	Cerrado	25/03/2014	-21.02649722	-54.70874722	v	v
	43	MFD 296	MS - Aquidauana	Cerrado	25/03/2014	-21.16132778	-54.75385556	v	v
	108	MFD 296	MS - Sidrolândia	Cerrado	21-27/07/2017	-21.16132778	-54.75385556	v	v
	109	MFD 296	MS - Sidrolândia	Cerrado	21-27/07/2017	-21.16132778	-54.75385556	v	
<i>Homalolepis planaltina</i>	6	MFD 320	MG - Córrego Danta	Cerrado	02/09/2014	-19.71521667	-46.02009444	v	
	68	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	08/11/2016	-16.879207	-42.076691	v	
	69	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	08/11/2016	-16.879207	-42.076691	v	
	70	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	08/11/2016	-16.879207	-42.076691	v	
	71	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	08/11/2016	-16.879207	-42.076691	v	
	72	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	08/11/2016	-16.879207	-42.076691	v	
	73	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	08/11/2016	-16.879207	-42.076691	v	
	113	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	21-27/07/2017	-19.71521667	-46.02009444	v	v
	114	MFD 445	MG - Córrego Danta	Cerrado	21-27/07/2017	-19.71521667	-46.02009444	v	v
<i>Homalolepis pumila</i>	7	MFD 323	GO - Chapadão do Céu	Cerrado	08/09/2014	-18.26563889	-52.89008333	v	
	115	MFD 467	GO - Parque nacional das Emas	Cerrado	21-27/07/2017	-17.94619444	-53.00377778	v	v
	116	MFD 467	GO - Parque nacional das Emas	Cerrado	21-27/07/2017	-17.94619444	-53.00377778	v	v
	117	MFD 467	GO - Parque nacional das Emas	Cerrado	21-27/07/2017	-17.94619444	-53.00377778	v	
<i>Homalolepis sp. nov. "rigida"</i>	3	MFD 286	TO - Mateiros	Cerrado	16/03/2014	-10.27972222	-46.61833333	v	
	48	MFD 286	TO - Mateiros	Cerrado	16/03/2014	-10.279722	-46.618333	v	v
	49	Scariot 692	TO - Dianópolis	Cerrado	24/09/2003	-11.559722	-46.48	v	
<i>Homalolepis subcymosa</i>	53	Folli 6589	ES - Morro Mestre Álvaro	Atlântico	18/03/2010	-20.190957	-40.308861	v	
	52	Neves 130	ES - Morro do Aricanga	Atlântico	x/08/2015	-19.830189	-40.32845	v	

Continua na página seguinte

<i>Homalolepis suffruticosa</i>	36	MFD 274	TO - Natividade	Cerrado	12/03/2014	-11.66611111	-47.62888889	v	v
	5	MFD 315	MG - Uberlândia	Cerrado	31/08/2014	-19.01733333	-48.30977778	v	
	110	MFD 315	MG - Uberlândia	Cerrado	21-27/07/2017	-19.01733333	-48.30977778	v	v
	74	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.524061	-47.085104	v	v
	75	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.524061	-47.085104	v	
	76	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.524061	-47.085104	v	
	77	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	78	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	79	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	80	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	81	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	82	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	83	MFD 450	MG - Araxá - Uberlândia	Cerrado	09/11/2016	-19.109886	-47.978385	v	
	93	Pirani 6683	GO - Chapado dos veadeiros	Cerrado	08/02/2017	-14.196667	-47.8475	v	v
	94	Pirani 6683	GO - Chapado dos veadeiros	Cerrado	08/02/2017	-14.196667	-47.8475	v	
	95	Pirani 6683	GO - Chapado dos veadeiros	Cerrado	08/02/2017	-14.196667	-47.8475	v	
	96	Pirani 6683	GO - Chapado dos veadeiros	Cerrado	08/02/2017	-14.196667	-47.8475	v	
	38	MFD 293	TO - Mateiros	Cerrado	17/03/2014	-10.33194444	-46.62527778	v	v
	34	MFD 225	GO - Teresina de Goiás	Cerrado	05/09/2013	-13.78019444	-47.31011111	v	
	35	MFD 226	GO - Teresina de Goiás	Cerrado	05/09/2013	-13.79172222	-47.26630556	v	
<i>Homalolepis tocantina</i>	40	MFD 297	MS - Bonito	Cerrado	25/03/2014	-21.23986111	-54.77744444	v	v
	13	MFD 377	RN - Natal	Atlântico	18/12/2014	-5.839805556	-35.196	v	
	14	MFD 378	RN - Natal	Atlântico	18/12/2014	-5.865194444	-35.19325	v	
	99	Pirani 6665	GO - Terezina de Goiás	Cerrado	07/02/2017	-13.791722	-47.266306	v	
	100	Pirani 6665	GO - Terezina de Goiás	Cerrado	07/02/2017	-13.791722	-47.266306	v	
	97	Pirani 6689	GO - Colina do Sul	Cerrado	08/02/2017	-14.211667	-48.0575	v	
	98	Pirani 6689	GO - Colina do Sul	Cerrado	08/02/2017	-14.211667	-48.0575	v	v
	123	MFD 416	MG - Jabuticatubas	Cerrado	20/02/2015	-19.56836111	-43.76616667		v
	111	MFD 421	MG - Jabuticatubas	Cerrado	21-27/07/2017	-19.53502778	-43.81155556	v	
	112	MFD 421	MG - Jabuticatubas	Cerrado	21-27/07/2017	-19.53502778	-43.81155556	v	
<i>Homalolepis warmingiana</i>	60	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53503	-43.81156	v	v
	61	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53504	-43.81157	v	
	62	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53505	-43.81158	v	
	63	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53506	-43.81159	v	
	64	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53507	-43.81160	v	
	65	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53508	-43.81161	v	
	66	MFD 432	MG - Jabuticatubas	Cerrado	06/11/2016	-19.53509	-43.81162	v	

Continua na página seguinte

<i>Simaba guianensis</i>	50	Ferreira 9488	PA - Monte Alegre	Amazônico	06/11/2012	-1.916667	-54.25	✓	
	51	Ferreira 9551	PA - Oriximiná	Cerrado	11/11/1987	-1.466667	-56.383333	✓	
	19	MFD 263	AM - Manaus	Amazônico	16/12/2013	-2.944027778	-59.97605556	✓	
<i>Simaba obovata</i>	9	MFD 340	AM - Novo Airão	Amazônico	19/09/2014	-2.400777778	-60.78641667	✓	
	44	MFD 425	AM - P.N. Anavilhanas	Amazônico	06/04/2015	-2.403528	-60.784306	✓	
<i>Simaba orinocensis</i>	28	MFD 259	PA - Belém	Amazônico	09/12/2013	-1.438611111	-48.44333333	✓	
	10	MFD 361	RR - Caracará	Amazônico	28/09/2014	-1.553916667	-61.23194444	✓	
<i>Simaba polyphylla</i>	20	MFD 264	AM - Manaus	Amazônico	16/12/2013	-2.925666667	-59.97886111	✓	
<i>Quassia amara</i>	29	MFD 260	PA - Belém	Amazônico	09/12/2013	-1.438611111	-48.445	✓	
<i>Simarouba amara</i>	21	MFD 245	ES - Linhares	Atlântico	20/11/2013	-19.15102778	-40.06841667	✓	✓
	106	Pirani 6676	GO - Cavalcante	Cerrado	07/02/2017	-13.82122222	-47.44946667	✓	
	107	Pirani 6676	GO - Cavalcante	Cerrado	07/02/2017	-13.82122222	-47.44946667	✓	
<i>Simarouba versicolor</i>	103	Pirani 6666	GO - Terezina de GO	Cerrado	07/02/2017	-13.791722	-47.266306	✓	✓
	104	Pirani 6666	GO - Terezina de GO	Cerrado	07/02/2017	-13.791722	-47.266306	✓	
	105	Pirani 6666	GO - Terezina de GO	Cerrado	07/02/2017	-13.791722	-47.266306	✓	

^aNúmero de equivalência de cada indivíduo, para identificar indivíduos diferentes com mesmo voucher. ^bMarcelo Fernando Devecchi. ^cIndivíduos destinados à extração de cera. ^dIndivíduos destinados a microscopia eletrônica de varredura.

**Fragmento [M-15]⁺ de ácidos graxos derivatizados
em sua forma básica**

$$[M-15]^{+\bullet} = 15 + (14 \times n) + 12 + 16 + 16 + 28 + 15 + 15$$

Se a massa do fragmento $[M-15]^{+\bullet} = 313$, respectivo ao ácido graxo TMSi da figura 40, então:

$$313 = (14 \times n) + 117$$

$$n = 14$$

E o número de carbonos deste fragmento que corresponde ao $[M-15]^{+\bullet}$ é igual a $n + 2$, em que n representa as unidades de CH_2 que se repetem no fragmento e o +2 a unidade de CH_3 da extremidade da molécula e ao C da carboxila, então:

$$14 + 2 = 16$$

O ácido graxo não derivatizado respectivo a este fragmento possui 16 carbonos.

**Fragmento [M-15]⁺ de álcoois primários
derivatizados em sua forma básica**

$$[M-15]^{+\bullet} = 15 + (14 \times n) + 16 + 28 + 15 + 15$$

Se a massa do fragmento $[M-15]^{+\bullet} = 355$, respectivo ao álcool primário TMSi da figura 39, então:

$$355 = (14 \times n) + 89$$

$$n = 19$$

E o número de carbonos deste fragmento que corresponde ao $[M-15]^{+\bullet}$ é igual a $n + 1$, em que n representa as unidades de CH_2 que se repetem no fragmento e o +1 a unidade de CH_3 da extremidade da molécula, então:

$$19 + 1 = 20$$

O álcool primário não derivatizado respectivo a este fragmento possui 20 carbonos.

Figura i. Processo de identificação de ácidos graxos derivatizados (esquerda) e álcoois primários derivatizados (direita) a partir do padrão de fragmentação dos mesmos, utilizando-se como exemplo o espectro de massas da figura 39 e 40, correspondente ao ácido hexadecanoico derivatizado e ao 1-eicosanol derivatizado respectivamente.

Figura ii. Cromatograma de solução padrão de alcanos, injetados em cromatografia a gás utilizando-se a metodologia descrita no tópico *Metodologia geral*. **AB**: corresponde a abundância relativa (eixo vertical). **TR**: corresponde ao tempo de retenção em minutos. Acima dos picos do cromatograma encontram-se os tempos de retenção e o número de carbonos do homólogo.

Fragmento $[\text{RCO}_2\text{H}_2]^+$ em sua forma básica

$$[\text{RCO}_2\text{H}_2]^+ = 15 + (14 \times n) + 12 + 17 + 17$$

Se a massa do fragmento $[\text{RCO}_2\text{H}_2]^+ = 257$, então:

$$257 = 15 + (14 \times n) + 12 + 17 + 17$$

$$n = 14$$

E o número de carbonos deste fragmento que corresponde a parte ácido do éster é igual a $n + 2$, então:

$$14 + 2 = 16$$

A parte ácida deste éster possui 16 carbonos.

Íon molecular (M^+) de ésteres graxos saturados em sua forma básica

$$\text{M}^+ = 15 + (14 \times n) + 12 + (2 \times 16) + (14 \times z) + 15$$

Se a massa do $\text{M}^+ = 620$ e $n = 14$, então:

$$620 = 15 + (14 \times 14) + 12 + 32 + (14 \times z) + 15$$

$$z = 25$$

E o número de carbonos total do éster é igual a $z + n + 3$, então:

$$25 + 14 + 3 = 42$$

O número total de carbonos do éster é 42.

O número de carbonos da parte ácida é dado pela subtração do número de carbonos total pelo número de carbonos da parte ácida, então:

$$42 - 16 = 26$$

Figura iii. Processo de identificação de ésteres graxos saturados a partir do padrão de fragmentação dos mesmos utilizando-se como exemplo o espectro de massas da figura 38, correspondente ao hexadecanoato de hexacosenila. Massa do fragmento $\text{RCO}_2\text{H}_2^+ = 257$ e massa do $\text{M}^+ = 620$.

Figura iv. Espectro de massas dos esteroides encontrados com esqueleto hidroxilado com dupla ligação entre os carbonos 5 e 6 do anel B.

Figura v. Análise de componentes principais a partir da matriz de correlação do teor dos ácidos graxos encontrados nas ceras dos indivíduos. Homólogos e substâncias não detectadas tiveram seu teor igualado a zero para fim da análise. **Círculos em vermelho** correspondem aos indivíduos de *Homalolepis*, em **azul** à *Simaba* s.s. e **verde** ao grupo externo; O delineamento em cinza corresponde ao agrupamento central de indivíduos, àqueles que não pertencem a este agrupamento central foram destacados.

Figura vi. Análise de componentes principais a partir da matriz de correlação do teor dos alcanos encontrados nas ceras dos indivíduos. Homólogos e substâncias não detectadas tiveram seu teor igualado a zero para fim da análise. **Círculos em vermelho** correspondem aos indivíduos de *Homalolepis*, em **azul** à *Simaba* s.s. e **verde** ao grupo externo; O delineamento em cinza corresponde ao agrupamento central de indivíduos, àqueles que não pertencem a este agrupamento central foram destacados.

Figura vii. Análise de componentes principais a partir da matriz de correlação do teor dos ácidos graxos e alcanos encontrados nas ceras dos indivíduos. Homólogos e substâncias não detectadas tiveram seu teor igualado a zero para fim da análise. **Círculos em vermelho** correspondem aos indivíduos de *Homalolepis*, em **azul** à *Simaba* s.s. e **verde** ao grupo externo; O delineamento em cinza corresponde ao agrupamento central de indivíduos, àqueles que não pertencem a este agrupamento central foram destacados.

Figura viii. Análise de agrupamento por UPGMA a partir do teor de ácidos graxos encontrados nas ceras dos indivíduos, utilizando-se o coeficiente de distância euclidiana média. Índice de correlação cofenética (0,9446).

Figura ix. Análise de agrupamento por UPGMA a partir do teor de alcanos encontrados nas ceras dos indivíduos, utilizando-se o coeficiente de distância euclidiana média. Índice de correlação cofenética (0,9724).

Figura x. Análise de agrupamento por UPGMA a partir do teor de ácidos graxos e alcanos encontrados nas ceras dos indivíduos, utilizando-se o coeficiente de distância euclidiana média. Índice de correlação cofenética (0,9724).