

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – PPG BIO
BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL

Joana Paula da Silva Oliveira

Abordagem integrativa de análises metabolômicas e biogeográficas de orquídeas da Mata
Atlântica: bioprospecção e uso sustentável da biodiversidade

Rio de Janeiro

Fevereiro de 2022

Joana Paula da Silva Oliveira

Abordagem integrativa de análises metabolômicas e biogeográficas de orquídeas da Mata Atlântica: bioprospecção e uso sustentável da biodiversidade

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Furtado Macedo

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Lucia Lorini

Rio de Janeiro

Fevereiro de 2022

Catálogo informatizado pelo(a) autor(a)

048 Oliveira, Joana Paula da Silva
Abordagem integrativa de análises metabolômicas e biogeográficas de orquídeas da Mata Atlântica: bioprospecção e uso sustentável da biodiversidade / Joana Paula da Silva Oliveira. -- Rio de Janeiro, 2022.
141

Orientadora: Andrea Furtado Macedo.
Coorientadora: Maria Lucia Lorini.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2022.

1. bioeconomia. 2. conservação. 3. metabolômica. 4. modelagem ecológica. 5. Mata Atlântica. I. Furtado Macedo, Andrea, orient. II. Lorini, Maria Lucia, coorient. III. Título.

Joana Paula da Silva Oliveira

**ABORDAGEM INTEGRATIVA DE ANÁLISES METABOLÔMICAS E
BIOGEOGRÁFICAS DE ORQUÍDEAS DA MATA ATLÂNTICA: BIOPROSPECÇÃO E
USO SUSTENTÁVEL DA BIODIVERSIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biodiversidade Neotropical) da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do título de Mestre(a) em Ciências Biológicas.

Aprovada em 18 de fevereiro de 2022.

Banca Examinadora

Profª Andrea Furtado Macedo
Matr. - SIAPE 1299039

APM

Dr(a). Andrea Furtado Macedo (Orientadora)
(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO)

Mariana Simões Larraz Ferreira

Dr(a). Mariana Simões Larraz Ferreira
(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO)

M. Siqueira

Dr(a). Marinez Ferreira de Siqueira
(Jardim Botânico do Rio de Janeiro/JBRJ)

À minha mãe, Marisa da Silva Oliveira: quem
me ensinou a sonhar, me recobra as forças,
minha maior inspiração.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço à minha orientadora Andrea Furtado Macedo, pelo grande entusiasmo e parceria que se fazem ingredientes essenciais à realização deste trabalho. À minha coorientadora Maria Lucia Lorini, por apresentar e contribuir em mapear um novo caminho de pesquisa. Conjuntamente, à ambas as orientadoras, agradeço a compreensão e confiança. Aos meus colegas de laboratório, pelos ensinamentos e trocas do dia a dia. À toda a equipe atual do Laboratório Integrado de Biologia Vegetal (LIBV – UNIRIO), especialmente à Renatha Tavares, Amanda Guedes e Vitoria Arcanjo. À Professora Maria Gabriela Bello Koblitz e seus alunos do Programa de Pós-graduação em Alimento e Nutrição (PPGAN – UNIRIO), por toda colaboração, ensinamentos e apoio. Ao Professor Rafael Garret (IQ/UFRJ) pela disponibilidade, ensinamentos e colaboração. Agradeço à CAPES e ao PPGGIO/UNIRIO pela concessão da bolsa de Mestrado. Conseqüentemente, agradeço à cada cidadão brasileiro que, ao pagar impostos, investe em alunos universitários como eu, garantindo-me a digna a oportunidade de contribuir de volta ao meu país com serviços úteis que valorizam a difusão do conhecimento gerado em nossas Instituições públicas.

Agradeço especialmente à minha família, com essas palavras mantidas e sentimentos renovados. À minha mãe, Marisa da Silva Oliveira, pela amizade, proximidade, carinho, amor e esforço ininterrupto pela manutenção de nossa estrutura, de nossas bases. Ao meu irmão, João Gabriel da Silva Oliveira, pela parceria e por estar presente com seu imenso afeto nos momentos difíceis. À minha tia materna, Vilma da Silva Melo, pelo exemplo de força e superação. E ao meu amor, Jessica Sindra Porto, minha pedrinha preciosa, pelo crescimento a cada dia, *passinho a passinho*.

Resumo

A difusão do potencial bioeconômico da biodiversidade da Mata Atlântica (MA) deve ocorrer conjuntamente às informações imprescindíveis à sua preservação e uso sustentável. A MA é um dos maiores repositórios de biodiversidade do mundo, retendo vasta ocorrência de produtos naturais com aplicabilidade em diversas indústrias. No entanto, tamanha biodiversidade é pouco conhecida e encontra-se fortemente ameaçada pela grande fragmentação da MA. É premente a caracterização dessa biodiversidade, em um esforço conjunto às possibilidades de preservação do bioma e de introdução do vasto potencial biotecnológico nele presente na bioeconomia. Para otimizar esse processo, diversas ferramentas analíticas oferecem alta performance. A metabolômica objetiva a descrição holística dos metabólitos expressos em espécies de interesse, possibilitando a descoberta de moléculas com potencial bioeconômico por eles produzidas. Já a modelagem de distribuição de espécies (MDE) constitui a abordagem mais utilizada para analisar a potencial distribuição geográfica de espécies. Esta metodologia permite identificar locais potenciais para encontrar populações das espécies de interesse, execução de projetos de conservação, de regeneração e reforço das populações em seus locais nativos, bem como de mapeamento de locais com adequabilidade para implementação de cultivo sustentável. A estratégia de alinhar em um mesmo cenário os métodos metabolômica e MDE pretende nortear uma mudança de paradigma: o potencial bioeconômico da biodiversidade da MA divulgado juntamente às possibilidades de sua conservação e uso sustentável. Para tanto, uma plataforma com a integração de dados metabolômicos e biogeográficos sobre espécies-alvo deste bioma foi desenvolvida: a BioOmiteca Mata Atlântica (bioomiteca.com). As espécies-alvo inicialmente selecionadas como modelos foram orquídeas da MA: *Cyrtopodium glutiniferum*, *Vanilla bahiana* e *Vanilla chamissonis*. Dados metabolômicos foram adquiridos através de cromatografia líquida e espectrometria de massas para anotação de metabólitos de interesse biotecnológico. Para MDE, dados de ocorrência das espécies-alvo foram cruzados com variáveis ambientais, através de algoritmos otimizados para a projeção de índices de adequabilidade. A análise metabolômica das três espécies confirma seus potenciais biotecnológicos. *C. glutiniferum* produz moléculas com alta capacidade antioxidante. *V. bahiana* e *V. chamissonis* produzem moléculas fortemente valorizadas no *flavor* da espécie comercial *V. planifolia*, como, por exemplo, a vanilina e moléculas aromáticas não descritas na espécie comercial. A MDE de *C. glutiniferum* denota a importância do bioma da MA para sua preservação, por sua alta adequabilidade dentro dos

limites desse bioma. Através da MDE, fica notória a frágil proteção legal, a partir de Unidades de Conservação, em áreas de alto potencial de adequabilidade para essa espécie. Por outro lado, é também observado como o seu cultivo sustentável é viável tanto no contexto de projetos agroflorestais, bem como outras modalidades de cultivo. Resultados foram depositados no repositório BioOmiteca MA. A plataforma foi construída para oferecer o acesso aberto a qualquer parte interessada, desde o público leigo e acadêmico até agricultores familiares, comunidades tradicionais e atores do poder público envolvidas no setor ambiental. Ademais, resultados obtidos para as espécies de baunilha foram, a princípio, expostos na forma de artigos científicos e no depósito de uma patente de agente flavorizante, composição, processo de produção e uso de agentes aromatizantes e flavorizantes.

Palavras-chave: bioprospecção, metabolômica, modelagem ecológica, Mata Atlântica, bioeconomia, conservação

Abstract

The dissemination of the Atlantic Forest (AF) biodiversity's bioeconomic potential must occur together with information essential for its preservation and sustainable use. The AF is one of the largest repositories of biodiversity in the world, holding a vast occurrence of natural products with applicability in several industries. However, such biodiversity is little known and is strongly threatened by the great fragmentation of the AF. The characterization of this biodiversity is imperative, in a joint effort with possibilities for preserving the biome and introducing the vast biotechnological potential present in it into the bioeconomy. To optimize this process, several analytical tools offer high performance. Metabolomics aims at the holistic description of metabolites expressed in species of interest, enabling the discovery of molecules with bioeconomic potential produced by them. Species distribution modeling (SDM) is the most used approach to analyze the potential geographic distribution of species. This methodology allows identifying potential locations to find populations of species of interest, executing conservation, regeneration, and population reinforcement projects in their native locations, as well as mapping locations with suitability for implementing sustainable cultivation. The strategy of putting together metabolomics and SDM methods in the same scenario intends to guide a paradigm shift: the bioeconomic potential of the AF biodiversity being disclosed together with the possibilities of its conservation and sustainable use. To this end, a platform with the integration of metabolomics and biogeographic data of target species of this biome was developed: the BioOmiteca Atlantic Forest (bioomiteca.com). The target species initially selected as models were AF orchids: *Cyrtopodium glutiniferum*, *Vanilla bahiana* and *Vanilla chamissonis*. Metabolomic data of these species were acquired through liquid chromatography and mass spectrometry to annotate metabolites of biotechnological interest. For MDE, occurrence data of the target species were crossed with environmental variables, through an optimized algorithm to perform the projection of suitability indices. The metabolomic analysis of the three species confirms their biotechnological potential. *C. glutiniferum* produces molecules with high antioxidant capacity. *V. bahiana* and *V. chamissonis* produce molecules that are highly valued in the flavor of the commercial species *V. planifolia*, such as vanillin, and aromatic molecules not described in the commercial species. The SDM of *C. glutiniferum* denotes the importance of the AF biome for its preservation, due to its high suitability within the limits of this biome. Through SDM, the fragile legal protection from Protected Areas in regions of high potential for suitability for this species becomes evident. On the other hand,

it is also observed how its sustainable cultivation is feasible both in the context of agroforestry projects, as well as other modalities of cultivation. Results were deposited in the BioOmiteca MA repository. The platform was built to be freely accessed by any interested party, from the lay and academic public to family farmers, traditional communities and public authorities involved in the environmental sector. Furthermore, the results obtained for the vanilla species were, at first, exposed in the form of scientific articles and in the filing of a patent for a flavoring agent, composition, production process and use of flavoring and flavoring agents.

Keywords: bioprospection, metabolomics, ecological modeling, Atlantic Forest, bioeconomy, conservation

Sumário

1. Introdução	12
1.1. A BioOmiteca Mata Atlântica	16
1.2. Hipóteses	17
1.3. Objetivo geral	18
1.4. Objetivos específicos	18
1.5. Premissa principal	18
1.6. Estrutura da dissertação	19
2. Análise metabolômica de <i>Cyrtopodium glutiniferum</i>	20
3. Reanálise metabolômica de <i>Cyrtopodium glutiniferum</i>	38
4. Análises metabolômicas de <i>V. bahiana</i> e <i>V. chamissonis</i>	49
5. Patente: Agente flavorizante, composição, processo de produção e uso de agentes aromatizantes e flavorizantes à base de extratos de baunilhas	72
6. Abordagens alternativas para valorização da baunilha natural: hidrólises sequenciais alcalina e ácida do resíduo da extração alcoólica da baunilha comercial (<i>Vanilla planifolia</i>)	77
7. Modelagem ecológica de <i>Cyrtopodium glutiniferum</i>: possibilidades nos âmbitos da conservação e do cultivo sustentável	114
8. Conclusões gerais	137
9. Perspectivas	137
10. Referências bibliográficas	138

Introdução

Devido ao seu nível elevado de riqueza de espécies, sobretudo de espécies endêmicas, associado à perda de cobertura florestal, a Mata Atlântica (MA) é considerada como prioritária para a conservação da biodiversidade mundial, tendo inclusive recebido a denominação de *hottest hotspot* (Laurance, 2009). A MA é um dos biomas brasileiros que mais sofre com a perda de biodiversidade e é o que apresenta o maior contingente de espécies ameaçadas. Além disso, a MA é identificada como um dos três *hotspots* com maior vulnerabilidade de biodiversidade por conta de mudanças climáticas globais (Bellard *et al.*, 2014). Iniciativas colaborativas trazem esperança para se alcançar os ambiciosos compromissos de restauração da MA. O Pacto pela Restauração da Mata Atlântica, criado em 2009, propõe uma abordagem *bottom-up* com o objetivo de implementar 15 milhões de hectares de restauração no terreno até 2050 (Crouzeilles *et al.*, 2019; Holl, 2017).

A caracterização dos elementos da biodiversidade da MA é uma ferramenta para sua valorização, conservação, uso sustentável e aplicação tecnológica, capaz de iniciar um diálogo imprescindível entre as esferas sociocultural, científica, política e econômica (Armsworth *et al.*, 2007; Berry *et al.*, 2018). O tema da perda de biodiversidade é inerente à tal diálogo, sendo decisivo para as próximas gerações de vida no planeta. A valorização da biodiversidade, ademais de seu valor intrínseco, é pautada também pela sua avaliação econômica sob a perspectiva dos serviços ecossistêmicos (Häyhä e Franzese, 2014). A partir dessa perspectiva, derivar da biodiversidade produtos para a bioeconomia representa a capacidade de conectar dimensões não econômicas da natureza ao aporte de novas oportunidades para o desenvolvimento sociocultural e econômico, servindo de embasamento para criação de leis que permitam a gestão responsável dos recursos. A sustentabilidade socioeconômica, portanto, depende da conservação de sistemas ecológicos naturais (Costanza *et al.*, 2014; Gómez-Baggethun e Ruiz-Pérez, 2011). O que ilustra a relação positiva entre a biodiversidade e a saúde humana são os serviços ecossistêmicos. Os serviços prestados pela biodiversidade, a exemplo do fornecimento de produtos naturais, recursos genéticos e provisão de alimentos, resulta em benefícios sociais diretos, como avanços nas terapias medicinais com a descoberta e síntese de novos fármacos e a possibilidade de alimentação mais saudável. Aquilatar os produtos da biodiversidade na MA não acarreta meramente em valorização econômica, uma vez que os benefícios ecossistêmicos em uma sociedade com abertura bioeconômica são experimentados de forma a tornar tanto os

ecossistemas quanto as sociedades mais saudáveis e integrados (Keune *et al.*, 2013; Meneguzzo e Zabini, 2021). Nesses termos, há uma lacuna na pesquisa científica no Brasil, pois estudos sobre biodiversidade direcionados aos serviços ecossistêmicos estão, em sua maioria, meramente ligados à produção científica, porém sem avanços na direção do desenvolvimento social, da inovação e de aplicações tecnológicas (Parron *et al.*, 2019). A propósito de se preencher tal lacuna, faz-se necessário implementar estratégias de otimização da bioprospecção, com a busca por genótipos, quimiotipos e compostos naturais com potencial para aplicação direta ou que sirvam como modelos de fármacos na medicina, na indústria alimentícia e na agricultura. De acordo com a World Wide Fund for Nature (WWF), em tradução livre:

A bioprospecção é a busca sistemática de novas fontes de compostos químicos, genes, proteínas, microrganismos e outros produtos com potencial valor econômico. Por meio de acordos de bioprospecção, as empresas farmacêuticas internacionais compensam os países em desenvolvimento pelos direitos de propriedade sobre compostos úteis contidos na biodiversidade do país. Em troca, as empresas obtêm direitos exclusivos para rastrear a biodiversidade em busca de compostos farmacêuticos. Se essa triagem levar ao desenvolvimento de uma droga importante, os acordos fornecem ao país anfitrião uma parte dos lucros, que pode ser usada para a conservação da biodiversidade (WWF, 2009, p. 23).

Com isso, a bioprospecção representa uma forma sustentável e ecologicamente gentil do uso da biodiversidade com potencial para promover sua conservação (Coley *et al.*, 2003). De acordo com Mateo *et al.* (2001), a busca sistemática por genes e biocompostos com potencial para desenvolvimento de produtos deve ocorrer sem a perturbação da natureza.

Diversas metodologias são promissoras na otimização da bioprospecção. Considerando-se o elevado número de espécies vegetais no planeta e, especialmente na MA, e as várias vias biossintéticas capazes de produzir extraordinária diversidade química, a biodiversidade em ambientes tropicais oferece um potencial particularmente rico em compostos biologicamente ativos que podem ser usados como modelos para a indústria nutricional e medicinal (Valli *et al.*, 2018). Consequentemente, a metabolômica de plantas surge como abordagem analítica que objetiva a descrição holística dos metabólitos neles expressos, estejam em alta ou baixa concentração (Wang *et al.*, 2015). Com isso, complementa a cadeia de dados que compõem a biologia de sistemas, possibilitando a caracterização de biomarcadores e de moléculas com potencial bioeconômico (Karp *et al.*, 2015; Wolfender *et al.*, 2013). Uma abordagem efetiva para análise de dados metabolômicos

é dada pelas técnicas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS), especialmente se as amostras são submetidas à ionização suave, como electrospray (Xiao *et al.*, 2012). Nesse caso, o perfil de fragmentação molecular resultante é primordial para a identificação e caracterização estrutural dos compostos orgânicos analisados (Demarque *et al.*, 2016).

Outro aspecto fundamental para otimização da bioprospecção é a disponibilidade de conhecimento acerca da distribuição geográfica das espécies. Atualmente os Modelos de Nicho Ecológico (*Ecologic Niche Models - ENMs*)/Modelos de Distribuição de Espécies (*Species Distribution Models - SDMs*) constituem a abordagem mais utilizada para analisar a distribuição geográfica de espécies, sendo utilizados em uma miríade de aplicações (Peterson e Soberón, 2012; Villero *et al.*, 2017). No caso da bioprospecção, esta metodologia permite identificar locais potenciais para encontrar populações de espécies de interesse, bem como para a execução de projetos de conservação de regeneração e reforço das populações em seus locais nativos (Deka *et al.*, 2017). Ainda que possa representar uma abordagem bastante promissora, a aplicação da modelagem de distribuição como apoio à bioprospecção ainda é nova e incipiente.

Assim sendo, a combinação de análises metabolômicas com modelagens ecológicas e biogeográficas apresenta-se como uma via promissora para apoiar o uso sustentável da biodiversidade. O presente estudo de dissertação está orientado nesta direção, propondo uma abordagem integrativa entre estes campos científico-tecnológicos, que está sendo desenvolvida utilizando como modelos espécies de orquídeas de interesse econômico da Mata Atlântica (MA). Os organismos alvo, espécies de orquídeas (família Orchidaceae), compreendem um táxon com alto potencial para aplicação biotecnológica, além de grande demanda no âmbito do paisagismo. A produção de híbridos de orquídeas é altamente valorizada, sendo uma das famílias vegetais mais almejadas para realização dessa prática (Hossain *et al.*, 2013). Ademais, muitas espécies apresentam produção de compostos de interesse farmacêutico, com a presença comum de derivados de fenantrenos, os quais têm alto potencial de aplicação medicinal (Silva, *et al.*, 2013). Propriedades diuréticas, anti-reumáticas, anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, antimicrobianas, antivirais, hipoglicêmicas, anticonvulsivas e neuroprotetoras já foram relatadas em espécies da família Orchidaceae (Silva *et al.*, 2013). Dois gêneros de orquídea presentes na MA foram utilizados como modelos para ilustrar a abordagem proposta, sendo estes *Cyrtopodium*, com a espécie

C. glutiniferum Raddi e *Vanilla*, popularmente conhecida como baunilha, com as espécies *Vanilla bahiana* Hoehne (endêmica da MA) e *Vanilla chamissonis* Klotzsch. A espécie *C. glutiniferum* é uma orquídea encontrada principalmente em regiões de inselbergs do Estado de Minas Gerais e Rio de Janeiro no Brasil, com pseudobulbos que são conhecidos por conter compostos anti-inflamatórios, como glicomananas, e outros compostos químicos potencialmente úteis para uso terapêutico (Barreto e Parente, 2006; Pereira *et al.*, 2015). Já o cenário da baunilha consiste em um grande quebra-cabeças em escala mundial. As indústrias do *flavor* de baunilha estão trabalhando arduamente para encontrar novas fontes naturais dessa especiaria, visando aumentar sua qualidade e quantidade no mercado (Ciriminna *et al.*, 2019). A principal espécie produtora dos compostos do *flavor*, *V. planifolia*, é considerada ameaçada de extinção devido à perda de habitat, mudanças climáticas, exploração predatória e agentes patogênicos pandêmicos (Bomgardner, 2016). A vanilina é o principal componente do aroma da baunilha, sendo remetida sua importância à alta demanda na indústria de alimentos, farmacêutica, perfumaria e cosméticos (Havkin-Frenkel, 2018). No entanto, a vanilina sintética é incapaz de suprir tal demanda, pois é a ação de um conjunto de mais de 200 moléculas do produto natural que resulta no cobiçado aroma (Pagliaro, 2019; Sinha *et al.*, 2008). Novas espécies de baunilha emergem no cenário crítico dessa especiaria como alternativas promissoras, com potencial para contornar as dificuldades de produção e de mercado. *Vanilla bahiana* e *V. chamissonis* têm proximidade filogenética com *V. planifolia*, cujos frutos são a principal fonte natural de vanilina (Nascimento *et al.*, 2019), surgindo, portanto, como alternativas potenciais para a produção do clássico e mais popular aroma do mundo.

Como justificativa para realização deste trabalho, considera-se que da perspectiva da conservação, o presente estudo apresenta relevância por tratar de três espécies de grande potencial bioeconômico em um dos mais importantes *hotspots* de biodiversidade do planeta. Devido ao seu nível elevado de riqueza de espécies, sobretudo de espécies endêmicas, associado à perda de cobertura florestal, a MA é considerada como prioritária para a conservação da biodiversidade mundial (Laurance, 2009). A MA é um dos biomas brasileiros que mais sofre com a perda de biodiversidade e é o que apresenta o maior contingente de espécies ameaçadas. Estima-se que apenas cerca de 13% da cobertura florestal original permaneça (Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, 2019). Por tais razões, a MA necessita urgentemente de que estratégias inovadoras de caracterização de espécies sejam aplicadas ao intuito de sua conservação, uso sustentável dos recursos e aplicação

bioeconômica. Pires *et al.* (2021) e Rezende *et al.* (2018) apontam para a MA como um modelo de bioma que tem reconhecido o valor de seus serviços ecossistêmicos, prestados em escala global, cuja implementação de políticas públicas é voltada para promover a saúde humana enquanto o bioma é preservado. Do ponto de vista científico o presente estudo é inovador porque propõe uma abordagem que integra Metabolômica e Modelagem de Nicho Ecológico/Distribuição de Espécies, dois *hot fields* recentes em ecologia e biologia molecular. Em termos de divulgação e popularização da ciência, a BioOmiteca Mata Atlântica pode contribuir com a função de promover a ampla divulgação de espécies vegetais, através da publicação de dados de importância bioeconômica e biotecnológica e de modelos de distribuição geográfica como potenciais áreas para localização, conservação e cultivo dessas espécies, atendendo as necessidades pautadas pelas políticas de ciência aberta e dos serviços ecossistêmicos. Considerando que o Brasil ainda é bastante carente em plataformas de compilação de dados metabolômicos, a BioOmiteca Mata Atlântica surge, portanto, nesse contexto, com a proposta de enaltecer e celebrar a biodiversidade, através da divulgação de dados espectrais ômicos, que apresentem informações relevantes de biomarcadores ou de potencial biotecnológico de compostos encontrados em espécies desse rico bioma.

1.1.A BioOmiteca Mata Atlântica

O logotipo da BioOmiteca Mata Atlântica foi criado considerando os propósitos e missões do estudo como um todo (Figura 1). As cores utilizadas foram, em formato HEX: #000000 (preto), #55d400 (verde), #5599ff (azul claro), #214b8b (azul escuro). A cor verde representa a própria Mata Atlântica e esta, por sua vez, encontra-se ilustrada no formato de um anel aromático. O anel aromático representa a diversidade química do bioma. Uma lupa em *design* minimalista se sobrepõe ao anel aromático, representando a bioprospecção na Mata Atlântica. A lupa também promove a ampliação da vista do bioma em um contexto geográfico, uma vez que o limite da representação do bioma em que a lupa mira faz fronteira com a região em azul claro do logotipo, que representa o Oceano Atlântico, o qual banha a região costeira da Mata Atlântica. Dessa forma, os elementos bioma Mata Atlântica, diversidade química e biogeografia ficam caracterizados pelas cores e formatos do logotipo. A fonte utilizada é a OCR A Extended (<https://docs.microsoft.com/en-us/typography/font-list/ocr-a-extended>), do tipo *monotype*, característico de fontes relacionadas à tecnologia e linguagens de programação. Isso completa a interpretação dos significados dos símbolos

presentes no logotipo da BioOmiteca Mata Atlântica. O *software* gratuito e de código aberto Inkscape, versão 1.0 (<https://inkscape.org>), foi utilizado para a criação do logotipo.



Figura 1. Logotipo criado para a plataforma BioOmiteca Mata Atlântica.

A plataforma BioOmiteca Mata Atlântica está hospedada no *link* <https://bioomiteca.com>. O idioma principal da plataforma é o inglês e opções de tradução automática em diversos idiomas suportados pela ferramenta Google Translate estão disponíveis. A página da plataforma foi desenvolvida principalmente através do *software* Visual Studio Code (<https://code.visualstudio.com>) com base no *framework* de linguagem php Laravel versão 8.0 (<https://laravel.com>). A ferramenta Laravel Livewire 2.x (<https://laravel-livewire.com>) foi utilizada para desenvolver a interface *front end – back end*, para comunicação entre formulários, mecanismos de busca (*queries*) e banco de dados, assim como entre componentes e controladores de forma geral. A ferramenta de formatação de experiência e interface de usuário (UI/UX) principal utilizada, com base em CSS utilitário, foi a Tailwind CSS (<https://tailwindcss.com>). O pacote em linguagem JavaScript Chart.js (<https://www.chartjs.org>) foi utilizado para construir de forma dinâmica os dados de espectros de massas. Também em linguagem JavaScript, o pacote Alpine.js foi utilizado para as desenvolver as funcionalidades de interface, como *menus* dinâmicos, modais e alertas. Diversas outras ferramentas e pacotes foram utilizados em menor escala. Todo o código de programação da plataforma BioOmiteca Mata Atlântica está depositado no repositório GitHub (<https://github.com/joanapaulaso/BioOmiteca>), disponível para *download*, análise e contribuições.

1.2. Hipóteses

1) As espécies-alvo de orquídeas deste trabalho, *Vanilla bahiana*, *V. chamissonis* e *Cytopodium glutiniferum*, produzem classes químicas e metabólitos secundários com potencial biotecnológico para introdução na bioeconomia.

2) A modelagem de distribuição de *C. glutiniferum* pode ser implementada a fim de revelar a efetividade das Unidades de Conservação com base no modelo de adequabilidade da espécie.

3) É viável a construção de uma plataforma de acesso aberto em que se possa reunir dados sobre o potencial biotecnológico de espécies da Mata Atlântica com informações imprescindíveis à sua conservação e uso sustentável.

1.3. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi propor uma abordagem integrativa de análises metabolômicas e biogeográficas para apoiar a conservação e o uso sustentável da biodiversidade no bioma Mata Atlântica.

1.4. Objetivos específicos

i) Investigar a presença de classes químicas e metabólitos secundários com potencial bioeconômico nas espécies *Vanilla bahiana*, *V. chamissonis* e *Cytopodium glutiniferum*;

ii) Mapear a potencial distribuição geográfica das áreas adequadas para *Cytopodium glutiniferum* e analisar os seus padrões espaciais e o grau de proteção da espécie na rede atual de UCs;

iii) Desenvolver uma plataforma *online* de acesso aberto da integração de dados metabolômicos e biogeográficos das espécies da biodiversidade da Mata Atlântica – a BioOmiteca Mata Atlântica – e disponibilizá-la ao público geral.

1.5. Premissa principal

A difusão de informações sobre o valor econômico de espécies da Mata Atlântica deve andar de mãos dadas com a divulgação de informações imprescindíveis para a conservação e uso sustentável da biodiversidade do bioma. Assim, busca-se nortear uma mudança de paradigma inadiável em apoio à reintegração de diversos níveis de fragmentação: a do próprio bioma, a do conhecimento acerca do bioma e das comunidades nele inseridas – público geral, acadêmica, comunidades tradicionais e poder público ligado ao setor ambiental. A presente dissertação discorre sobre o início dessa jornada, para a qual se pretende dar continuidade no curso de doutorado.

1.6. Estrutura da dissertação

A partir deste ponto, a presente dissertação está organizada da seguinte forma: do segundo ao sexto capítulo são apresentados os produtos das análises metabolômicas, a saber: capítulo 2 – um artigo publicado na revista *Journal of Ethnopharmacology* sobre metabólitos com alto valor biotecnológico anotados em abordagem metabolômica não-alvo, juntamente à análises de ensaios de potencial antiproliferativo e de genotoxicidade *in vitro* de pseudobulbos de *C. glutiniferum*; capítulo 3 – uma comunicação à ser submetida à *Journal of Ethnopharmacology* contendo a reanálise metaboômica de *C. glutiniferum*, demonstrando novas descobertas de metabólitos na espécie, bem como a importância da reanálise de dados sob perspectivas analíticas de bioinformática diversificadas; capítulo 4 – um artigo publicado na revista *Food Chemistry* sobre a análise metabolômica dos frutos das espécies-alvo de baunilhas da MA (*V. bahiana* e *V. chamissonis*) e as similaridades e diferenças observadas em relação à espécie comercial (*V. planifolia*) relativas aos seus potenciais de *flavor*; capítulo 5 – o resumo do texto do depósito de uma patente de produtos à base de extratos de baunilha, com base nas descobertas de potenciais de *flavor* das baunilhas da MA descritas no artigo do capítulo 4; e capítulo 6 – um artigo submetido à revista *Food Chemistry* sobre a análise metabolômica de amostras de resíduos da extração hidro-etanólica (única aceitável para consumo) de frutos da baunilha comercial (*V. planifolia*), submetidas à hidrólises alcalina e ácida, demonstrando o valor biotecnológico deste resíduo. O sétimo capítulo é dedicado ao desenvolvimento de um protótipo metodológico de modelagem de distribuição de espécies (análise biogeográfica), utilizando *C. glutiniferum* como modelo, exposto na forma de um artigo em desenvolvimento, a ser submetido a uma revista especializada ainda a ser definida.

2. Análise metabolômica de *Cyrtopodium glutiniferum*

Neste capítulo será apresentado o artigo intitulado *Metabolomic analysis of Cyrtopodium glutiniferum extract by UHPLC-MS/MS and in vitro antiproliferative and genotoxicity assessment* publicado na revista *Journal of Ethnopharmacology* em maio de 2020 (<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112607>), o qual apresenta os resultados da análise metabolômica exploratória do extrato aquoso do bulbo da espécie *Cyrtopodium glutiniferum*. Tal resultado é complementado com resultados de análises *in vitro* de atividades anti-inflamatória e antiproliferativa, bem como de testes de genotoxicidade desse extrato, realizados pela equipe do Laboratório de Mutagenicidade Ambiental (Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ) e do Laboratório de Genotoxicidade (UNIRIO), pelos pesquisadores Carlos Fernando Araújo-Lima, Isabella Leite Coscarella, Claudia Alessandra Fortes Aiub e Israel Felzenszwalb. Dentre os compostos fenólicos identificados, 18 subclasses foram discriminadas, sendo os fenantrenos a classe mais abundante. Algumas moléculas anotadas, bem como as propriedades anti-inflamatórias e antiproliferativas de *C. glutiniferum* observadas neste estudo corroboram a eficácia terapêutica do extrato de orquídea aplicado na medicina popular. Como, inicialmente, a análise metabolômica publicada nesse artigo foi realizada através de um *software* proprietário, foi explorada, posteriormente, uma reanálise dos mesmos dados brutos em *software* de código aberto, exposta em capítulo posterior em formato de *Short Communication* a ser submetido para a *Journal of Ethnopharmacology*. A reanálise possibilitou uma interpretação mais precisa dos dados para a anotação das moléculas, o que resultou em uma lista de moléculas ainda maior com potencial biotecnológico associado. Forem esses últimos resultados os depositados no repositório da BioOmiteca Mata Atlântica. Em suma, considerando ambas as análises, a metabolômica demonstrou ser uma abordagem efetiva para a descoberta de metabólitos com potencial bioeconômico na espécie *C. glutiniferum*. Os dados brutos desta aquisição metabolômica estão disponíveis sob a licença CC0 1.0 Universal (CC0 1.0) (<https://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) na plataforma Mass Spectrometry Interactive Virtual Environment (MassIVE), sob o identificador MassIVE MSV000088673 (<https://doi.org/doi:10.25345/C5CW0W>).

3. Reanálise metabolômica de *Cyrtopodium glutiniferum*

Neste capítulo será apresentada a comunicação curta intitulada *Reanalysis of Cyrtopodium glutiniferum metabolomics data acquired through LC-MS/MS* a ser submetida para publicação na *Journal of Ethnopharmacology*. Na análise exposta no capítulo anterior, o *software* proprietário Compound Discoverer™ (Thermo Fisher Scientific, EUA) em sua versão 2.1 demonstrativa foi utilizada para o processamento, análise e anotação dos dados moleculares. Conforme exposto na sessão de material e métodos do capítulo anterior, em 2.4. *UHPLC-MS/MS data processing and metabolite identification*, um banco de dados customizado especificamente para aquela análise, com informações de estruturas moleculares de metabólitos fenólicos e/ou já identificados na família Orchidaceae, foi utilizado. A abordagem para anotação foi de fragmentação *in silico*, cujas estruturas moleculares do banco de dados foram submetidas ao algoritmo de fragmentação pertencente ao *software* proprietário e, quando comparados os fragmentos moleculares experimentais aos *in silico*, foi gerada uma pontuação, o *FISH Score*, utilizado como referência de confiabilidade da anotação. As anotações publicadas no artigo, apesar de bem embasarem os argumentos sobre as propriedades terapêuticas de *C. glutiniferum*, deixaram ainda uma lacuna, por se limitarem à anotações através de fragmentação *in silico*, a qual, sob a perspectiva desta reanálise, pôde começar a ser preenchida. Com o avanço de técnicas de análise, oferecido principalmente por grupos de trabalho que desenvolvem *softwares* de código aberto e gratuitos, como o MS-DIAL (<http://prime.psc.riken.jp/compms/msdial/main.html>, do *RIKEN Center for Sustainable Resource Science: Metabolome Informatics Research Team*) ou o GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>, *The Global Natural Product Social Molecular Networking*), a abordagem não-alvo ganha maior confiabilidade e reprodutibilidade, principalmente com o advento das anotações feitas com base em banco de dados experimentais de fragmentos moleculares. Portanto, essa nova abordagem foi selecionada para esta reanálise, que buscou aprimorar e complementar o trabalho antes realizado. Conforme exposto na comunicação a seguir, moléculas de alta abundância na espécie *C. glutiniferum*, com significativo valor biotecnológico, foram anotadas com altas pontuações, tanto nas abordagens de fragmentação *in silico* quanto quando embasadas em bancos de dados experimentais de fragmentos. Dessa forma, fica demonstrado mais uma vez, sob nova perspectiva analítica, o grande potencial bioeconômico e terapêutico dessa espécie característica do bioma Mata Atlântica.

4. Análises metabolômicas de *V. bahiana* e *V. chamissonis*

Neste capítulo será apresentado o artigo intitulado *Vanilla flavor: Species from the Atlantic forest as natural alternatives* publicado na revista *Food Chemistry* (<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131891>). A volatilidade do mercado de baunilha chama a atenção para a chamada “crise de baunilha”. Há uma crescente demanda mundial por baunilha natural com uma redução concomitante na oferta global. No entanto, as culturas comerciais estão ameaçadas de extinção devido à falta de variabilidade do *pool* genético, suscetibilidade às mudanças climáticas e doenças pandêmicas. Portanto, há uma necessidade urgente de identificar novas *Vanilla* spp. como fontes alternativas de baunilha. Com isso, a partir de perfis metabólicos obtidos via cromatografia líquida e espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) não-alvo e análises quimiométricas, o presente estudo demonstra o grande potencial bioeconômico de duas espécies da Mata Atlântica - *V. bahiana* e *V. chamissonis* - pela anotação de importantes compostos de *flavor* associados às espécies comerciais e revela características distintas de descritores de sabor e aroma associados a ambas as espécies selvagens. Tais semelhanças e diferenças são cruciais para a busca contínua pelo aprimoramento do *pool* genético da baunilha. Compostos notavelmente e frequentemente associados ao sabor de baunilha foram anotados ou identificados neste estudo, como vanilina e *p*-hidroxibenzaldeído.

5. Patente: Agente flavorizante, composição, processo de produção e uso de agentes aromatizantes e flavorizantes à base de extratos de baunilhas

O presente capítulo trata de um dos produtos de inovação gerados, almejados desde a idealização inicial do estudo: o depósito da patente intitulada “Agente flavorizante, composição, processo de produção e uso de agentes aromatizantes e flavorizantes à base de extratos de baunilhas” por esta autora, juntamente ao grupo de trabalho associado ao estudo. Consta aqui apresentado somente o resumo desse documento, cujos pormenores devem, por ora, ser mantidos em sigilo, até as próximas etapas de sua apreciação por parte do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). Os demais autores dessa patente são os pesquisadores: Maria Gabriela Bello Kobnitz, Rafael Garrett da Costa e Andrea Furtado Macedo. O documento completo conta com 68 páginas, sob processo de número BR 10 2021 024019 9, incluindo os capítulos de Resumo, Relatório Descritivo e Reivindicação. A compilação do texto foi realizada exemplarmente por Rodrigo Guerra, responsável pelo setor de Propriedade Intelectual da empresa Catharsys. A totalidade de espécies-alvo de baunilhas que constam no texto da patente se encontram também, por ora, sob sigilo. Esclarece-se que são espécies do gênero *Vanilla* pertencentes à biodiversidade da Mata Atlântica.



**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2021 024019 9

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 34023077000107

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Pasteur, 296 - Urca

Cidade: Rio de Janeiro

Estado: RJ

CEP: 22290-240

País: Brasil

Telefone: 25427885

Fax:

Email: nit@unirio.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 29/11/2021 às
12:23, Petição 870210110317

Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 33663683000116

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Pedro Calmon, nº 550

Cidade: Rio de Janeiro

Estado: RJ

CEP: 21941-901

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email:

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): AGENTE FLAVORIZANTE, COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE PRODUÇÃO E USO DE AGENTES AROMATIZANTES E FLAVORIZANTES À BASE DE EXTRATOS DE BAUNILHAS

Resumo: A presente invenção refere-se à produção de agentes e composições perfumantes, aromatizantes, saborizantes e/ou flavorizantes à base de extratos de frutos de baunilhas selvagens, domesticadas e/ou modificadas oriundas da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira que apresentam metaboloma e proteoma diferentes da baunilha *Vanilla planifolia*, gerando novos aromas e sabores de baunilha utilizáveis em produtos cosméticos, alimentícios, farmacêuticos, nutracêuticos, perfumaria, artigos têxteis, de madeira, plástico, repelentes e outros que possam carrear sua essência.

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 29/11/2021 às 12:23, Petição 870210110317

Nome: JOANA PAULA DA SILVA OLIVEIRA

CPF: [REDACTED]

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Biólogo, biomédico e afins

Endereço: [REDACTED]

Cidade: Rio de Janeiro

Estado: RJ

CEP: [REDACTED]

País: BRASIL

Telefone: [REDACTED]

Fax:

Email: [REDACTED]

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Resumo	RESUMO_Baunilha_final_18.11.2021.pdf
Relatório Descritivo	RELATÓRIO DESCRITIVO_Baunilha_final_18.11.2021.pdf
Reivindicação	QUADRO REIVINDICATÓRIO_Baunilha_final_18.11.2021. pdf
Comprovante de pagamento de GRU 200	GRU.pdf
Procuração	DocuSign_Procuração_UNIRIO.pdf

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 29/11/2021 às 12:23, Petição 870210110317

RESUMO

AGENTE FLAVORIZANTE, COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE PRODUÇÃO E USO DE AGENTES AROMATIZANTES E FLAVORIZANTES À BASE DE EXTRATOS DE BAUNILHAS

A presente invenção refere-se à produção de agentes e composições perfumantes, aromatizantes, saborizantes e/ou flavorizantes à base de extratos de frutos de baunilhas selvagens, domesticadas e/ou modificadas oriundas da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira que apresentam metaboloma e proteoma diferentes da baunilha *Vanilla planifolia*, gerando novos aromas e sabores de baunilha utilizáveis em produtos cosméticos, alimentícios, farmacêuticos, nutracêuticos, perfumaria, artigos têxteis, de madeira, plástico, repelentes e outros que possam carrear sua essência.

7. Modelagem ecológica de *Cyrtopodium glutiniferum*: possibilidades nos âmbitos da conservação e do cultivo sustentável

Neste capítulo será apresentado o artigo intitulado *Environmental suitability modeling for a bioeconomic value species, Cyrtopodium glutiniferum (Orchidaceae): assigning potential areas for conservation and sustainable cultivation* a ser submetido para publicação em revista especializada ainda a ser definida. Por ora, o estudo se trata de um protótipo metodológico, com resultados demonstrativos e preliminares, que será concretizado e melhor desenvolvido durante o doutorado, devido ao tempo escasso do curso de mestrado. O texto aqui apresentado ainda passará por criteriosas correções antes de ser submetido. É o primeiro estudo de modelagem ecológica realizado sobre a espécie de orquídea *Cyrtopodium glutiniferum* Raddi. A espécie é muito valorizada por seu potencial biotecnológico, pela produção de moléculas importantes na indústria medicinal e farmacêutica, além de já ser utilizada na medicina popular. Foi realizada uma modelagem de distribuição de espécies com base em uma modelagem de nicho ecológico, a fim de otimizar as capacidades de análise com o uso do pacote ENMTML no *software* RStudio, que integra tecnologia de ponta no âmbito da análise biogeográfica. O protótipo metodológico demonstrou capacidade de avaliar as variáveis mais importantes que contribuiram para a construção do modelo, sendo essas, preliminarmente: isothermalidade, cobertura de nuvens - variabilidade intra-anual (desvio padrão), índice de diferença de vegetação normalizado (sazonalidade), radiação solar, declividade e fração volumétrica de fragmentos grosseiros (> 2 mm). O modelo preliminar indica que *C. glutiniferum* está intimamente associada ao bioma Mata Atlântica e as Unidades de Conservação (UC) ali presentes estão associadas a áreas de baixa adequabilidade potencial para a espécie. A análise cruzada mostra que os *hotspots* de adequabilidade potencial podem estar altamente associados às áreas de pastagem e formação florestal, no que diz respeito ao uso e cobertura da terra. Além disso, *hotspots* podem estar associados a tipos de UCs que podem beneficiar a conservação de *C. glutiniferum* (como Área de Relevante Interesse Ecológico) e seu cultivo sustentável (como Reservas Particulares do Patrimônio Natural).

8. Conclusões gerais

A possibilidade de integração dos métodos de metabolômica e modelagem de distribuição de espécies demonstra ser uma estratégia viável, talvez imprescindível, para difusão responsável do potencial bioeconômico de espécies da Mata Atlântica, a exemplo do estudo realizado com a orquídea *Cyrtopodium glutiniferum*, o qual se pretende finalizar na etapa de doutorado. O alto potencial bioeconômico de espécies desse bioma deve ser divulgado vinculado a informações essenciais à sua preservação e uso sustentável. Divulgar o potencial biotecnológico de espécies de plantas é premente para se evitar o paradigma de “cegueira de plantas”, em que, normalmente, em se tratando do norteamento de iniciativas de conservação, modelos vegetais são normalmente negligenciados (Balding e Williams, 2016). Uma forma de se contornar tal paradigma é chamando a atenção das partes interessadas às espécies de plantas que se tornam carismática através da difusão dos potenciais bioeconômico e/ou ornamental que apresentam, este último sendo, também, o caso de orquídeas (Faruk *et al.*, 2021). O potencial bioeconômico das três espécies-alvo desse estudo (*C. glutiniferum*, *V. bahiana* e *V. chamissonis*) foram elucidados, enquanto que, para compor o repositório da BioOmiteca Mata Atlântica, somente o protótipo metodológico da modelagem ecológica de *C. glutiniferum* pôde ser realizado em tempo hábil. As análises biogeográficas das baunilhas da Mata Atlântica também já contam com resultados preliminares, os quais, em tempo, serão depositados na plataforma BioOmiteca Mata Atlântica, bem como publicados em formato de artigo científico.

9. Perspectivas

Tem-se como principal perspectiva a continuidade do trabalho aqui iniciado. Desenvolver projetos que afetam a malha da consciência coletiva pressupõe um empenho de longo prazo. Para as próximas etapas, pretende-se expandir a capacidade da BioOmiteca Mata Atlântica de abrigar informações pertinentes à sua valorização e conservação. Está nos planos que mais espécies de baunilha sejam analisadas, através de ambos os métodos – metabolômica e modelagem de distribuição de espécies. Tal expansão contará também com a inclusão de protocolos de descoberta de drogas, com base no conhecimento adquirido acerca dos produtos naturais de espécies da Mata Atlântica. Dessa forma, a abordagem de levantamento desses dados não mais irá se restringir à estratégia *bottom-up*, em que espécies são individualmente analisadas e seus resultados são publicados. Pretende-se, também, considerar uma abordagem *top-down*, em que táxons superiores são estudados com o

enfoque do estudo, através de amplo levantamento bibliográfico de informações que apoiem a valorização da biodiversidade da Mata Atlântica, pela descoberta de metabólitos com potencial bioeconômico. Será dada continuidade ao estudo de modelagem de distribuição de *Cyrtopodium glutiniferum*, para que os dados definitivos sejam publicados e agregados à plataforma BioOmiteca Mata Atlântica. As espécies *Vanilla bahiana* e *V. chamissonis* também serão analisadas sob a perspectiva biogeográfica para tal fim, assim como outras espécies que se pretende agregar ao repositório.

10. Referências bibliográficas

- Armsworth, P. R., Chan, K. M. A., Daily, G. C., Ehrlich, P. R., Kremen, C., Ricketts, T. H., & Sanjayan, M. A. 2007. Ecosystem-service science and the way forward for conservation. *Conservation Biology*, 21(6), 1383–1384.
- Balding, M., and Williams, K. J. 2016. Plant blindness and the implications for plant conservation. *Conservation Biology*, 30(6), 1192-1199.
- Barreto D. W. and Parente, J. P. 2006. Chemical properties and biological activity of a polysaccharide from *Cyrtopodium cardiochilum*. *Carbohydr Polym* 64:287–291
- Bellard, C., Leclerc, C., Leroy, B., Bakkenes, M., Veloz, S., Thuiller, W., & Courchamp, F. 2014. Vulnerability of biodiversity *hotspots* to global change. *Global Ecology and Biogeography*, 23(12), 1376–1386
- Bomgardner, M. M. 2016. The problem with Vanilla. *Chemical & Engineering News*, v. 94, n. 36, p. 38–42
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Meneguzzo, F., Parrino, F., Ilharco, L. M., and Pagliaro, M. 2019. Cover Feature: Vanillin: The Case for Greener Production Driven by Sustainability Megatrend (ChemistryOpen 6/2019). *ChemistryOpen*, 8(6), 658-658
- Costanza, R. 2006. Nature: ecosystems without commodifying them. *Nature*, 443(7113), 749-749.
- Coley, P. D., Heller, M. V., Aizprua, R., Araúz, B., Flores, N., Correa, M., Gupta, M., Solis, P. N., Ortega-Barría, E., Romero, L. I., Gómez, B., Ramos, M., Cubilla-Rios, L., Capson, T. L. and Kursar, T. A. 2003, Using ecological criteria to design plant collection strategies for drug discovery. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1: 421-428

- Crouzeilles, R., Santiami, E., Rosa, M., Pugliese, L., Brancalion, P. H., Rodrigues, R. R., ... and Pinto, S. Elsevier BV. 2019. There is hope for achieving ambitious Atlantic Forest restoration commitments. *Perspectives in Ecology and Conservation*, v. 17, n. 2, p. 80-83
- Deka, K., Baruah, P. S., Sarma, B., Borthakur, S. K., & Tanti, B. 2017. Preventing extinction and improving conservation status of *Vanilla borneensis* Rolfe—A rare, endemic and threatened orchid of Assam, India. *Journal for nature conservation*, 37, 39-46
- Demarque, D. P., Crotti, A. E., Vessecchi, R., Lopes, J. L., & Lopes, N. P. 2016. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. *Natural Product Reports*, 33(3), 432-455
- Faruk, A., Papikyan, A., & Nersesyan, A. 2021. Exploring Effective Conservation of Charismatic Flora: Orchids in Armenia as a Case Study. *Diversity*, 13(12), 624.
- Fundação SOS Mata Atlântica, e INPE. 2018. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica, 2017-2018. Em Relatório Técnico. São Paulo
- Gómez-Baggethun, E., & Ruiz-Pérez, M. 2011. Economic valuation and the commodification of ecosystem services. *Progress in Physical Geography*, 35(5), 613–628
- Häyhä, T., e Franzese, P. P. 2014. Ecosystem services assessment: A review under an ecological-economic and systems perspective. *Ecological Modelling*, 289, 124-132
- Havkin-Frenkel, D. 2018. Vanillin. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., p. 1–12
- Holl, K. D. 2017. Restoring tropical forests from the bottom up. *Science*, 355(6324), 455-456
- Hossain, M. M., Kant, R., Van, P. T., Winarto, B., Zeng, S., & Teixeira da Silva, J. A. 2013. The application of biotechnology to orchids. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(2), 69-139
- Karp, A., Beale, M. H., Beaudoin, F., Eastmond, P. J., Neal, A. L., Shield, I. F., ... and Dobermann, A. 2015. Growing innovations for the bioeconomy. *Nature plants*, 1(12), 1-3

- Keune, H., Martens, P., Kretsch, C., & Prieur-Richard, A. H. 2013. The natural relation between biodiversity and public health: An ecosystem services perspective. Em *Ecosystem services*. Elsevier, p. 181–189
- Laurance, W. F. et al. Elsevier BV. 2009. Conserving the hottest of the *hotspots*. *Biological Conservation*, v. 142, n. 6, p. 1137
- Meneguzzo, F. e Zabini, F. 2021. Forest Ecosystem Services for Human Health. *Agri-food and Forestry Sectors for Sustainable Development*, 33-53.
- Nascimento, T. A. D., Furtado, M. D. S. C., Pereira, W. C., and Barberena, F. F. V. A. (2019). *Vanilla bahiana* Hoehne (Orchidaceae): studies on fruit development and new perspectives into crop improvement for the *Vanilla planifolia* group. *Biota Neotropica*, 19(3)
- Mateo, N., Nader, W., and Tamayo, G. 2001. Bioprospecting. *Encyclopedia of biodiversity*, 1, 471-488
- Pagliari, M. 2019. Greener Production of Vanillin. *Chimica Oggi-Chemistry Today*, 37, 2.
- Parron, L. M., Fidalgo, E. C. C., Luz, A. P., Campanha, M. M., Turetta, A. P. D., Pedreira, B. C. C. G., & Prado, R. B. 2019. Research on ecosystem services in Brazil: a systematic review. *Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 14(3), 1
- Pereira, M. C., Rocha, D. I., Veloso, T. G. R., Pereira, O. L., Francino, D. M. T., Meira, R. M. S. A., and Kasuya, M. C. M. 2015. Characterization of seed germination and protocorm development of *Cyrtopodium glutiniferum* (Orchidaceae) promoted by mycorrhizal fungi *Epulorhiza* spp. *Acta Botanica Brasilica*, 29(4), 567-574
- Peterson, A. T., e Soberón, J. 2012. Species distribution modeling and ecological niche modeling: getting the concepts right. *Natureza & Conservação*, 10(2), 102-107
- Pires, A. P., Shimamoto, C. Y., Padgurschi, M. C., Scarano, F. R. e Marques, M. C. 2021. Atlantic Forest: ecosystem services linking people and biodiversity. Em *The Atlantic Forest*. Springer, Cham., p. 347–367
- Silva, A. G., Boldrini, R. F., & Kuster, R. M. 2013. Osumarés cicatrizantes da medicina tradicional brasileira, ou, as surpresas químicas ativas do desconhecido gênero *Cyrtopodium* (Orchidaceae). *Natureza on line*, 11, 152-154

- Sinha, A. K., Sharma, U. K., and Sharma, N. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(4), 299–326
- Valli, M., Russo, H. M., & Bolzani, V. S. 2018. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(1), 763-778
- Villero, D., Pla, M., Camps, D., Ruiz-Olmo, J., & Brotons, L. 2017. Integrating species distribution modelling into decision-making to inform conservation actions. *Biodiversity and Conservation*, 26(2), 251-271
- Wang, Y., Liu, S., Hu, Y., Li, P., & Wan, J. B. 2015. Current state of the art of mass spectrometry-based metabolomics studies—a review focusing on wide coverage, high throughput and easy identification. *Rsc Advances*, 5(96), 78728-78737
- Wolfender, J. L., Rudaz, S., Hae Choi, Y., and Kyong Kim, H. 2013. Plant metabolomics: from holistic data to relevant biomarkers. *Current Medicinal Chemistry*, 20(8), 1056-1090
- World Wildlife Fund for Nature. 2009. *Guide to Conservation Finance*, p. 23.
- Xiao, J. F., Zhou, B., and Resson, H. W. 2012. Metabolite identification and quantitation in LC-MS/MS-based metabolomics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 32, 1-14