

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE CUMARINA EM FOLHAS
DE GUACO (*Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker) EM DIFERENTES
IDADES DA PLANTA**

DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU-SP

Fevereiro– 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE CUMARINA EM FOLHAS
DE GUACO (*Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker) EM DIFERENTES
IDADES DA PLANTA**

DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Lin Chau Ming

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP –
Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia
(Horticultura).

BOTUCATU-SP

Fevereiro – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Santos, Dayane Graziella Pereira de Oliveira dos, 1988-
S237p Produção de biomassa e teor de cumarina em folhas de guaco (*Mikania laevigata* Sch. Bip. Ex Baker) e diferentes idades da planta / Dayane Graziella Pereira de Oliveira dos Santos. - Botucatu : [s.n.], 2016
vii, 41 f. : fots. color., grafs. color., ils. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2016
Orientador: Lin Chau Ming
Inclui bibliografia

1. Compostas (Botânica). 2. Plantas medicinais - Cultivo. 3. Espectrofotômetro. 4. Química vegetal. I. Ming, Lin Chau. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE CUMARINA EM FOLHAS DE GUACO (*Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker) EM DIFERENTES IDADES DA PLANTA.

AUTORA: DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE O. DOS SANTOS

ORIENTADOR: LIN CHAU MING

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LIN CHAU MING
Deptº de Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP

Profa. Dra. ALEXANDRA CHRISTINE HELENA F. SAWAYA
Depto de Biologia Vegetal / UNICAMP - CAMPINAS

PROF. DR. MARCOS ROBERTO FURLAN
Centro de Plantas Medicinais / UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Botucatu, 29 de fevereiro de 2016

DEDICO

Aos meus pais, João Pereira dos Santos e Nilda Pereira de Oliveira, pelo amor incondicional e incentivo para concretização dos meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Horticultura), pela oportunidade de realização do mestrado e dedicação destinada à excelência na formação de seus alunos.

Ao orientador Prof. Dr. Lin Chau Ming, por depositar a confiança para desenvolvimento deste projeto, pelos ensinamentos transmitidos, competência, dedicação, paciência, honestidade e apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

A meu companheiro incondicional, Douglas Garcia, por todo amor, compreensão, carinho e apoio em todos os momentos. À sua família pelo convívio pessoal e acolhedor.

À minha família que mesmo estando longe, sempre procuram uma forma de me incentivar, alegrar e compartilhar os momentos que não estive presente.

A todos os amigos que conquistei nessa longa caminhada acadêmica, me incentivando e tentando mostrar de alguma forma que as coisas eram possíveis.

Aos funcionários da Faculdade de Ciências Agrônômicas (UNESP – Campus de Botucatu) e da Fazenda Experimental Lageado. As estagiárias pelo auxílio nas avaliações do trabalho.

Aos professores de Pós-graduação do Departamento de Horticultura. Ao CPQBA, e Unicamp, em especial a Prof^a. Dr^a. Alexandra Sawaya pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização e conclusão deste projeto, quer seja nas atividades da pesquisa ou nos momentos de descontração.

“Que todo meu ser louve ao Senhor, e que eu não esqueça nenhuma das suas bênçãos”.

Salmos 103:2

SUMÁRIO

Resumo	1
Summary	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS	5
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	6
3.1 Classificação botânica e descrição da planta	6
3.2 Idades da planta na colheita	8
3.3 Cumarinas	10
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1 Material Vegetal.....	14
4.2 Produção das mudas	14
4.3 Caracterização da área experimental.....	15
4.4. Adubação de plantio.....	16
4.5 Instalação e delineamento experimental.....	19
4.6 Controle de insetos, doenças e plantas invasoras.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 Avaliações da biomassa produzida	23
5.2 Avaliação da cumarina	25
5.3 Teor de Cumarina X Biomassa	32
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
7 CONCLUSÕES	34
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Mikania laevigata</i> , campo (A); <i>Mikania laevigata</i> (B); Botucatu - SP, 2015.....	7
Figura 2. Rota biossintética da cumarina em vegetais superiores (ALMEIDA, 2015).	12
Figura 3. Área de cultivo, pomar, FCA. (A), Google Earth ,outubro, 2014. ;Vista parcial da área experimental, Botucatu-SP. (B), novembro, 2014.	16
Figura 4. Valores médios de temperaturas máximas, médias e mínimas e volume pluviométrico do período de Janeiro a dezembro de 2015, referente ao município de Botucatu, SP. 2015.....	17
Figura 5. Disposição e delineamento do experimento. Botucatu, 2015.....	20
Figura 6. Cromatograma da amostra aos sete meses idade da <i>Mikania laevigata</i> , modo positivo (A) e modo negativo (B). Tempo de retenção dos principais analitos observados. UNICAMP, Campinas, SP, 2016.	26
Figura 7. Cromatográfico selecionado da <i>M. laevigata</i> aos sete meses de idade, contendo a representação de área dos principais analitos observados. UNICAMP, Campinas, SP, 2016.	27
Figura 8. Curva de calibração para Cumarina. Extrato de <i>M. laevigata</i> . Unicamp. Campinas. 2016.	28
Figura 9. Curva de calibração para umbeliferona. Extrato de <i>M. laevigata</i> . Unicamp. Campinas. 2016.	28
Figura 10. Curva de calibração para ácido p- cumárico. Extrato de <i>M. laevigata</i> . Unicamp. Campinas. 2016.	29
Figura 11. Curva de calibração para ácido o-cumárico. Extrato de <i>M. laevigata</i> . Unicamp. Campinas. 2016.	29
Figura 12. Curva de calibração para ácido grandiflórico. Extrato de <i>M. laevigata</i> . Unicamp. Campinas. 2016.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da análise química inicial do solo da área experimental, na profundidade de 0-20 cm, Botucatu-SP, 2014.....	16
Tabela 2. Resultado da análise química do solo (micronutrientes) da área experimental, na profundidade de 0-20 cm, Botucatu-SP, 2015.....	17
Tabela 3. Teor de matéria orgânica do solo para recomendação de adubação.....	18
Tabela 4. Resultado de análise de material orgânico. Composto Provaso® UNESP/FCA, 2015.....	19
Tabela 5. Gradiente para análise cromatográfica.	22
Tabela 6. Efeito da idade de colheita sobre a produtividade de <i>M. laevigata</i> . Matéria fresca das folhas: (MFF/ 6 plantas/ kg); Matéria fresca do caule: (MFC/ 6 plantas/ kg); Matéria fresca total: (MFT/ 6 plantas/ kg); Produtividade de matéria fresca total: (PFT/ 6 plantas/ t ha ⁻¹); Produtividade de matéria fresca das folhas: (PFF/ 6 plantas/ t ha ⁻¹) Produtividade de matéria fresca do caule: (PFC/ 6 plantas/ t ha ⁻¹); Matéria seca das folhas: (MSF/ 6 plantas/ kg); Produtividade de matéria seca das folhas: (PSF/ 6 plantas/ t ha ⁻¹), Botucatu, 2015. ...	24
Tabela 7. O teor de cumarina contido em 1,0 g de folhas secas de <i>M. laevigata</i> em diferentes idades da planta. Botucatu, 2015.	30
Tabela 8. Teor de cumarina x biomassa produzida nas diferentes idade do guaco.	32

PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE CUMARINA EM FOLHAS DE GUACO (*Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker) EM DIFERENTES IDADES DA PLANTA.

Botucatu, 2016. 50p. Dissertação (Mestrado em Agronomia -Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

Orientador: PROF. DR. LIN CHAU MING

Resumo

A espécie *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker, popularmente conhecida como guaco, pertence à família Asteraceae, é originária da região sul do Brasil e está entre as plantas medicinais adotadas pelo Sistema Único de Saúde do Brasil. *M. laevigata* é uma opção agrícola promissora no cultivo das medicinais, estando acessível ao pequeno produtor, tendo em vista a crescente demanda do mercado consumidor brasileiro por fitoterápicos. Uma vez que as plantas medicinais são classificadas como produtos naturais, a lei permite que sejam cultivadas e comercializadas desde que se atinja o padrão de qualidade necessário. O presente trabalho foi instalado e conduzido na Fazenda Experimental Lageado, da Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Campus de Botucatu, Estado de São Paulo. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a produtividade de biomassa e teor de cumarina do guaco colhido em diferentes idades da planta. Foi observada maior produtividade para as variáveis avaliadas aos onze meses de idade do guaco, obtendo 0,96 t ha⁻¹ de matéria seca de folha sendo que não houve diferença estatística quanto ao teor de cumarina aos 7, 9, e 11 meses de idade de *Mikania laevigata*. Nas condições em que foi realizada a pesquisa, o maior rendimento de biomassa x teor de cumarina foi obtido aos 11 meses de idade do guaco, o qual possibilitou o melhor resultado para o rendimento extrativo de cumarina em folhas secas.

Palavras-chaves: Asteraceae, cultivo de plantas medicinais, espectrofotômetro, fitoquímica

BIOMASS PRODUCTION AND COUMARIN CONTENT IN DIFFERENT AGES OF GUACO LEAVES (*Mikania laevigata* Sch. Bip. Ex Baker).

Botucatu, 2016. 50 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia -Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

Advisor: PROF. DR. LIN CHAU MING

Summary

The species *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker, popularly known as guaco, belongs to the Asteraceae family and it is native to southern Brazil it is among the medicinal plants adopted by the Unified Health System in Brazil (SUS). *M. laevigata* is a promising option in agricultural cultivation of medicinal plants and is accessible to small farmers, in view of the growing demand of the Brazilian market for herbal medicines. Since medicinal plants are classified as natural products, the law allows them to be grown and marketed if they achieve the required quality standards. This work was conducted at the Lageado Experimental Farm, Faculty of Agricultural Sciences - UNESP, Botucatu, State of São Paulo. The objective of this research was to evaluate the productivity of biomass and coumarin content of guaco harvested at different ages of the plant. It was observed higher productivity for the variables evaluated at eleven months of guaco, obtaining 0.96 t ha⁻¹ of dry leaf and there was no statistical difference in the coumarin content at 7, 9, and 11 months of age *Mikania laevigata*. The conditions under which the survey was conducted, the higher biomass yield x coumarin content of guaco was obtained at 11 months of age, which enabled the best result for the extraction yield of coumarin in dry leaves.

Keywords: Asteraceae, medicinal plants, phytochemistry, spectrophotomete

1 INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização, o homem faz uso das plantas, pela necessidade de sobrevivência, o que no decorrer deste processo levou à descoberta de aplicações terapêuticas de determinadas espécies (RIBEIRO, 1996). O cenário tem mostrado moradores de grandes cidades como público consumidor desta forma terapêutica. A utilização de plantas como tratamento alternativo vem sendo cada vez mais utilizadas devido às suas propriedades preventivas, paliativas e curativas que traz inúmeros benefícios aos usuários. As plantas medicinais que tem comprovada a sua eficiência terapêutica e toxicologia (ou segurança do uso), dentre outros aspectos, estão aprovadas para serem utilizadas pela população em suas necessidades básicas de saúde, em função da facilidade de acesso, do baixo custo e da compatibilidade cultural. Os estímulos governamentais através do Sistema Único de Saúde (SUS) e ao *marketing* de grandes empresas sobre o uso de algumas plantas medicinais favorece a produção in natura por parte dos pequenos agricultores (LORENZANI et al., 2004; QUIROZ et al., 2014). Além da recomendação do uso, o SUS busca incentivar a exploração e/ou produção sustentada de plantas. As espécies *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker pertencem à família Asteraceae, são popularmente conhecidas como guaco e originárias da América do Sul, esta entre as plantas medicinais adotadas pelo SUS a partir do Decreto no. 5.813, de 22 de junho de 2006, que aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2006 a, b).

No guaco, a cumarina é a substância majoritária utilizada no controle de qualidade na produção de extratos, sendo definida como marcador químico em extratos alcoólicos da planta (KUSTER e ROCHA, 2001; SANTOS, 2005).

As cumarinas estão entre as substâncias produzidas pelo metabolismo secundário vegetal. Pertencem à classe das lactonas e são consideradas o princípio ativo responsável no tratamento de enfermidades do trato respiratório, com efeito broncodilatador comprovado (CZELUSNIAK et al., 2012). Além disso, atuam como antisséptico das vias respiratórias, expectorante, antiasmático, febrífugo, sudorífico, com ação anti-reumática e cicatrizante, sendo que as partes utilizadas são as folhas (CABRAL et al., 2001; AMARAL et al., 2003; SILVA et al., 2008). Assim como outras espécies de plantas medicinais, o guaco também sofreu exploração extrativista, visando uso próprio e/ou abastecimento do comércio na área de produtos naturais. De acordo com o aumento do uso de espécies medicinais pela população surgiu à necessidade de maior conhecimento sobre as técnicas culturais para produção da planta, além do conhecimento de fatores que podem influenciar a composição química da planta e a identificação dos órgãos vegetais que apresentem maiores teores dos metabólitos de interesse. Segundo Gobbo Neto e Lopes, (2007), fatores como nutrientes, umidade, solo, intensidade luminosa, pragas e doenças, presença de outras plantas, podem interferir na qualidade química final de um vegetal. Das Dôres (2007), explica que isso ocorre pelo fato do metabolismo secundário ser regido pelo código genético e este interagir com o ambiente, sendo de grande importância na produção de plantas medicinais. A qualidade do produto final é fortemente influenciada pelas técnicas de cultivo adotadas e pelas características genéticas da população cultivada. O manejo adequado garante atomização do produto final, o que possibilita um medicamento derivado de plantas seja economicamente viável, sem que haja aumento nos custos de sua produção (FURLAN e GARCIA, 2013). A domesticação da *M. laevigata* visa um sistema de cultivo que propicie uma eficiência produtiva, incentivando o agricultor, pois além de facilitar o manejo em si, faz com que a matéria-prima seja quimicamente homogênea e atinja o padrão de qualidade adequado para a viabilização técnica/comercial. Quanto a *M. laevigata*, por mais que já possua um maior reconhecimento comercial frente a outras espécies medicinais, ainda necessita de estudos que envolvam o desenvolvimento de técnicas culturais (NEGRELLE e DONI, 2001).

2 OBJETIVOS

Estudar a produtividade de biomassa e o teor de cumarina nas folhas *M. laevigata* cultivada aos sete, nove e onze meses de idade do guaco após o transplântio em condições de cultivo na região de Botucatu-SP.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Classificações botânicas e descrição da planta

M. laevigata é uma liana subarborescente, pertencente à família Asteraceae, tribo das Eupatorieae e sub-tribo Mikaninae (SUYENAG et al., 2002). O gênero *Mikania* é composto por 450 espécies aproximadamente, que estão distribuídas em regiões tropicais da América, África e Ásia. Dentre essas, cerca de 200 são encontradas no Brasil (PEREIRA, 1997; RITTER e MIOTTO, 2005). O seu cultivo é determinado de março a novembro, com florescimento nos meses de agosto a outubro. A planta é bastante procurada por abelhas melíferas durante a época da floração. Reproduz-se por sementes ou plantio de estacas do caule, preferencialmente em terrenos arenosos e úmidos (CABRERA e KLEIN, 1989; RITTER e MIOTTO, 2005). O guaco apresenta crescimento espontâneo em matas primárias, tendo seu hábitat nas margens de rios, capoeiras, capoeirões, orla de matas, terrenos de aluvião e várzeas propensas a inundações. A espécie possui boa adaptação ao cultivo doméstico (CZELUSNIAK et al., 2012).

Segundo Corrêa Junior et al., (2011), os ervanários baseavam-se na morfologia externa para reconhecer as plantas, o que pode levar a erros de identificação, como no caso de *M. glomerata* e *M. laevigata*, que têm morfologia externa e interna assemelhadas. Estas espécies são muito próximas, sendo muitas vezes confundidas, devido

à variação na forma das folhas e o odor característico da cumarina (LIMA et al., 2003; RITTER e WACCHETER, 2004). Segundo Czelusniak et al., (2012), as duas espécies não são apenas confundidas comercialmente como também citadas na literatura de forma errada.

Budel et al. (2009) realizaram estudos farmacognósticos de *M. laevigata* a fim de evitar possíveis confusões com outras espécies de *Mikania* também utilizadas para fins medicinais como é o caso da *M. glomerata*, chegando a conclusão da grande semelhança entre essas espécies. Em relação aos caracteres foliares ambas é muito parecida, a lâmina foliar apresenta, em vista frontal, células de contorno ondeado a sinuoso, de paredes anticlinais levemente espessadas. *M. laevigata* possui folhas de aspecto carnosu-coriáceo, verde-brilhante na face superior, mais pálida na inferior (Figura 1). É um subarbusto trepador que apresenta caule cilíndrico e lenhoso. A região dos nós é, frequentemente, acompanhada por folhas de disposição oposta e estas se caracterizam por serem ovaladas, oblongo-lanceoladas, de ápice acuminado e base obtusa, arredondada ou subcordiforme, de margem inteira, pecioladas, com base trinervada de até 15 cm de comprimento e 7 cm de largura, (SIMÕES et al., 1999) .

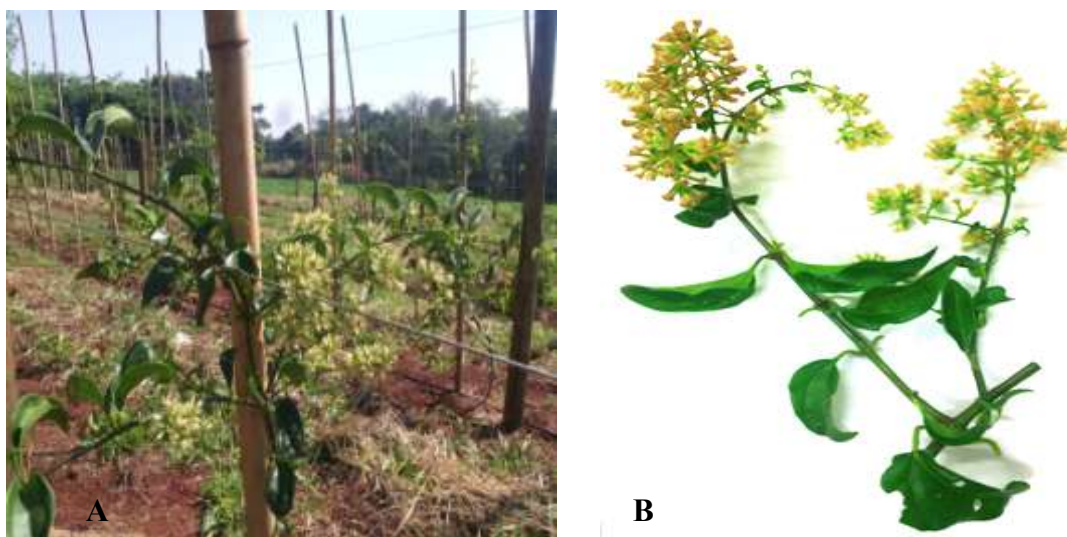


Figura 1. *Mikania laevigata*, campo (A); *Mikania laevigata* (B); Botucatu - SP, 2015.

Suas flores são hermafroditas, reunidas em números de quatro em capítulos, de pápus branco e corola tubulosa, de cor branco-creme; sendo seu capítulos

florais agrupados em ramos espiciformes congestos ou em glomérulos. Possui frutos do tipo aquênios glabros (SIMÕES et al., 1999; RITTER e MIOTTO, 2005).

3.2 Idades da planta na colheita

O interesse em relação ao estudo de plantas medicinais e seus extratos vêm crescendo na assistência à saúde (VARANDA, 2006; QUIROZ et al., 2014). No Brasil existe uma flora bastante diversificada, com vegetações de diferentes características e cujos princípios ativos são ainda em sua maioria desconhecidos. As plantas representam uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais constituíram modelos para a síntese de um grande número de fármacos. O controle da síntese de compostos secundários dos vegetais está sob influências genéticas, fisiológicas, e fatores externos, luz, solo, umidade entre outros. A elevada produção de metabólitos secundários está regida por níveis de radiação solar, isso porque consideramos que as reações biossintéticas dependem de suprimento de esqueletos carbônicos, realizados por meio do processo fotossintético, e de compostos energéticos (ATP, NADPH e acetil-SCoA), que participam da regulação dessas reações (TAIZ e ZEIGER, 2013). São diversos os fatores que podem acarretar mudanças no teor dos compostos secundários e nas propriedades terapêuticas, como o local de cultivo, idade da planta, manejo, época e horário de colheita, método de secagem, dentre outros exemplos (CANTWELL e REID, 1994).

Os metabólitos secundários das plantas são modificados de forma quantitativa e qualitativa durante as fases de crescimento. A partir dos dados de crescimento pode-se adquirir conhecimento a respeito da fisiologia da planta em estudo. De acordo com a idade das plantas e o estado reprodutivo, os compostos secundários são determinados pelos efeitos dos hormônios, com ciclos de síntese de substâncias influenciada pelas estações ou horas do dia e condições de cultivo (TAIZ; ZEIGER, 2013; CASTRO et al., 2004; LEAL et al., 2001; BUCHANAN et al., 2000).

As plantas se comportam de formas diferentes ao longo do ano, o que influencia o teor de princípios ativos. A determinação da época de colheita de plantas medicinais é essencial, pois as concentrações de suas substâncias podem ser mais elevadas

e de maior qualidade em uma determinada época ou estação do ano (CARVALHO, et al., 2006; GOBBO NETO e LOPES, 2007).

O momento certo do ponto de colheita de plantas medicinais e aromáticas varia conforme o órgão e seu estágio de desenvolvimento. Nos estádios jovens da planta podem ocorrer períodos de estresse e as consequências negativas podem se refletir no crescimento e desenvolvimento posteriores afetando tanto o rendimento como a qualidade da produção. Tal conhecimento é fundamental para realização de estudos que relacionam o ponto de colheita e teor de compostos secundários em plantas medicinais com o surgimento de novos órgãos, processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos, (CZELUSNIAK, et al., 2012; CORRÊA JUNIOR et al., 2011; CONTIN, 2009). Vale salientar que produção de compostos químicos presentes nas plantas está sujeita a alta variabilidade, sendo que a alocação dos princípios ativos ocorre em órgãos ou partes específicas do vegetal, podendo ser bem irregular. As substâncias de interesse geralmente concentram-se em órgão especializados. Alguns exemplos de especificidade podem ser encontrados em diversas espécies de plantas medicinais, dentre alguns trabalhos científicos pode se observado que a produção de flavonóides, de maneira geral, estão mais concentrados na parte aérea das plantas estudadas. A pilocarpina (alcalóides) pode se extraída do jaborandi (*Pilocarpus pennatifolius* Lem.) em folhas jovens (COSTA, 2005).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*), por exemplo, possui o seu maior teor de óleo essencial após a floração, e na camomila (*Matricaria recutita*) o composto camazuleno, entre outras substâncias, é encontrado nas flores plenamente abertas (RODRIGUES, 2004). Conhecer a planta, bem como a parte do vegetal onde se armazenam as substâncias, é muito importante na determinação do período de colheita para que se possa estabelecer o momento ideal de concentração dos princípios ativos. A idade da planta e a fase de desenvolvimento podem determinar a máxima concentração destas moléculas de interesse, principalmente quando se trata de plantas de hábito perene ou anual de ciclo longo. Nas anuais é necessário alcançar maior maturidade para que sejam colhidas suas folhas e casca, geralmente ao fim do ciclo anual, ou antes da floração. Nos arbustos, as cascas são retiradas no outono e nas árvores na chegada da primavera (RODRIGUES, 2004). Há possibilidade de que em determinados períodos do ano ocorra maior acúmulo de princípios ativos, o que se deve a fatores genéticos e fisiológicos da planta em resposta a diferentes ambientes de cultivo.

Resultados obtidos por Macrae e Tower (1984), indicam um teor de cumarina duas vezes maior em folhas maduras quando comparado com as folhas mais jovens de chambá (*Justicia pectoralis* Jacq., var. *stienothylla* Leon). Foi observado também por Pereira (1997) o elevado teor de cumarina em folhas de guaco (*Mikania glomerata*) quando colhida no mês de janeiro na região de Ribeirão Preto, época essa caracterizada por uma intensa emissão de folhas, as quais sintetizam uma grande quantidade de cumarina. As técnicas de cultivo podem auxiliar na definição da época ideal de colheita, buscando aumentar a produção de biomassa por área sem afetar negativamente o potencial terapêutico da planta (CASTRO et al., 2004; COSTA et al., 2007).

Radunz et al. (2012) observaram que a época de colheita influenciou significativamente na quantidade de cumarina extraída das folhas de guaco. A idade das folhas na planta pode ter influenciado nesta variação, pois segundo Pereira et al., (2000), ocorre maior teor de cumarina em folhas novas, próximas ao ápice do ramo. A espécie *M. glomerata* tem a síntese de cumarina na região do tecido meristemático, sendo então translocada para outras partes da planta (SOUZA, 2006; RADUNZ et al., 2012; QUIROZ et al., 2014). As coletas consecutivas podem favorecer o desenvolvimento de folhas novas, contribuindo assim para o aumento no teor de cumarina ao longo das consecutivas colheitas. A idade da planta para a colheita é fundamental para o alcance de maior produção de matéria-prima vegetal de qualidade. Nessa perspectiva, o desenvolvimento de estudos que compreendam os efeitos da colheita nas diferentes idades da planta quanto a produção do teor do princípio ativo no cultivo. No caso da *M. laevigata* é importante a aplicação de técnicas culturais que privilegie a espécie e suas exigências biológicas, relacionando a produção de biomassa da planta e o teor de cumarina, de forma a se obter informações sobre o comportamento destas plantas em relação a possíveis alterações resultantes de fatores ambientais.

3.3 Cumarinas

Para Freitas et al. (2004), a biossíntese dos metabólitos secundários em plantas medicinais e aromáticas depende de diversos fatores internos e externos da planta, sendo necessário avaliar as influências e variações nas concentrações destes princípios

ativos. A cumarina é presente na composição química de diversas espécies vegetais inclusive na família Asteraceae, dentre elas 1,2-benzopirona descrita como um dos principais componentes responsáveis por atividades terapêuticas e de uso farmacêutico, e é utilizado como marcador químico da *M. glomerata* Sprengel e *M. laevigata* Shultz Bip. Ex. Baker (BRASIL, 2005). As cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral de uma classe de anticoagulantes com o núcleo básico da 4-hidróxi-cumarina, (figura 2). Radunesz et al., (2012), mencionam estudos recentes de algumas cumarinas de origem vegetal com atividade anti-HIV e cita os calanolídeos A e B, isolados das folhas de uma árvore de floresta tropical, *Calophyllum lanigenum* Miq. var. *austrocoriaceum*, pertencente a família Clusiaceae, na Malásia.

A confusão na identificação entre os exemplares de *Mikantias*, por tratar de espécies próximas, principalmente porque pode apresentar uma variação na forma das folhas, havendo uma ampla diversidade nos aspectos fitométricos, produção de biomassa foliar, e cumarina, (SILVA JÚNIOR, 2015). O erro de identificação baseou-se na confusão da morfologia foliar entre as duas espécies, consequentemente designando a substância majoritária da cumarina para ambas. Assim, concluiu-se que *M. laevigata* era sucedânea da *M. glomerata*. O teor de cumarina de uma planta é muito variável e depende da espécie cultivada e do órgão estudado, sendo que as substâncias produzidas pelas plantas estão relacionadas diretamente com a fotossíntese realizada por cada uma delas. Segundo Czelusniak et al., (2012), em geral, no guaco os maiores teores deste metabólito são observados em folhas jovens ($5,20 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca), seguidos por flores ($1,04 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca), caules ($1,05 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca) e raízes ($0,11 \text{ mg g}^{-1}$ de matéria seca). As maiores concentrações de cumarina foram observadas perto da gema apical, nas folhas, indicando os tecidos meristemáticos como locais de síntese. Santos e Martins (2007), destacam a localização geográfica, fatores edáficos, disponibilidade de nutrientes na área de cultivo, poluição ambiental, altitude, estágio de desenvolvimento, estação do ano, calor e umidade como condições que afetam o teor desses constituintes, fazendo com que, muitas vezes, uma determinada substância ou classe de substâncias se acumule em maior ou menor quantidade. Registraram-se valores altos também em partes superiores da planta, o que indica a relação com o crescimento e processo de desenvolvimento da planta (CASTRO et al., 2006). A origem de todos os metabólitos secundários dos vegetais deriva do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (PEREIRA e CARDOSO, 2012).

PAL: fenilalanina amonialiase
C2'H : cinamato 2'-hidroxilase

Após a colheita se inicia um processo de degradação enzimática provocado pelo excesso de umidade presente, o que pode levar à perda dos princípios ativos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos (REIS et al., 2007). As enzimas são moléculas que pertencem à classe de substâncias denominadas “catalíticas”, ou seja,

Figura 2. Rota biossintética da cumarina em vegetais superiores (ALMEIDA, 2015). influenciam a velocidade de uma reação química dentro do órgão vegetal, podendo promover alterações químicas na planta (HERTWIG, 1986). Algumas enzimas tornam-se inativas em temperatura de secagem a partir de 50 °C, outras somente aos 60 °C, porém nas plantas aromáticas este processo é diferente, pois temperaturas acima de 40 °C podem iniciar um processo de perda alguns componentes químicos sensíveis a alta temperaturas. As folhas em geral, na sua constituição, apresentam cutícula lisa com grupos de células lignificadas e tricomas tectores que revestem a epiderme, desempenhando uma ação de proteção mecânica e evitando transpirações excessivas, dificultando assim a saída da água no processo de secagem.

O ideal é minimizar o tempo entre os processos de colheita e secagem. É fundamental para manutenção e integridade máxima dos princípios ativos, pois a cada minuto que passa, ocorre perda de qualidade, pois as enzimas estarão em atividade alterando as moléculas dos princípios ativos e aromáticos (FARIAS, 2004). O

conhecimento sobre a dinâmica do cultivo de plantas medicinais deve ser tratado com bastante atenção pois não pode ser considerado apenas como um conhecimento de povos ou tradição. Diversos estudos comprovam a eficiência farmacológicas dessas plantas em geral, no entanto não basta cultivá-las sem que haja um conhecimento prévio sobre os metabólitos secundários da espécie, os efeitos e a biossíntese, além dos fatores que podem influenciar no acúmulo ou redução destes componentes na planta (GOBBO-NETO e LOPES, 2007). É importante que estudos sobre o cultivo da *M. laevigata* englobe os principais pontos referentes a fatores intrínsecos da planta (por exemplo, idade da planta, rendimento de biomassa e o teor de metabólitos secundário) e relaciona-los ao meio de cultivo a ser adaptado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal

Para realização dos experimentos, foram utilizadas espécimes de *Mikania. laevigata*, cedidas pelo Prof. Dr. Pedro Melillo de Magalhães do CPQBA – Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Unicamp (Paulínia, SP). A matriz da espécie foi identificada no CPQBA, e depositada na Universidade de Campinas Herbário no número (UEC) 102046.

4.2 Produção das mudas

As mudas de guaco foram preparadas no mês setembro de 2014, a partir de estacas retiradas da parte mediana dos ramos das plantas matrizes e possuíam 12,0 cm de comprimento e dois nós na parte superior da estaca, com um par de folhas cortadas pela metade na parte superior. As mudas foram cultivadas em tubetes do tipo cilindro-cônico e pequenos, preenchidos com substrato Carolina Soil®, sendo enterrados 1/3 da estaca. Os

tubetes foram devidamente acomodados em bandejas contendo 176 células e dispostos em bancadas em casa de vegetação.

A irrigação foi efetuada automaticamente mediante sistema do tipo nebulizador com o objetivo de manter a umidade do ar entre 50 e 60%. Todas as mudas foram adubadas com fertilizante inorgânico N-P-K (10-10-10) em peletes, a fim de diluir (ANDRIÃO, 2010). As mudas foram mantidas em casa de vegetação coberta com sombrite por 90 dias aproximadamente e transferidas para o campo.

4.3 Caracterização da área experimental

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Lageado da Faculdade de Ciências Agronômica, FCA/UNESP, situada a 22° 51' 55" S e 48° 26' 22" O, a 810 m de altitude. O clima do município de Botucatu-SP é do tipo mesotérmico, *Cwa*, ou seja, subtropical úmido com estiagem no período de inverno e com chuvas de novembro a abril sendo a precipitação média anual do município de 1.433 mm, (CUNHA et al., 2005). A umidade relativa do ar é de 71 %, com temperatura média anual de 19,3°C (CUNHA e MARTINS, 2009). O solo da região é classificado como Nitossolo Vermelho, segundo os critérios do Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2013).

O experimento foi implantado em campo no dia 20 de janeiro de 2015, adotando-se o espaçamento de 1,0m x 2,5 m, (figura 3). As estacas utilizadas na formação das mudas foram provenientes de matrizes cultivadas pelo CQBA – Unicamp, em Paulínia /SP. Foi adotado o sistema de irrigação por gotejamento, com turno de rega de dois dias. Cada canteiro possuía um sistema de irrigação localizado por gotejamento com emissores autocompensantes espaçados em 50 cm de vazões de 3 L h⁻¹/m e mangueiras de 16 mm.

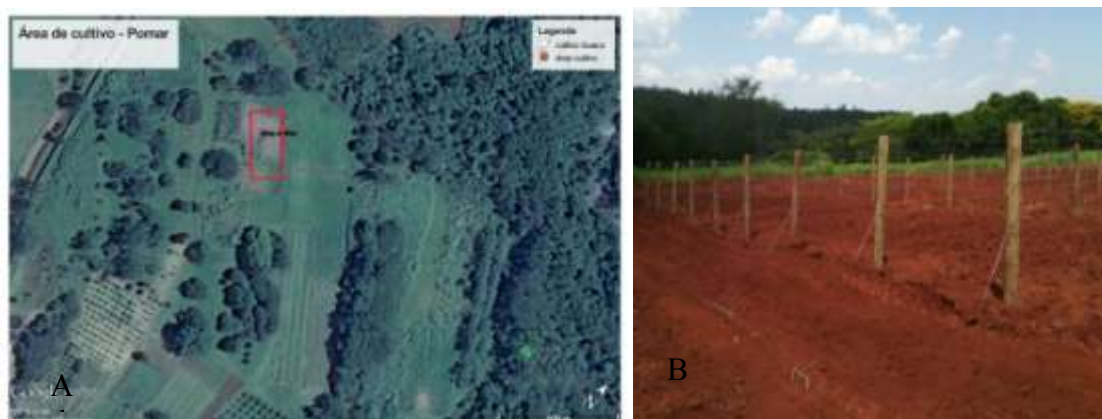


Figura 3. Área de cultivo, pomar, FCA. (A), Google Earth ,outubro, 2014. ;Vista parcial da área experimental, Botucatu-SP. (B), novembro, 2014.

Anteriormente à implantação do experimento foram coletadas amostras do solo, segundo critérios descritos no Boletim 100 (1997). As amostras foram conduzidas ao Laboratório de Fertilidade de Solo do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu - São Paulo (tabela1).

Tabela 1. Resultado da análise química inicial do solo da área experimental, na profundidade de 0-20 cm, Botucatu-SP, 2014.

Amostra (cm)	pH	M.O.	P _{resina}	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
		CaCl ₂	gdm ⁻³	mg dm ⁻³	-----mmol _c dm ⁻³			-----			mg dm ⁻³
0-20	4,7	40	8	42	4,7	19	9	32	75	43	--

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo. DCS-FCA.

Tabela 2. Resultado da análise química do solo (micronutrientes) da área experimental, na profundidade de 0-20 cm, Botucatu-SP, 2015.

Amostra (cm)	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- mg dm ⁻³ -----				
0-20	0,20	7,3	52	12,1	1,3

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo. DCS-FCA.

Os dados meteorológicos referentes ao período de condução do experimento (2015) foram fornecidos pelo Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP – Botucatu, sendo que as temperaturas máximas, mínimas e médias e volume pluviométrico, figura 4.

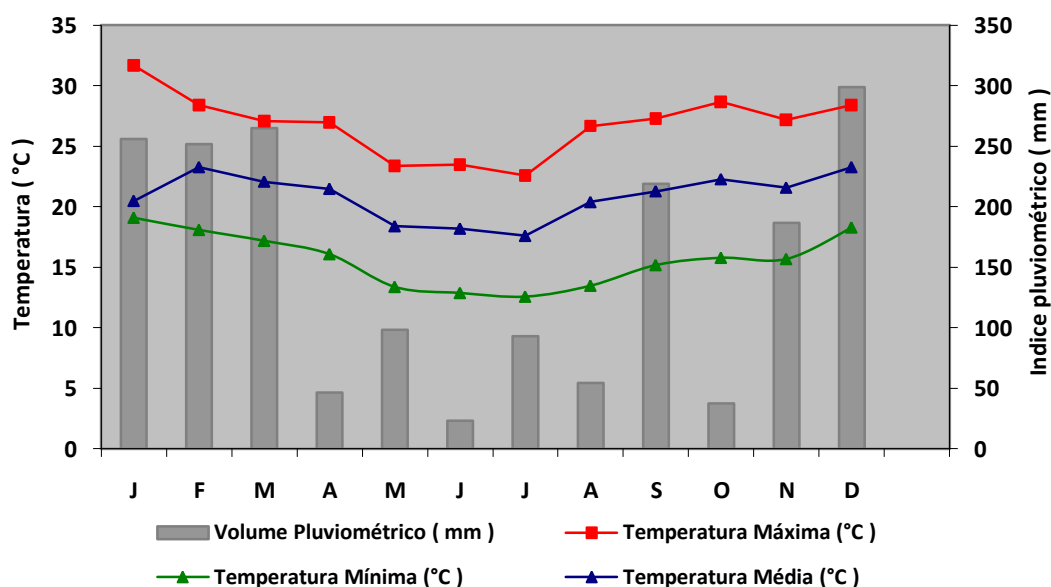


Figura 4. Valores médios de temperaturas máximas, médias e mínimas e volume pluviométrico do período de Janeiro a dezembro de 2015, referente ao município de Botucatu, SP, 2015.

4.4 Adubação de plantio

A correção do solo foi realizada com a aplicação de calcário agrícola de modo a elevar a saturação por bases. A calagem de plantio foi realizada com base na análise de solo e de acordo com as recomendações de calagem para o Estado de São Paulo, (RAIJ et al., 1996). A adubação de cobertura foi dividida em dois momentos do desenvolvimento vegetativo das plantas, 20 dias antes do transplântio e quatro meses após o transplântio das mudas, seguindo recomendação de adubação orgânica para a necessidade da cultura, (tabela 3) (CORRÊA JÚNIOR et al., 2008).

Tabela 3. Teor de matéria orgânica do solo para recomendação de adubação.

Tipo de adubos	Quantidade a ser aplicada em função do teor de matéria orgânica (t/ha)		
	Baixo	Médio	Alto
Húmus e aves poedeiras	30	20	15
Composto, esterco bovino, equino, cama de aviário e outros.	50	40	30

Fonte: Corrêa Júnior et al., (2008).

Foi realizada a análise do material orgânico utilizado na adubação de plantio (tabela 4), realizada 15 dias antes ao plantio, sendo a amostra levada ao laboratório de fertilidade de solo do Departamento de Solo e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciência Agrônômicas de Botucatu (FCA/UNESP).

Tabela 4. Resultado de análise de material orgânico. Composto Provaso® UNESP/FCA, 2015.

	N	P2O5	K2O	Ca	Mg	S	U-65°C	MO	C
	*porcentagem ao natural								
Amostra	0,7	0,7	0,2	2,1	0,2	0,2	30	19	11
Provaso®	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn		C/N	Ph
	* mg/kg ao natural							ao natural	
	854	75	62	7525	368	274		16/1	6,7

*teores totais

Fonte: laboratório de fertilidade de solo do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP, 2015.

Com base na análise química do solo, foi realizada no dia 10 de janeiro de 2015 a adubação de plantio, incorporando ao solo 40 t ha⁻¹ do composto orgânico Provaso®. Posteriormente as plantas foram adubadas com torta de mamona 1 kg/por planta, e como cobertura de solo foi utilizado palha de arroz na proporção de 2 kg/ por planta.

4.5 Instalação e delineamento experimental

O transplântio ocorreu no dia 20 de janeiro de 2015 o cultivo do guaco foi conduzido em espaldeira de três fios de arame liso. A planta cresce se enrolando no sentido horário de quem a vê de baixo para cima (CORRÊA JÚNIOR et al., 2011). Os arames foram presos a mourões de eucalipto tratado, bem fixados na terra, distanciados por 7,0 m cada, com três fios de arame e esticadores. Para guiar o desenvolvimento das mudas foram utilizados bambus no sentido transversal aos arames das espaldeiras. O espaçamento entre as foi de 1,0 m entre as plantas e 2,5 m entre as linhas. A densidade de plantas foi de 4000 planta por hectare.

O delineamento experimental baseou-se em seis plantas úteis por parcela, com oito repetições e composto por três tratamentos (3 x 8), figura 6. Os tratamentos foram em idades de colheita das plantas (aos sete, nove, e onze meses após o transplântio).

Visando obter homogeneidade das parcelas dentro dos blocos devido ao desnivelamento da área experimental, adotou-se o delineamento em blocos casualizados (DBC), totalizando 24 parcelas. A área total é de 625 m². Ao longo de toda a borda do experimento foi implantada uma linha de plantas (bordadura), as quais não foram consideradas para coleta de dados.

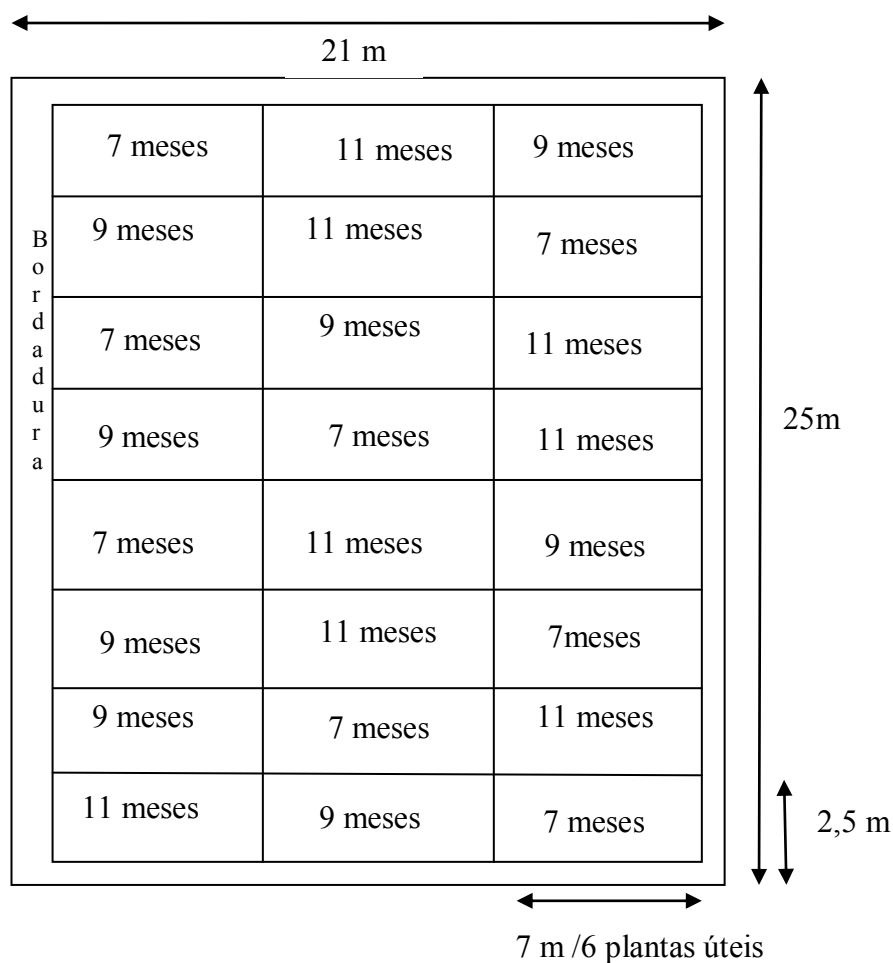


Figura 5. Disposição e delineamento do experimento. Botucatu, 2015.

4.6 Controle de insetos, doenças e plantas invasoras

Durante a condução das plantas foram realizadas vistorias de modo a identificar a ocorrência de fitoparasitas. Não houve a necessidade de controle de nenhuma das espécie de fitoparasitas observadas.

A ocorrência de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) foi irregular, somente em algumas plantas suscetíveis, não afetando todas as plantas de uma mesma linha. Para o controle de plantas invasoras foram realizadas roçagens nas entrelinhas e capinas nas linhas de cultivo. Vale salientar que foi feita a capina manual próxima à região do colo das plantas.

4.7 Secagem das folhas e determinação do teor de cumarina

A análise do teor de cumarina foi realizada no Departamento de Biologia vegetal, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), sob orientação da Professora Dra. Alexandra Christine Helena Frankland Sawaya. As folhas colhidas e selecionadas foram submetidas à secagem em estufa ventilada a 40 °C por dois dias e armazenadas em freezer até o momento das análises químicas. Após a secagem, o material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido. Para quantificar o teor de cumarina foi preparado o extrato fluido das folhas seguindo a metodologia recomendada pela [Farmacopéia Brasileira](#) (2010), em álcool/água (2:1). Visando uma maior credibilidade dos resultados fitoquímicos, o teor de cumarina foi analisado em um único período com a mesma curva padrão para todos os tratamentos. As amostras foram feitas em triplicatas.

Foi utilizado o Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência–UPLC® (Acquity da Waters) com uma coluna C18 (BEH Acquity Waters, 1,7µm x 2,1mm x 50mm) com temperatura do forno em 30°C. A eluição foi feita por gradiente com fluxo de 200 µL/min, utilizando como fase móvel A água purificada (Milli-Q) com 0,1% de ácido fórmico e como fase móvel B acetonitrila (grau cromatográfico), de acordo com o sistema de gradiente mostrado na Tabela 4. Sendo injetado 2 µL de cada amostra armazenada no auto injetor do equipamento a 20 °C.

Tabela 5. Gradiente para análise cromatográfica.

Tempo (min)	% eluente A (água purificada com 0,1 % de ácido fórmico)	% eluente B (acetonitrila)
Início	90	10
4,00	75	25
8,00	0	100
8,50	0	100
8,51	90	10
10,00	90	10

A detecção foi feita por um espectrômetro de massas triplo-quadrupolar (TQD Acquity da Waters) com fonte de ionização por eletrospray (ESI), realizando varredura em modo positivo e modo negativo nas seguintes condições: capilar de ± 3000 V, cone de ± 35 V, extrator de 1,0 V, temperatura da fonte de 150 °C e temperatura de dessolvatação de 300 °C. Alíquotas dos extratos hidroalcoólicos são diluídas na proporção extrato: água 1:2 (v/v).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliações da biomassa produzida

Nas condições experimentais houve diferença significativa entre as diferentes idades das plantas avaliadas. A produtividade das folhas de *M. laevigata* em diferentes idades da planta, aos sete, nove e onze meses resultou em 0,98; 2,47; 7,46 t ha⁻¹ respectivamente de matéria fresca total (tabela 6).

A produtividade aos onze meses se destacou por apresentar um período maior de cultivo, relacionada com a disponibilidade de radiação solar (CASTRO et al, 2006). Os processos fisiológicos estabelecem a capacidade para a captura da energia solar e a síntese de produtos necessários para sustentar o desenvolvimento da estrutura das plantas, maior ou menor capacidade de captura da radiação está prioritariamente relacionada à área foliar e a capacidade fotossintética.

A temperatura média do ar e a radiação solar interceptada pela planta são duas variáveis meteorológicas de entrada que têm sido empregadas em modelos para estimar o desenvolvimento e o crescimento (MARCELIS et al.,1998). A idade da planta no campo permite um período de assimilação maior ou menor pela planta.

Tabela 6. Efeito da idade de colheita sobre a produtividade de *M. laevigata*. Matéria fresca das folhas: (MFF/ 6 plantas/ kg); Matéria fresca do caule: (MFC/ 6 plantas/ kg); Matéria fresca total: (MFT/ 6 plantas/ kg); Produtividade de matéria fresca total: (PFT/ 6 plantas/ t ha⁻¹); Produtividade de matéria fresca das folhas: (PFF/ 6 plantas/ t ha⁻¹); Produtividade de matéria fresca do caule: (PFC/ 6 plantas/ t ha⁻¹); Matéria seca das folhas: (MSF/ 6 plantas/ kg); Produtividade de matéria seca das folhas: (PSF/ 6 plantas/ t ha⁻¹), Botucatu, 2015.

Colheita do guaco						
Variáveis	MFT (kg)	MFF (kg)	MSF (kg)	PFT (T ha ⁻¹)	PFF (T ha ⁻¹)	PSF (T ha ⁻¹)
7 meses	1,47 C	0,86 C	0,15 B	0,98 C	0,57 C	0,10 B
9 meses	3,71 B	2,23 B	0,34 B	2,47 B	1,48 B	0,22 B
11 meses	11,19 A	5,98 A	1,45 A	7,46 A	3,99 A	0,96 A
Coefficiente de variação (%)	10,88	17,18	30,00	10,89	17,15	29,97
DMS	1,71	1,49	0,55	1,14	0,99	0,37

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não se diferem entre si pelo Teste Tukey $p < 0,05$.

A produtividade total de matéria seca das folhas de *M. laevigata* foi de 0,10; 0,22 e 0,96 t ha⁻¹ aos 7, 9 e 11 meses, respectivamente. Matsushita et al. (2015) em seu recente trabalho onde estudou a produção e comercialização na região sul do Paraná com produtores familiares no cultivo do *M. laevigata*, identificou a produção no sistema cultivado de 500 g/planta de folha seca no 1º ano, alcançando uma produtividade de 1650 kg /ha no primeiro ano de cultivo. Os resultados obtidos neste trabalho foram inferiores ao encontrado na literatura, fatores como pouca idade da planta, espaçamento, adubação e clima podem ter contribuído por não ter alcançado a produtividade referenciada. Em estudo realizado por Pereira et al., (2000) para espécie *M. glomerata*, no inverno verificou-se maior rendimento de cumarina em guaco. O maior teor registrado ocorreu no mês de julho e o menor em abril, com incremento quase linear entre esses períodos. Os autores afirmam que o maior rendimento de cumarina no mês de julho se daria pelo fato de neste período, na região Ribeirão Preto-SP, a temperatura ter sido baixa e de não ter tido

ocorrência de chuvas. Condições semelhantes a estas foram encontradas na região de Viçosa-MG, onde foram feitos experimentos de cultivo e colheita do guaco por Gobbo-Neto e Lopes (2007), que relatam condições de produção e idade da planta na colheita como fatores que influenciaram a distribuição de metabólitos secundários no guaco. No mesmo período na região de Botucatu/2015 a temperatura média do inverno de 20°C foi considerada acima do estimado quando comparado aos outros anos que a média chegou a 18°C em 2013/2014.

A produtividade da matéria vegetal fresca total aos 11 meses de idade da *M. laevigata* chegou a 7,46 t/ha. Conforme aumenta a idade das plantas, observa-se um maior acúmulo de biomassa, quando cultivado em regiões e condições favoráveis para otimização do seu desempenho. Resultados obtidos por Santos et al., (2012), registraram a produção de 20,568t/ha de matéria fresca total (folhas e caule) aos 15 e 17 meses de idade. Em contrapartida, estudos realizados por Lima et al. (2003) e Montanari Jr. (1999), ao avaliarem a produtividade em função da idade das plantas no momento da colheita, obtiveram a produção de 12,5 t/ha de matéria fresca aos 16 meses de cultivo.

O fotoperíodo, a temperatura, as correções do solo, aliados à irrigação em períodos de baixa disponibilidade hídrica podem contribuir de forma positiva para acúmulo da produção de biomassa total, sendo observada em características associadas ao crescimento e número de ramos, como por exemplo.

De fato a plasticidade adaptativa das espécies vegetais à radiação solar, temperatura, solo e disponibilidade de nutrientes contribuem para variação de produção de biomassa podendo verificar alterações dessa produtividade em diferentes idades de assimilação da planta.

5.2 Avaliação do teor de cumarina

O perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico de guaco foi semelhante para todas as amostras analisadas identificando a cumarina no tempo de retenção (t_r) próximo a 5.2 minutos (Figura 6). A ausência de picos interferentes demonstrou a eficácia do método sendo a segurança dos resultados garantida através da linearidade da curva de calibração, ($r = 0,99$). A umbeliferona e o ácido p-cumárico

estavam abaixo do limite de quantificação de 1 ug/ml em solução. Através da área dos pico (figura 7) e a curva de calibração da cumarina (figura 8), umbeliferona (figura 9), ácido p-cumárico (figura 10), ácido o-cumárico (figura 11) e do ácido grandiflórico (figura 12), foi possível calcular a concentração de cumarina nos tratamento de 7 , 9 e 11 meses de idade da *M.laevigata*.

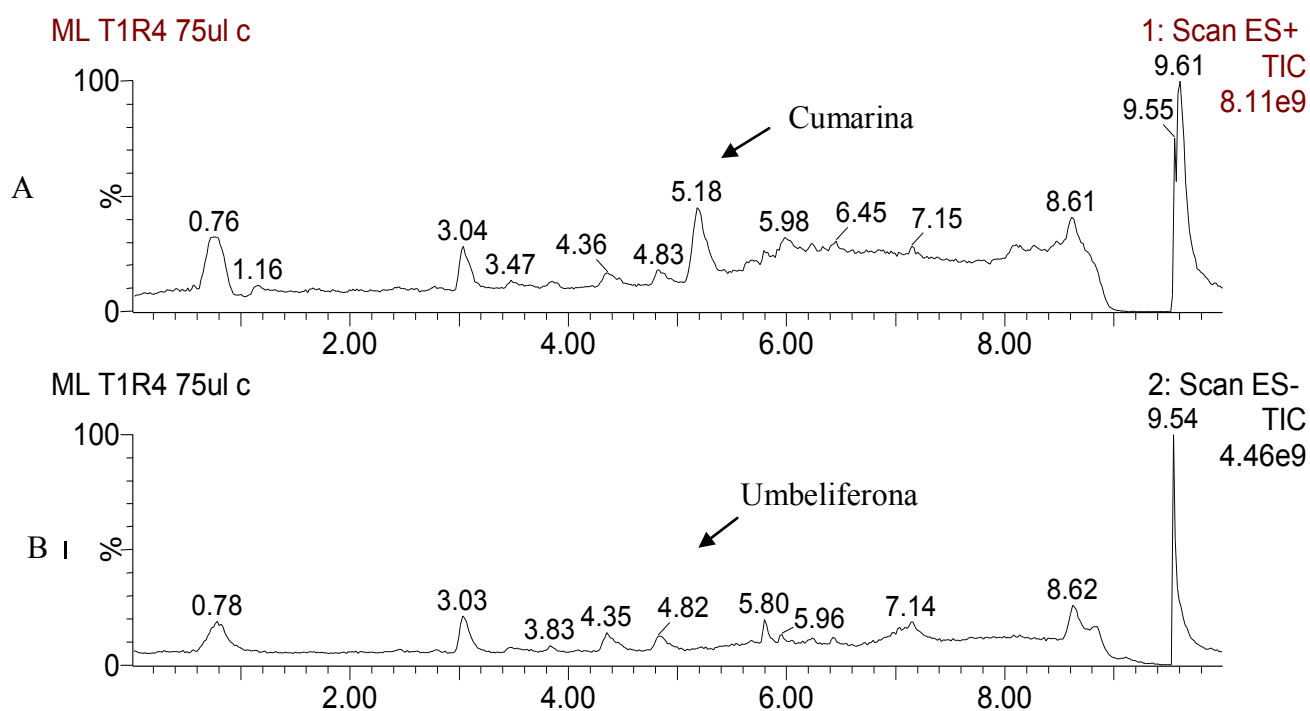


Figura 6. Cromatograma da amostra aos sete meses idade da *Mikania laevigata*, modo positivo (A) e modo negativo (B). Tempo de retenção dos principais análitos observados. UNICAMP, Campinas, SP, 2016.

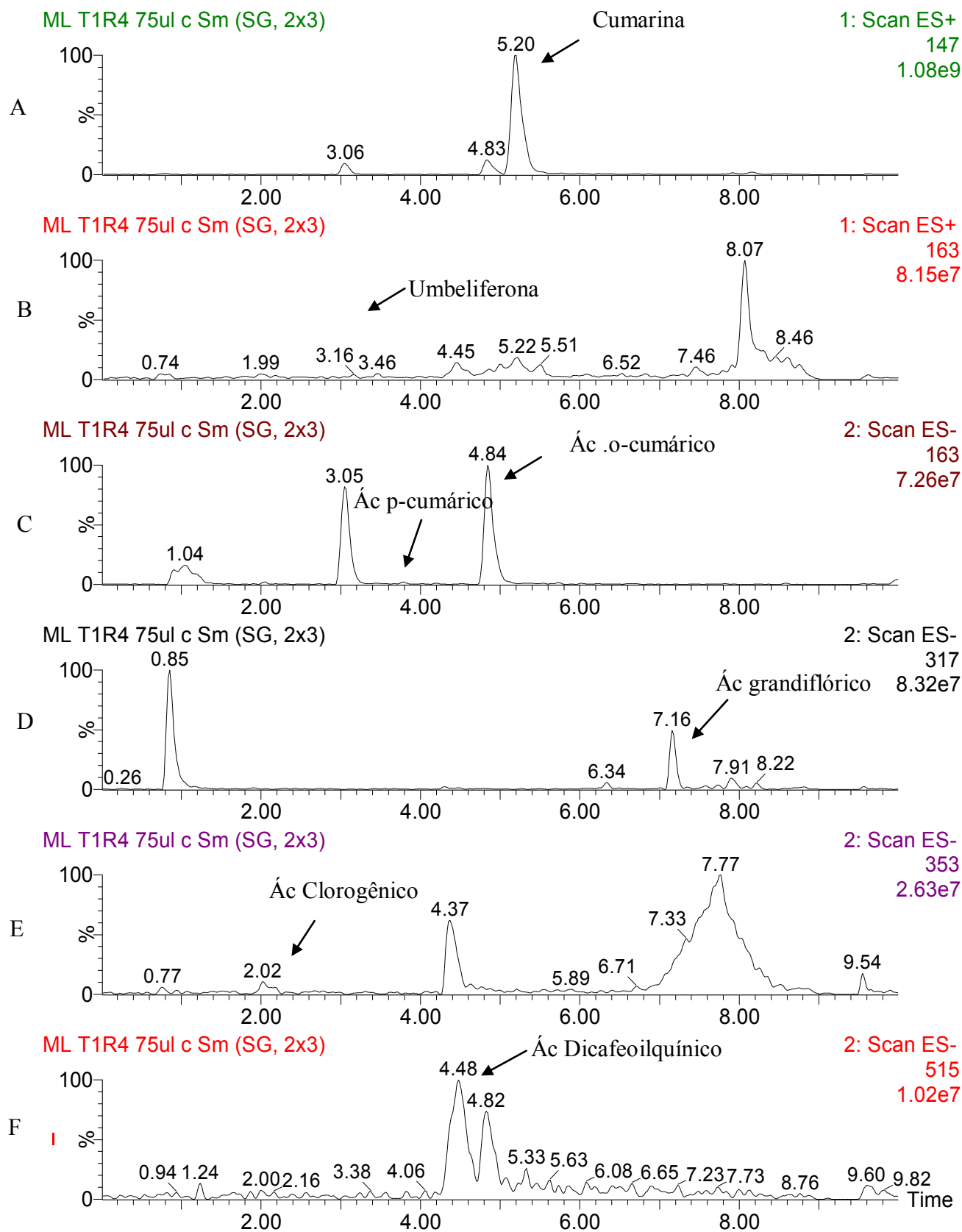


Figura 7. Cromatográfico selecionado da *M. laevigata* aos sete meses de idade, contendo a representação de área dos principais analitos observados, (A) Cumarina, (B) Umbeliferona,

(C) Ácido p-cumarico; Ácido o-cumárico, (D) Ácido grandiflórico, (E) Ácido clorogênico, (F) Ácido dicafeoilquímico. UNICAMP, Campinas, SP, 2016.

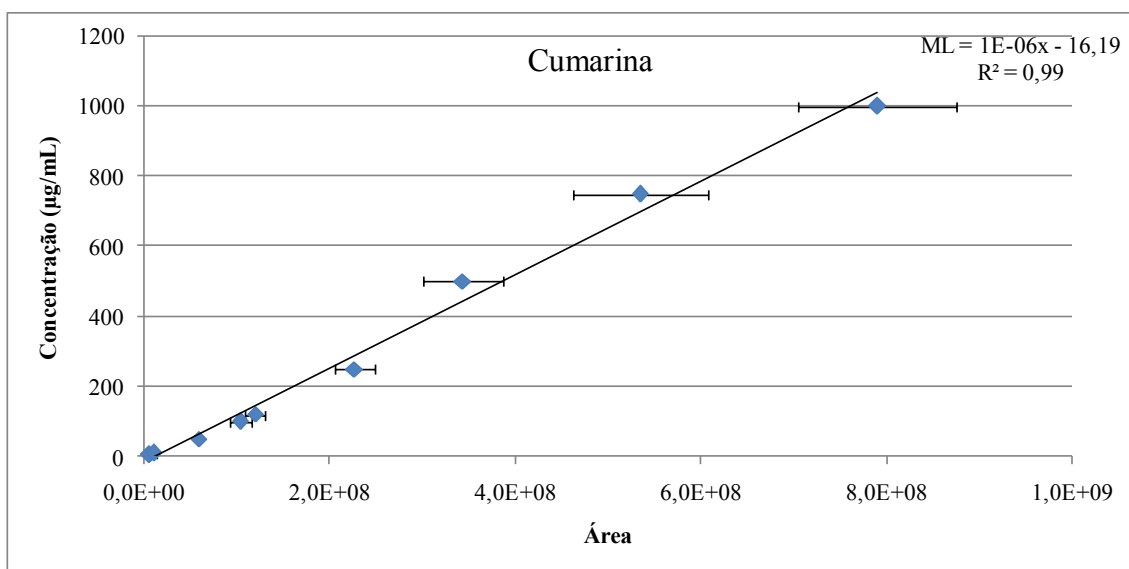


Figura 8. Curva de calibração para Cumarina. Extrato de *M. laevigata*. Unicamp. Campinas. 2016.

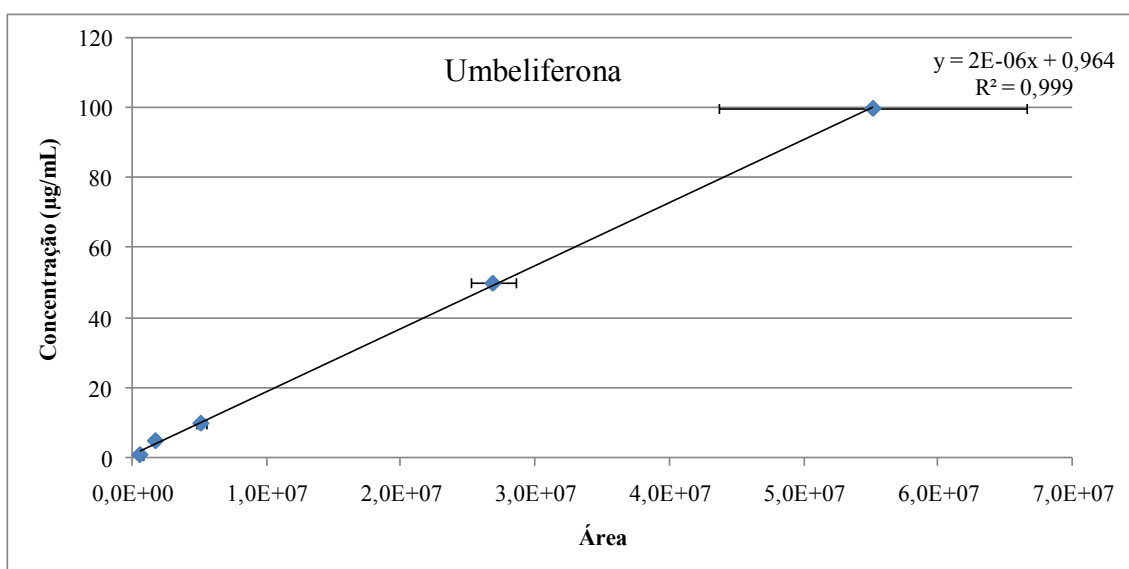


Figura 9. Curva de calibração para umbeliferona. Extrato de *M. laevigata*. Unicamp. Campinas. 2016.

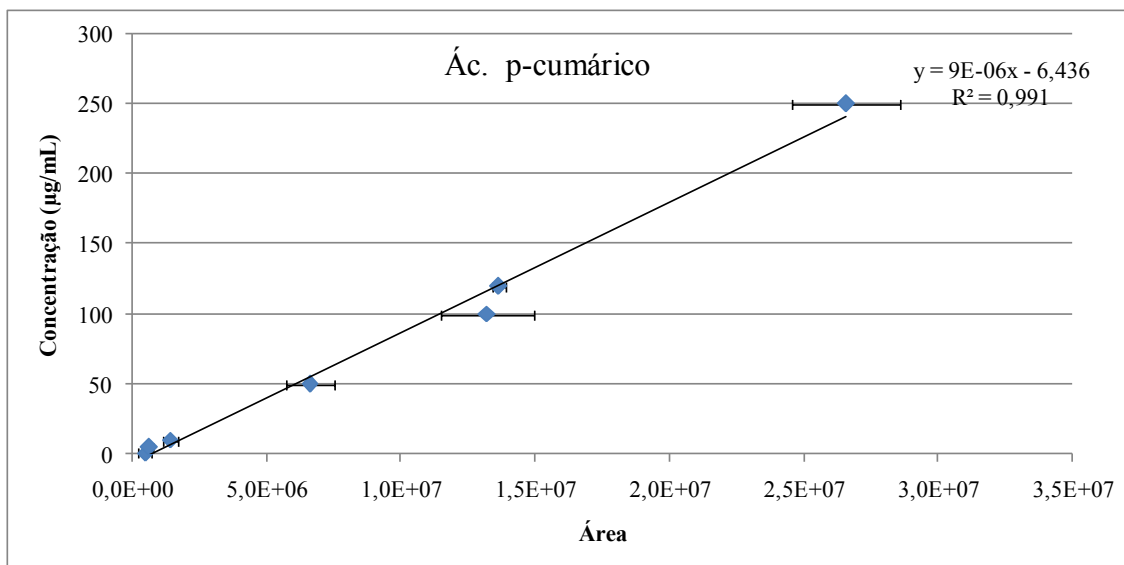


Figura 10. Curva de calibração para ácido p- cumárico. Extrato de *M. laevigata*. Unicamp. Campinas. 2016.

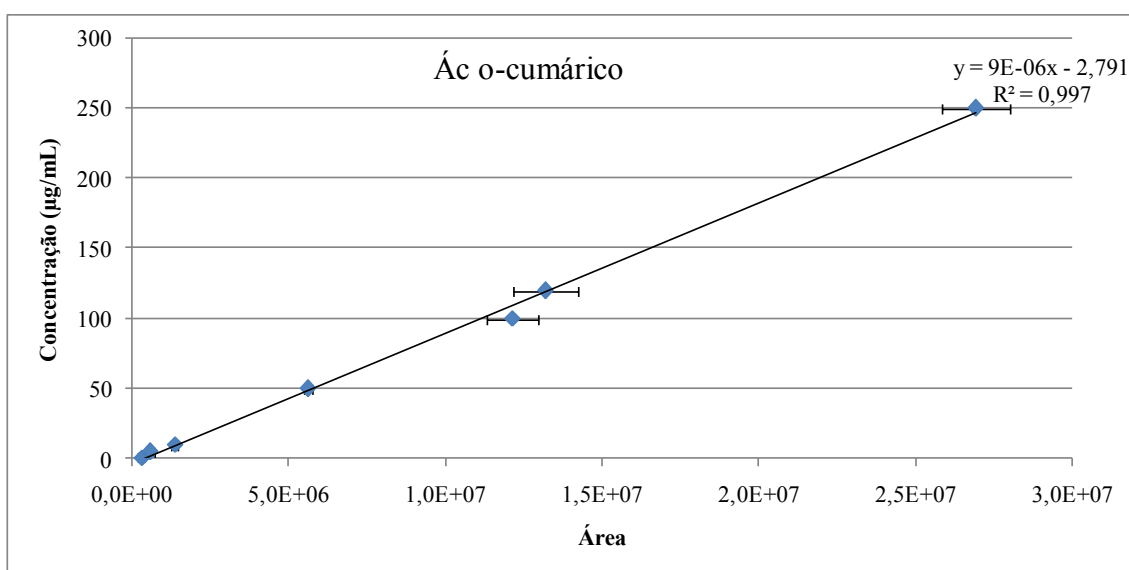


Figura 11. Curva de calibração para ácido o-cumárico. Extrato de *M. laevigata*. Unicamp. Campinas. 2016.

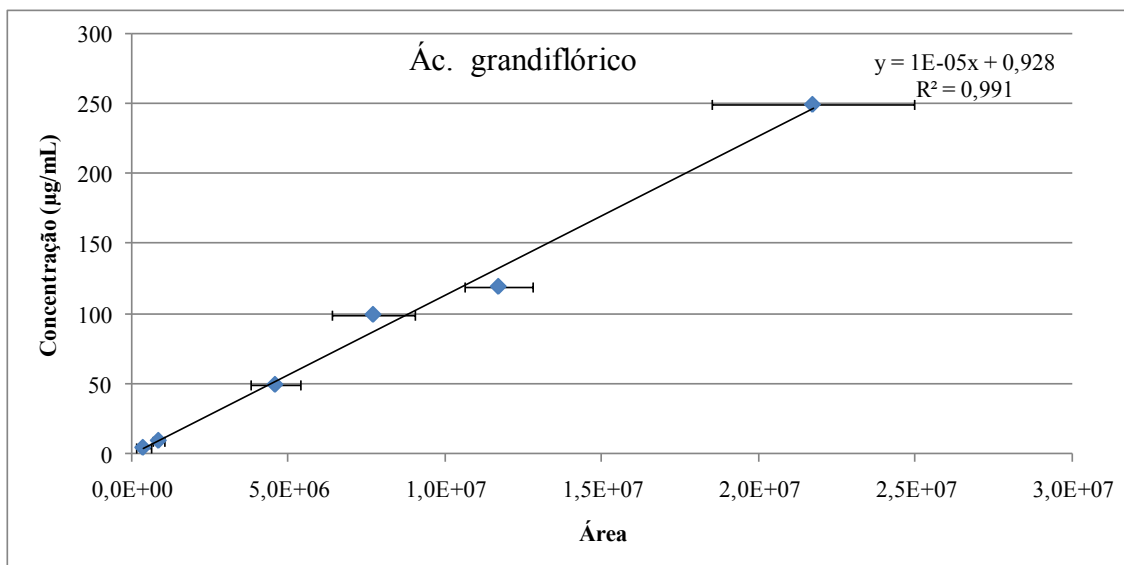


Figura 12. Curva de calibração para ácido grandiflórico. Extrato de *M. laevigata*. Unicamp. Campinas. 2016.

Tabela 7. O teor de cumarina contido em 1,0 g de folhas secas de *M. laevigata* em diferentes idades da planta. Botucatu, 2015.

Compostos	Teor de Cumarina				
	Cumarina (mg/g)	Ác. o-cumárico (mg/g)	Ác. grandiflórico (mg/g)	Ác. clorogênico (mg/g)	Ác. dicafeoilquínico (mg/g)
7 meses	40,49 a	18,66 a	9,25 a	6,35 a	18,39 a
9 meses	31,02 a	18,17 a	5,66 b	4,59 a	13,59 a
11 meses	30,88 a	18,37 a	5,04 b	5,11 a	15,44 a
Coefficiente de variação (%)	21,91	26,36	30,24	28,26	39,52
DMS	9,79	6,35	2,63	1,98	8,18

Médias seguidas pela mesma letra na linha não se diferem entre si pelo Teste Tukey $p < 0,05$.

Houve apenas diferença significativa do ácido grandiflórico nas folhas secas aos sete meses de idade 9,25 mg/g, do qual foi superior aos demais, que não diferiram entre si, pelo teste tukey a 5% de probabilidade. No extrato do guaco encontra-se ácido grandiflórico associado com outros compostos, estudos descrevem como responsável pela atividade antibiótica e antimicrobiana (SANTOS, 2005; SOARES et al., 2006).

O estudo de fatores que influenciam variações na produção de metabólitos secundários de interesse é uma preocupação constante em trabalhos realizados com plantas medicinais, pois o conhecimento gerado pode maximizar a produção dos princípios ativos, melhorando a qualidade das drogas, sem, no entanto, acarretar em custos adicionais ao processo produtivo.

A idade das folhas de guaco de fato pode influenciar no teor de cumarina, pois, segundo Pereira et al. (2000), foi observado o maior teor de cumarina em folhas novas, próximo ao ápice do ramo. Há possibilidades de que, em determinados períodos do ano e em diferentes regiões, ocorra maior acúmulo de princípios ativos, o que pode ser devido a fatores genéticos e fisiológicos, variando o teor de cumarina ao longo do crescimento da planta. Provavelmente a espécie *M. laevigata* tem mais habilidade em produzir cumarina no ápice e, então, translocar a outras partes da planta (Castro et al., 2006). A biossíntese da cumarina está diretamente ligada ao metabolismo da glicose via dois intermediários principais: o ácido chímico é precursor de taninos, ou seja compostos que tem em comum a presença de um anel aromático na sua constituição. (DEWICK 2002; LEITE, 2008). A partir desse conceito pode-se afirmar que a influência no metabolismo primário na biossíntese da cumarina as quais estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação de cultivo a seu meio. Segundo Bolina et al., (2009) espécie não domesticadas pode se comportar em diferentes maneiras conforme o ambiente onde está sendo cultivada ou seja respondendo nas diversas características morfologia, teor de principio e biomassa vegetal produzida.

No atual trabalho mesmo não havendo diferença estatística no teor de cumarina nas diferentes idades do guaco avaliada, é possível observar os resultados numericamente próximos, o qual corroboraria com trabalhos que demonstram o teor de cumarina elevado para folhas jovem de guaco (PEREIRA et al., 2000; CASTRO, 2002; CASTRO et al., 2006). Ainda assim, considerando as influências genéticas, fisiológicas e fatores ambientais na produção dos metabólitos secundários, é importante realizar estudos para avaliar o teor dos extratos, apresentando possíveis diferenças de composição química com o intuito de aumenta potencial produtivo da biomassa e do composto de uso terapêutico dos mesmos, além de estudos de otimização de condições de cultivo em diferentes regiões.

5.3 Teor de Cumarina X Biomassa

A partir dos resultados obtido da biomassa e o teor de cumarina, é possível afirmar que aos 11 meses de idade a planta de guaco obteve maior produtividade em relação ao teor de cumarina x biomassa produzida, (tabela 8).

Tabela 8. Teor de cumarina x biomassa produzida nas diferentes idade do guaco.

Idade da <i>M.laevigata</i>	Cumarina x Biomassa (kg/ parcela)
7 meses	0,0061* c
9 meses	0,0105* b
11 meses	0,0446* a
Coefficiente de variação (%)	25,95

* Valores obtidos da média da matéria seca das folhas e o teor de cumarina

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não se diferem entre si pelo Teste Tukey $p < 0,05$.

Atualmente a indústria tem bastante interesse pelas folhas secas do guaco (Matsushita et al., 2015), sendo o principal produto de comercialização para extração da cumarina. Este trabalho corrobora para estudos que afirmam a produção de biomassa aos 11 meses de idade do guaco a partir do transplântio, bem como ressaltar a otimização do teor de guaco. Os resultados demonstram que as colheitas do guaco aos 11 meses de idade favorecem maior rendimento de biomassa e teor de cumarina quando comparado as idades de 7 e 9 meses de idade da planta.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em geral, com base nos resultados encontrados pode-se afirmar que os materiais estudados apresentam bom desenvolvimento nas condições de cultivo de Botucatu –SP.

O Município de Botucatu já registrou anteriormente um número maior de produtores de plantas medicinais, inclusive de *M. glomerata*, porém os agricultores encontraram dificuldades no seu cultivo, principalmente em decorrência de doenças e pragas, sendo estes os principais entraves para exploração econômica desta espécie medicinal na região.

Atualmente *M. laevigata* vem sendo explorada por poucos produtores no município. O uso da espécie adequada para exploração econômica nas diferentes regiões produtoras pode ser utilizada como uma ferramenta de grande importância para alavancar a uma maior produção por área e conseqüentemente elevar os números referentes ao cultivo no Estado.

Com isso, o cultivo de *M. laevigata*, na região de Botucatu torna-se uma opção promissora para os agricultores, a partir dos resultados observados é possível determinar o cultivo da espécie na região, tendo em visto o acúmulo de biomassa progressivo o decorrer da idade da planta no campo e a baixa incidência de doenças e pragas durante o cultivo, favorecendo a produção do teor de cumarina sendo o seu principal componente majoritário.

7 CONCLUSÕES

Aos onze meses de idade após o transplante obteve-se um maior rendimento da biomassa quando comparada aos sete e nove meses de idade da planta, sendo aconselhável fazer uma colheita mais tardia, para obtenção de maior produtividade.

O maior rendimento do teor de cumarina foi obtido aos 11 meses de idade, a colheita tardia possibilitou o melhor resultado para o rendimento extrativo de cumarina em folhas secas.

Recomenda-se a realização de outros estudos para verificar se a melhor idade para a colheita de guaco seria em fases mais jovens, uma vez que o teor de cumarina foi, numericamente, maior do que as fases mais avançadas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C.L. **Metabolitos secundários de duas espécies de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz) cultivadas sob condições variadas**. 2015, 86f. Dissertação. (Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2015.

AMARAL, RR, ARCENIO, NETO. F.; CARVALHO, E. S; TEIXEIRA, L. A; De ARAÚJO, G. L; SHARAPIN, N; TESTA B; GNERRE, C; ROCHA, L;. Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira Farmacognosia**, 2003, 13: 24-27.

ANDRIÃO, M.A. **Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de Fenólicos totais em [*Baccharis trimera* (less.) Dc.] var. CPQBA-1, sob diferentes podas no plantio**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu, 2010, 78 p.

BRASIL 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Resolução - RE nº 89, de 16 de março de 2004**. Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos. Brasília.

BRASIL 2006 a. Ministério da Saúde. **Portaria no. 971, de 03 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. DOU. Poder Executivo, Brasília, DF, 04 mai. 2006.

BRASIL 2006 b. Presidência da República. **Decreto no. 5813**

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry e Molecular Biology of plants**. Rockville:American Society of Plant Physiologists. 2000.

- BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; KOSCIUV, I.; MORAIS, T. B.; FERRARI, L. Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Sch. Bip. ex Baker* (guaco), visando o controle de qualidade da matéria-prima. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n. 2, 2009, p. 545-552,
- CABRAL, L. M; SANTOS, T.C; ALHAIQUE, F; **Development of a profitable procedure for the extration of 2-H-benzopyran-2-one (coumarin) from *Mikania glomerata***. *Drug Dev Ind Pharm.* 2001. 27: 103-106.
- CABRERA, A.L.; KLEIN, R. M. Compostas (Eupatoriae). In: REITZ, R. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1989, p.649-750.
- CANTWELL, M.I.; REID, M.S. **Postharvest physiology and handling of fresh culinary herbs**. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, Amherst, v.1, n.3, 1994.
- CARVALHO L. M; CASALI ,V.W. D; LISBOA S. P; BARBOSA LCA; CECON, P. R. 2006. **Crescimento e metabolismo em artemísia em função do nível de irradiância**. *Horticultura Brasileira* 24: 289-294. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Aracaju-SE; UFV, Viçosa-MG.
- CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; MALTA, M. R.; CARDOSO, M. G.; SILVA, F. A. M. Coumarin Contents in Young *Mikania glomerata* Plants (Guaco) under Different Radiation Levels and Photoperiod. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 25, n.3, p.387-92, 2006.
- CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; ALVARENGA, A.A.; LIMA, E. C.J.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FILHO, J.L.S.; VIEIRA, C.V. Crescimento e Anatomia foliar de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) submetidas a diferentes fotoperíodos. **Revista Ciência agrotecnologia.**, Lavras. V.27, n.6, p.1293-1300, nov./dez., 2003.
- CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa: UFV, 2004. 113p.
- CONTIN, D. R. 2009. **Alterações anatômicas e fisiológicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel e Schultz Bip. ex Baker, sob diferentes condições luminosas e nutricionais**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. p.142.
- CORRÊA JUNIOR, C. et al. **O guaco (Schultz Bip. ex Baker): aspectos agronômicos e fitoquímicos**. Curitiba: Emater, 2011. 36 p.
- COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P., BERTOLUCCI, S. K. V.; CARDOSO, M. G. (2007) **Corte das inflorescências e épocas de colheita**. *Horticultura Brasileira*, 25p. Monografia.
- COSTA, F. G. **Extratativismo de jaborandi na região de Carajás: histórico, situação atual e perspectivas**. Lavras: UFLA, 2005. 41 p. Monografia.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. **Classificação Climática para os Municípios de Botucatu e São Manuel**. SP. Irriga, v.14, n.1, p.1-11, 2009.

CUNHA, A.P. Aspectos Históricos Sobre Plantas Medicinais, Seus Constituintes Ativos E Fitoterapia. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos_historicos.pdf>, 2005. Acesso em: 29 de outubro de 2015.

CZELUSNIAK, K. E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, G. B. L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata Sprengel* e Schulyz Bip. ex Baker. Universidade Estadual do Centro-Oeste, Campus Cedeteg, Departamento de Farmácia. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.

DAS DÓRES, R. G. R. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d' anta, (*Dimorphandra mollis* Benth.)** Viçosa: UFV, 2007. 345p. (Tese - Doutorado em fitotecnica).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro **Nacional de Pesquisa de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, SPI/CNPS, 1999. 412p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3 edição. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353p.

FARIAS, M. R. **Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais**. In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2004, p. 263-288.

FARMACOPEIA BRASILEIRA: Brasil. volume 2, 5º edição / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2010, 46 p.

FURLAN, M. R.; GARCIA, D. **A produção de plantas medicinais e a fitoterapia: passado, presente e futuro**. Editora RS Press, s/n, São Paulo, 2013.

FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A.; VIEIRA, I. J. C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 887-894, 2004.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Departamento de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, **Química Nova**, Vol. 30, n°2, 2007, 374-381.

KUSTER, R.M.; ROCHA, L.M. 2001. **Cumarina, cromonas e xantonas**. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. ed. Farmacognosia, da planta ao medicamento. 3th Ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, p.461-77.

LEAL, T. C. A. B. *et al.* Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). **Revista Ceres**, v. 48, n. 278, 2001, p. 445-453.

LIMA, N. P.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. **Estaquia semilenhosa e análise de metabólitos secundários de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel e Schultz Bip. Ex Baker)**. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v. 5, n. 2, 2003, p. 47-54.

LIMA, N.P.; BIASI, L.A.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Produção de mudas por estaquia de duas espécies de guaco. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 21, n. 1, 2003, p. 106-109.

MARCELIS, L.F.M.; HEUVELINK, E.; GOUDRIAAN, J. Modelling biomass production and yield of horticultural crops: a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.74, n.1-2, p.83-111, 1998.

MACRAE, W D; TOWER, G.H.N. ***Justicia pectoralis*: a study of the basis for it's use a hallucinogenic snuff ingredient**. J. Ethnopharm. 1984, 12: 93-111.

MATSUSHITA, M.S.; CORRÊA JÚNIOR, C.; SANTOS, A.J.; HOSOKAWA, R.T. Produção e comercialização do guaco (*Schultz Bip. ex Baker*) na região Sul do Estado do Paraná. Instituto Emater, Curitiba, PR, CEP 80.035-270, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.3, 2015. p.351-359.

MONTANARI JÚNIOR I. **Produtividade de três clones de *Pfaffia paniculata* (Mart.) O. Kuntze**. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, Caderno de resumo. Ribeirão Preto: UNAERP, 1999, p. 30-32.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. Campinas: CPQBA-UNICAMP, 2002. 7 p. Disponível em: Acesso em: 01 out. 2015.

NEGRELLE, R. R. B. ; DONI, M. E. Efeito da maturidade dos ramos na formação de mudas de guaco por meio de estaquia. **Horticultura. Brasileira.**, Nov 2001, vol.19, no.3, p.351-355. ISSN 0102-0536.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica e de morfologia vegetal**. 3ª edição. São Paulo: Atheneu, 2009, 228p.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998. 412p.

OSORIO, A. C.; MARTINS, J. L. S. **Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco**. **Revista Brasileira de Ciências**. vol. 40, n. 4, out./dez., 2004. p.643-652.

PEREIRA, A. M. S. **Propagação e co-cultivo de células como fatores predisponentes à produção de cumarina em *Mikania glomerata* Sprengel (guaco)**. 1997. 82 f. Tese (Doutorado em Agricultura) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 1997.

PEREIRA, A. M. S.; CÂMARA, F. L. A.; CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; FRANÇA, S. C. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. **Journal of Herbs, Spices e Medicinal Plants**, v. 7, n. 2, 2000. p. 1-10.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Vol. 3, N. 4: pp. 146-152, November 2012, ISSN: 2179-4804.

QUIROZ, D.; TOWNS, A.; LEGBA, S.I.; SWIER, J.; BRIÉRE, D.; SOSWF, M., V.; ANDEL, T., 2014. Quantifying the domestic market in herbal medicine in Benin, West Africa. **Journal Ethopharmacol.** 151, 1100–1108.

RADÜNZ, L.L. et al. Influência da temperatura do ar secagem no rendimento do óleo essencial de hortelã comum (*Mentha x villosa* Huds). **Engenharia na Agricultura**, v.14, n.4, p.250-7, 2006.

RADÜNZ, L.L. **Secagem de alecrim pimenta, guaco e hortelã-comum sobre diferentes temperaturas e sua influência na quantidade e qualidade dos princípios ativos**. 2004, 90p. Dissertação (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RADÜNZ, L.L.; MELO, E.C.; BARBOSA, L.C.A.; ROCHA, R.P.; BERBERT, P.A. **Rendimento extrativo de cumarina de folhas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) submetidas a diferentes temperaturas de secagem**. Revista Brasileira Plantas Mediciniais. Botucatu, v.14, n.3, p.453-457, 2012.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2ª edição Campinas: Instituto Agronômico e Fundação IAC, 1996. p. 237-239. (Boletim Técnico, 100).

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. **Diversidade e domesticação de plantas medicinais**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.). Farmacognosia da planta ao medicamento: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. Universidade UFRGS, p.45-74, 2007.

RIBEIRO, L.M.P. **Aspectos Etnobotânicos numa área rural – São João da Cristina, MG**, Rio de Janeiro: UFRJ Museu Nacional, Rio de Janeiro, 1996. (Dissertação de Mestrado).

RITTER, M. R, MIOTTO, S.T.S 2005. Taxonomia de *Mikania* Willd. (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Hoehnea** 32: 309-359.

RITTER, M. R.; WAECHTE, J. L. (2004) Biogeografia do gênero *Mikania* (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 18, 643-652.

RITTER, M. R.; BAPTISTA, L. R. M.; MATZENBZCHER, N. I. 1992. Asteraceae. O gênero *Mikania Willd.* seções Globosae e Thyrsigerae. **Boletim do Instituto de Biociências**, Bot. 50: 1-84

RODRIGUES, V. G. S.; **Cultivo, uso e manipulação de plantas medicinais.** Embrapa Rondônia, Porto Velho. Documento 91, ISSN 0103-9865 Março, 2004. 30p.

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R. **Influência de períodos de secagem de folhas de óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo limoneno-carvona).** *Revista Ciência Agronômica*, v.34, p.5-11. 2003.

SANTOS, S.C. **Caracterização cromatográfica de extratos medicinais de guaco: *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker e *M. glomerata* Sprengel e ação de *M. laevigata* na inflamação alérgica pulmonar.** 2005. 93p.n, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -Universidade do Vale do Itajaí.

SANTOS, JC; SILVA, JR; MARTINS, FF; MARTINS, ER; FIGUEIREDO, LS. Produtividade do guaco sob dois sistemas de cultivo. Universidade Federal de Minas Gerais - Campus Regional de Montes Claros - Instituto de Ciências. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, julho 2012.

SILVA, C. R; GOMES, V. S, KULKAMP, I. C, KANIS, L. A. 2008. **Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel.** *Rev Bras Farmacogn* 18: 594-599.

SIMÕES, C. M.O; MENTZ, L.A; SCHENKEL, E.P; IRGANG, B. E; STEHMANN, J. R. 1988. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: UFRGS.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: Pós colheita e óleo essenciais.** Viçosa, MG; UFV, 2000, 135p.

SILVA, C.R., GOMES, V.S., KULKAMP, I.C., KANIS, L.A., 2008. Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira Farmacognosia** 18, 594–599.

SIMÕES, D.E. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** São Paulo: Atheneu, 1999. 540p.

SOUZA FILHO, A. P. S 2006. **Proposta metodológica para análise da ocorrência de sinergismo e efeitos potencializadores entre aleloquímicos.** *Planta Daninha*, 24: 607-610.

SOUZA, J.R.P; MEHL, H.O; RODRIGUES JD; PEDRAS, J.F. 1999. **Sombreamento e o desenvolvimento e produção de rabanete.** *Scientia Agricola*, 56: 1-9.

SUYENAG, E. S; RECHE, E; FARIA, F. M; SCHAPOVAL, E. E, CHAVES, C. G, HENRIQUES, A. T. 2002. **Antiinflammatory investigation of some species of *Mikania*.** *Phytother Res* 16: 519-523.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal.* 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 27, p.1-7, 2006.