



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



DANIEL GARCIA

**RESPOSTAS AGRONÔMICAS E FITOQUÍMICAS DE *Achyrocline satureioides*
(LAM.) DC. CV. CPQBA 2 EM FUNÇÃO DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA E
ESPAÇAMENTOS**

Botucatu

2017

DANIEL GARCIA

**RESPOSTAS AGRONÔMICAS E FITOQUÍMICAS DE *Achyrocline satureioides*
(LAM.) DC. CV. CPQBA 2 EM FUNÇÃO DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA E
ESPAÇAMENTOS**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Horticultura).

Orientador: Prof. Dr. Lin Chau Ming

Botucatu

2017

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

Garcia, Daniel, 1984-
G216r Respostas agronômicas e fitoquímicas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. cv. CPQBA 2 em função de adubação orgânica e espaçamentos / Daniel Garcia. - Botucatu : [s.n.], 2017
139 p. : fots. color., grafs., ils., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2017
Orientador: Lin Chau Ming
Inclui bibliografia

1. Plantas medicinais. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Flavonoides. 4. Ácido fenólico. I. Ming, Lin Chau. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO: RESPOSTAS AGRONÔMICAS E FITOQUÍMICAS DE *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. CV. CPQBA 2 EM FUNÇÃO DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA E ESPAÇAMENTOS

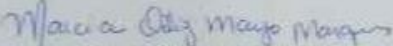
AUTOR: DANIEL GARCIA

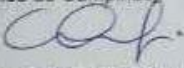
ORIENTADOR: LIN CHAU MING

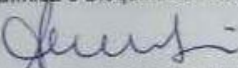
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LIN CHAU MING
Dep de Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu


PROF. DR. MARCOS ROBERTO FURLAN
Depto de Agronomia / Universidade de Taubaté


Dra. MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES
IAC / Instituto Agronômico de Campinas


Profa. Dra. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
Depto de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Dra. SANDRA MARIA PEREIRA DA SILVA
Setor de Fijotecnia do Polo Regional / APTA - Vale do Paraíba

Botucatu, 30 de junho de 2017.

DEDICO E OFEREÇO

**Aos meus queridos pais
Domingos Garcia Filho e
Marcia Cristina Rimoldi Garcia**

AGRADECIMENTOS

À Deus por me guiar pelo caminho certo.

Aos meus queridos pais pelo suporte e amor indubitável e infinito. Aos meus irmãos, parentes e amigos próximos pela confiança e apoio incondicional em especial à minha namorada Maggie e amigos: Raquel, Renan, Julino e Profa. Eliana Rodrigues.

Aos professores da UNESP que me ajudaram nessa caminhada e pelos grandiosos ensinamentos profissionais. Ao Sr. Claudinho, responsável pelo viveiro da Florestal.

Ao meu orientador professor Dr. Lin Chau Ming pelas valiosas orientações, confiança e pelas inúmeras oportunidades que mudaram a minha vida.

Ao meu mestre professor Dr. Marcos Roberto Furlan, a quem eu tenho o maior carinho e consideração. À professora Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques pelo apoio onde quer que eu esteja ao redor do mundo e pelo patrocínio.

À professora Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima a quem sempre me apoiou e ajudou no patrocínio desta pesquisa. Agradeço às professoras chinesas, Profa. Dra. Danfeng Huang e Profa. Dra. Yani Wu pelos patrocínios e confiança durante o intercâmbio na Shanghai Jiao Tong University, China.

Aos professores que participaram da minha banca de defesa: professor Dr. Lin Chau Ming; professor Dr. Marcos Roberto Furlan; Profa. Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques; Profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima; Dra. Sandra Maria Pereira da Silva; e suplentes: Dra. Maria Izabela Ferreira; Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim; e Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento.

À Faculdade Cantareira (SP) por patrocinar em parte este trabalho, ao CNP'q pela bolsa de doutorado.

À UNESP por oferecer estrutura, condições e apoio para o bom andamento da pesquisa. Agradeço a todos os docentes e amigos da UNESP que de uma forma ou de outra contribuíram para que esta pesquisa fosse concretizada em especial à Aline, Mariana, Prof. Ary, Marla e Dayane pelo esforço e dedicação.

Obrigado a todos (as)!

RESUMO

Este trabalho investigou pela primeira vez as respostas agrônômicas e fitoquímicas das inflorescências e dos ramos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. cv. CPQBA 2 (macela) submetida a cinco doses de adubo orgânico (0, 30, 60, 90 e 120 t ha⁻¹) e dois espaçamentos (50 e 100 cm entre plantas e entre linhas). Procedeu-se, 457 dias após o transplântio (DAT), a colheita e análise dos dados de altura, biomassa seca (ramos e inflorescências), seguidas das análises laboratoriais: extração (p/p%) e análise das substâncias químicas do óleo essencial (%) bem como sua atividade antibacteriana; teores de luteolina, 3-O-metilquercetina, quercetina, ácido cafeico, rutina e trans-ferúlico (mg/100g) do extrato hidroalcoólico, além das análises do teor de flavonoides e fenóis totais (mg/100g) durante quatro idades de coleta (150, 240, 320 e 457 DAT). Os dados de altura das plantas demonstram que o tratamento 30 t ha⁻¹ se destacou (110,89 cm). O teor de biomassa seca das inflorescências apresentou diferença estatística significativa apenas para o menor espaçamento (1.267,33 kg ha⁻¹). Em relação ao teor de óleo essencial das inflorescências houve destaque significativo apenas para o tratamento controle (0,2935%) e para os ramos houve diferença significativa o tratamento 30 t ha⁻¹ (0,1086%). A correlação entre o acúmulo de óleo (L.ha⁻¹) com o total de biomassa seca atingida (Kg.ha⁻¹) foi calculada, sendo os teores de óleo dos ramos (19,33 L ha⁻¹) maiores que os das inflorescências (3,34 L ha⁻¹). Foram identificadas 30 substâncias químicas no óleo essencial, tanto das inflorescências como dos ramos. α -Pineno foi a principal substância química detectada tanto nas inflorescências (58,96%) como nos ramos (46,53%), seguida de β -cariofileno e α -humuleno. Os teores de flavonoides nos ramos oscilou durante as quatro idades de coleta. Foi encontrada significância na terceira coleta (320 DAT) no tratamento 60 t ha⁻¹, no menor espaçamento (281,2 mg/100g). Já os teores de fenóis totais apresentaram diferença significativa entre as idades, sendo 240 DAT (154,48 mg/100g) a idade que se destacou. Dentre os polifenóis analisados, 3-O-metilquercetina acumulou em maiores teores nas inflorescências, sendo a maior dose de adubo no maior espaçamento o tratamento que acumulou maior teor (329,45 mg/100g). Os resultados para atividade antibacteriana dos óleos essenciais testados demonstraram que não houve inibição de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas concentrações testadas. Pode-se inferir com estes resultados que as doses crescentes de adubo e os dois

espaçamentos não foram capazes de aumentar gradativamente a capacidade produtiva para a maioria das variáveis testadas.

Palavras-chave: Macela. Óleos essenciais. α -Pineno. 3-O-metilquercetina. Flavonoides. Ácidos fenólicos.

ABSTRACT

This work has investigated for the first time the agronomic and phytochemical responses from inflorescences and branches of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. cv. CPQBA 2 (macela) over five doses of organic fertilizer (0, 30, 60, 90 and 120 t ha⁻¹) and two spacings (50 and 100 cm between plants and between rows). Harvest time were carried out, 457 days after transplanting (DAT), followed by laboratory analysis: extraction (w/w%) and analysis of chemicals substances from essential oil (%) as well as its antibacterial activity; luteolin, 3-O-methylquercetin, quercetin, caffeic acid, rutin and trans-ferulic acid (mg/100g) of the hydroalcoholic extract further the analyzes of the flavonoid and phenolic acid content (mg/100g) during four moments (150, 240, 320 and 457 DAT). Plant height data demonstrate that the 30 t ha⁻¹ treatment stood out (110.89 cm). The dry biomass content of the inflorescences presented significant statistical difference only for the smallest spacing (1,267.33 kg ha⁻¹). Regarding the essential oil content of the inflorescences, there was a significant difference only for the control treatment (0.2935%) and for the branches there was a significant difference in the treatment 30 t ha⁻¹ (0.1086%). The correlation between the accumulation of oil (L.ha⁻¹) and total dry biomass (Kg.ha⁻¹) was calculated, with the oil contents of the branches (19,33 L ha⁻¹) being higher than the inflorescences (3.34 L ha⁻¹). Thirty chemicals substances were identified in the essential oil of inflorescences and branches. α -Pinene was the main chemical substance detected in inflorescences (58.96%) and branches (46.53%), followed by β -caryophyllene and α -humulene. The levels of flavonoids in the branches oscillated during the four collection moments. Significance was found in the third collection (320 DAT) in the treatment 60 t ha⁻¹, in the smallest spacing (281.2 mg/100g). On the other hand, the phenolic acid contents presented significant difference between the ages, being 240 DAT (154.48 mg/100g) the moment that stood out. Among the polyphenols, 3-O-methylquercetin accumulated higher in inflorescence contents, with the highest dose of fertilizer in the largest spacing being the treatment with the highest content (329.45 mg/100g). The results for antibacterial activity of the essential oils tested showed no inhibition to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* at the concentrations tested. It can be inferred from these results that the increasing doses of fertilizer and the two spacings were not able to gradually increase the productive capacity for most of the variables tested.

Key words: Macela. Essential oils. α -Pinene. 3-O-methylquercetin. Flavonoids. Phenolic acids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ocorrência da macela nos estados brasileiros.....	23
Figura 2 - Aspectos macroscópicos de <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.....	26
Figura 3 - Aspectos microscópicos de <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.....	28
Figura 4 - Rota simplificada do metabolismo especializado do carbono.....	37
Figura 5 - Estruturas químicas dos flavonoides quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina extraída de inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i>	40
Figura 6 - Cromatograma dos flavonoides quercetina (Q), luteolina (L) e 3-O-metilquercetina (3-O-MQ).....	41
Figura 7 – Mudas de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 propagadas em tubetes dispostos em casa de vegetação no Departamento de Agronomia (Horticultura), FCA/UNESP, Botucatu - 2014.....	46
Figura 8 – Temperatura média (°C) e precipitação média (mm) da região de São Paulo, Brasil, de dezembro de 2014 até abril de 2016.....	47
Figura 9 - Área experimental localizada na Fazenda da UNESP, São Manuel, São Paulo, 2014.....	47
Figura 10 - Baias contendo adubo orgânico utilizado no experimento, FCA/UNESP	49
Figura 11 - Disposição de doze plantas úteis de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 em uma parcela, Fazenda da UNESP, São Manuel, SP, 2014.....	51
Figura 12 - Croqui da área experimental do cultivo de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Fazenda da UNESP, São Manuel, SP, 2014.....	51
Figura 13 - Clevengers contendo inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 no processo de extração de óleo essencial, Laboratório de Plantas Medicinais, Departamento de Agronomia (Horticultura), FCA/UNESP, Botucatu.....	55
Figura 14 - Altura das plantas (cm) dias após o transplântio (DAT), cultivadas sob cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP, 2014 -2016.....	62
Figura 15 - Alturas finais das plantas de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 submetidas a regressão polinomial de 2º grau, Botucatu, São Paulo. UNESP,2017.	64
Figura 16 - Plantas de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 no estágio de desenvolvimento, Fazenda Experimental da UNESP (FCA), São Manuel, 2016.....	66
Figura 17 - Biomassa seca dos ramos (Kg ha ⁻¹) de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 submetida a análise de regressão polinomial de 2º, Botucatu, São	

Paulo. UNESP - 2017.....	71
Figura 18 – Teores (%) de óleo essencial extraído das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	73
Figura 19 – Teores (%) de óleo essencial extraído dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP -2017.....	76
Figura 20 - Teores de óleos essenciais das inflorescências e dos ramos (L.ha ⁻¹) 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 submetidas a análise de regressão polinomial de 2° grau, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	82
Figura 21 - Cromatograma com destaque para as três principais substâncias químicas identificadas no óleo essencial de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 (α -pineno, β -cariofileno e α -humuleno), Botucatu, São Paulo. UNESP, 2017.....	89
Figura 22 - Teores de α -pineno (%) nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 e submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	93
Figura 23 - Teores de α -humuleno (%) acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 e submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP..	100
Figura 24 - Teores de flavonoides (mg/100g) acumulados nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 durante as quatro idades incluindo as inflorescências na última coleta, submetidas a cinco teores de adubo orgânico e dois espaçamentos. São Paulo, Botucatu – 2017.....	103
Figura 25 - Teores de flavonoides (mg/100g) acumulados nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 submetidas a análise de regressão polinomial de 2° grau, São Paulo, Botucatu - 2017.....	105
Figura 26 – Fenóis totais (mg/100g) acumulados nos ramos durante as 4 idades e nas inflorescências aos 457 DAT, São Paulo, Botucatu - 2017.....	110
Figura 27 - Perfil do extrato hidroalcoólico de amostras de inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2. (1) ácido cafeico, (2) trans-ferúlico, (3) rutina, (4) quercetina, (5) luteolina e (6) 3-O-metilquercetina, São Paulo, Botucatu....	112
Figura 28 - Placa de 96 poços utilizada no experimento de microdiluição após adição de resazurina, Botucatu, São Paulo - 2016.....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise química do solo da área experimental. UNESP, Campus de São Manuel, Estado de São Paulo, Brasil, 2014.....	48
Tabela 2 - Análise química do composto orgânico utilizado na adubação de plantio e de cobertura. UNESP, Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil, 2014.....	49
Tabela 3 - Quadro de análise de variância em experimento fatorial da altura final de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	63
Tabela 4 - Alturas finais das plantas de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	64
Tabela 5 - Análise de variância da biomassa seca das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	66
Tabela 6 - Biomassa das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	67
Tabela 7 - Valores de compra no mercado brasileiro das inflorescências desidratadas de macela.....	69
Tabela 8 - Análise de variância da biomassa seca dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	70
Tabela 9 - Biomassa seca dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	70
Tabela 10 - Análise de variância do teor de óleo essencial das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	72
Tabela 11 - Teor (%) de óleo essencial extraído das inflorescências 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	73
Tabela 12 – Teores (%) de óleo essencial extraído dos ramos 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	75
Tabela 13 - Análise de variância do teor de óleo essencial dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	75
Tabela 14 - Teores de óleo essencial (L.ha ⁻¹) das inflorescências e dos ramos 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 em função da biomassa obtida por hectare nos tratamentos de cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	79
Tabela 15 - Análise de variância do teor de óleo essencial (L.ha ⁻¹) das	

inflorescências 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 em função da biomassa obtida por hectare nos tratamentos de cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	80
Tabela 16 - Teor de óleo essencial (L.ha ⁻¹) dos ramos 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 em função da biomassa obtida por hectare nos tratamentos de cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	81
Tabela 17 - Composição do óleo essencial (%) das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 cultivada sob doses de adubo orgânico (0, 30, 60, 90, 120 t ha ⁻¹) e espaçamentos entre plantas (50 e 100cm). Universidade de Xangai Jiao Tong, China, 2017.....	85
Tabela 18 - Composição do óleo essencial (%) dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 cultivada sob doses de adubo orgânico (0, 30, 60, 90, 120 t ha ⁻¹) e espaçamentos entre plantas (50 e 100cm). Universidade de Xangai Jiao Tong, China, 2017.....	87
Tabela 19 - Análise de variância do teor de α -pineno nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	91
Tabela 20 - Teor de α pineno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	92
Tabela 21 - Teores de α -pineno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP – 2017.....	94
Tabela 22 - Análise de variância do teor de α -pineno nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	95
Tabela 23 - Teores de β -cariofileno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP- 2017.....	96
Tabela 24 - Quadro de análise de variância em experimento fatorial do teor de β -cariofileno nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	96
Tabela 25 - Teores de β -cariofileno acumulados nas amostras de óleo essencial extraído dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São	

Paulo. UNESP - 2017.....	97
Tabela 26 - Análise de variância do teor de β -cariofileno nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	98
Tabela 27 - Análise de variância do teor de α -humuleno nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	99
Tabela 28 - Teor de α -humuleno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	99
Tabela 29 - Teores de α -humuleno acumulados nas amostras de óleo essencial extraído dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	101
Tabela 30 - Análise de variância do teor de α -humuleno nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	102
Tabela 31 - Análise de variância do teor flavonoides nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, 457 DAT, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.....	104
Tabela 32 - Teor de flavonoides (mg/100g) acumulados nas inflorescências 457 DAT de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2, São Paulo, Botucatu - 2017.....	105
Tabela 33 - Teores de flavonoides (mg/100g) detectados nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> entre as 4 idades: 150, 240, 320 e 457 DAT, São Paulo, Botucatu, 2017.....	107
Tabela 35 – Fenóis totais (mg/100g) acumulados nos ramos durante as 4 idades e nas inflorescências aos 457 DAT, São Paulo, Botucatu - 2017.....	109
Tabela 36 - Teores de fenóis totais (mg/100g) detectados nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 entre as 4 idades: 150, 240, 320 e 457 DAT, São Paulo, Botucatu, 2017.....	111
Tabela 37 - Principais polifenóis (mg/100g) detectados nos extratos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 aos 457 DAT submetidos a análise fatorial entre os tratamentos, São Paulo, Botucatu - 2017.....	113

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	21
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 Ocorrência, características gerais e descrição botânica.....	22
2.2 Descrição macroscópica.....	24
2.3 Descrição microscópica.....	27
2.4 Aspectos agrônômicos e comerciais de <i>Achyrocline satureioides</i>	29
2.5 Aspectos fitoquímicos de <i>Achyrocline satureioides</i>	34
2.6 Substâncias fenólicas.....	38
2.7 Aspectos farmacológicos de <i>Achyrocline satureioides</i>	41
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.1 Processo de seleção de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	45
3.2 Identificação botânica de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	45
3.3 Semeadura e repicagem de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	45
3.4 Caracterização da área experimental.....	46
3.5 Composto orgânico.....	48
3.6 Delineamento experimental e adubação de cobertura.....	50
3.7 Instalação e condução do experimento.....	52
3.8 Coleta de dados de altura das plantas.....	53
3.9 Coleta e processamento das amostras para análise de fenóis totais e flavonoides.....	53
3.10 Colheita, secagem e armazenamento.....	54
3.11 Extração e análise fitoquímica dos óleos essenciais.....	55
3.11.1 Extração e cálculo do teor (%) de óleo essencial (%).....	55
3.11.2 Análise fitoquímica dos óleos essenciais	56
3.12 Extração e análise de flavonoides, polifenóis, fenóis totais e atividade antibacteriana.....	57
3.12.1 Flavonoides.....	58
3.12.2 Fenóis totais.....	58
3.12.3 Polifenóis (UPLC).....	59
3.12.4 Atividade antibacteriana.....	59
3.13 Análises estatísticas.....	60
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61

4.1	Altura de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	61
4.2	Biomassa seca das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA	65
4.3	Biomassa seca dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	69
4.4	Teor de óleo essencial das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	72
4.5	Teor de óleo essencial dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv.CPQBA 2	74
4.6	Correlação da biomassa e do teor de óleo entre os ramos e inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	77
4.7	Substâncias químicas no óleo essencial de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 (China)	83
4.8	Principais substâncias químicas identificadas nos óleos essenciais das inflorescências e dos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	90
4.8.1	Teor de α -Pinoeno nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	90
4.8.2	Teor de α -Pinoeno nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	93
4.8.3	Teor de β -cariofileno nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	95
4.8.4	Teor de β -cariofileno nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA..	97
4.8.5	Teor de α -humuleno nas inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	98
4.8.6	Teor de α -humuleno nos ramos de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2.....	100
4.9	Teores de flavonoides de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 nos ramos entre 4 idades e nas inflorescências 457 DAT.....	102
4.10	Fenóis totais de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 presentes nos ramos entre 4 idades e nas inflorescências 457 DAT.....	107
4.11	Polifenóis de <i>Achyrocline satureioides</i> cv. CPQBA 2 presentes nos ramos e nas inflorescências 457 DAT.....	111
4.12	Atividade antibacteriana.....	115
5	CONCLUSÕES.....	119
6	ANEXO.....	121
7	REFERÊNCIAS.....	123

1 INTRODUÇÃO

A versatilidade das aplicações dos vegetais sempre foi apreciada pela humanidade. Quanto aos seus principais usos, há evidências de que eram empregadas como medicinais pelos Neandertais há mais de 30 mil anos (HARDY et al., 2012).

Com relação às plantas medicinais, a família Asteraceae se destaca (LIN et al., 2008), por incluir diversas espécies com comprovação científica, entre elas a *Achyrocline satureioides*, conhecida popularmente no Brasil por macela (LORENZI & MATOS, 2008).

No Rio Grande do Sul, a macela é considerada planta símbolo do Estado, onde é uma das mais utilizadas para o tratamento de problemas de saúde, além de ser utilizada como enchimento de travesseiros, almofadas, colchões e em sachês para afastar insetos (NUNES et al., 2013).

Informações sobre a forma de cultivo das plantas medicinais são essenciais para fornecimento de matéria-prima de qualidade, tanto *in natura* como na forma de drogas vegetais para a produção de fitoterápicos. Aspectos agrônômicos sobre a macela ainda não são suficientes para garantir o desejável suprimento adequado.

Dados da literatura recomendam o seu cultivo de julho a outubro para a região Sul do país (CORREA JR. et al., 2006). Correa Jr. et al. (1994) sugerem adubação orgânica na quantidade de 30 t.ha⁻¹. Espaçamento entre plantas e entre linhas para a macela ainda é uma variável conflitante nos dados científicos disponíveis.

As inflorescências dessecadas de macela contêm ao redor de 0,75% de óleo essencial composto por diversas substâncias químicas, como, por exemplo, cariofileno, óxido de cariofileno, germacreno-*D*, α -pineno, ácido crotônico, farneseno, terpenóides, cumarinas e flavonoides (RETTA et al., 2012).

Dentre os compostos químicos presentes na macela, os flavonoides representam um dos grupos fitoquímicos mais importantes e diversificados. Nas inflorescências e nos ramos da macela, diversos flavonoides podem ser encontrados. Perfil cromatográfico de extratos etanólicos mostrou a presença em maior acúmulo de quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina (MARQUES & FARAH, 2009), princípios ativos com estudos para o tratamento de câncer (CARINI et al., 2014).

Apesar de serem raras as cultivares desenvolvidas no Brasil, a macela possui a cultivar chamada de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. cv. CPQBA 2. Essa foi a

segunda cultivar de planta medicinal nativa a ser desenvolvida no Brasil, sendo *Baccharis trimera* (Less.) DC. cv. CPQBA 1 (carqueja) a primeira (GARCIA, 2013).

Notavelmente, estudos agronômicos vinculados aos fitoquímicos da macela não foram investigados suficientemente, justificando assim os objetivos deste estudo, os quais foram:

- Estudar o desenvolvimento vegetal (altura e biomassa) da macela;
- Analisar quali e quantitativamente os componentes químicos do óleo essencial bem como suas atividades antibacterianas;
- Perfil químico do extrato hidroalcoólico com ênfase no acúmulo de quercetina, luteolina, 3-O-metilquercetina, ácido cafeico, rutina e trans-ferúlico das inflorescências e dos ramos em função de adubação orgânica e espaçamentos;
- Analisar a variação do acúmulo de flavonoides e fenóis totais dos ramos e das inflorescências nas diferentes idades do cultivo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ocorrência, características gerais e descrição botânica

A macela é geralmente encontrada em todos os estados da região Sul e Sudeste do Brasil e no estado da Bahia (Figura 1). Por se tratar de uma espécie não endêmica, também ocorre em outros países da América Latina, tais como: Uruguai, Argentina, Paraguai e Colômbia (LOEUILLE, 2010), além de ter sido distribuída pela Europa e África (CALVO et al., 2006).

Figura 1 - Ocorrência da macela nos estados brasileiros (adaptado de Flora do Brasil, 2017).



Os nomes populares podem ser vários, como, por exemplo, marcela, alecrim-de-parede, camomila-nacional, carrapichinho-de-agulha, chá-de-lagoa, losna-do-mato, macela-amarela, macela-da-terra, macela-do-campo, macela-do-sertão, macelinha, marcela-do-campo e paina (LORENZI & MATOS, 2008). Na América Latina é conhecida como marcela e em Guarani é chamada de *ipoty dju* e *jate'i ka'a*. O nome

popular “macela-da-terra” pode ser confundido com o nome popular de outra espécie, a *Egletes viscosa* (L.) Less., que é muito comum no nordeste brasileiro.

Possui as seguintes sinonímias: *Achyrocline candicans* (Kunth); *A. flaccida* DC.; *Gnaphalium satureioides* Lam.; e *G. candicans* Kunth. Segundo o banco de dados “trópicos”, existem três variedades de macela, sendo elas: *A. satureioides* var. *remotifolia* DC., *A. satureioides* var. *crassiuscula* Malme e *A. satureioides* var. *vargasiana* (DC.) Baker. No Brasil existe a cultivar registrada no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), nomeada de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. cv. CPQBA 2 (MAPA, 2015).

A espécie *Achyrocline alata* (Kunth) DC., também chamada popularmente de macela, é a espécie mais semelhante dentro do gênero botânico, porém se diferencia da primeira pela presença de alas nos ramos.

A macela é heliófita, ruderal, cresce em pastagens, terrenos baldios, taludes e capoeiras. É considerada “espontânea”, “daninha”, “invasora”, dentre outras designações no Sul e no Sudeste, devido a sua capacidade de desenvolvimento em solos arenoargilosos, pedregoso e até em áreas semi-halófitas próximas ao mar. Floresce no verão e no outono e possui dispersão das sementes de forma anemocórica. As sementes são fotoblásticas positivas e a propagação gâmica é a mais adequada para cultivos (CORREA Jr. et al., 2006).

O peso de mil sementes é de 37,1 mg (DAVIES & VILLAMIL, 2004). Cinco populações do Rio Grande do Sul foram investigadas e número diploide de cromossomos foi encontrado em todas ($2n = 24$) (PEREIRA et al., 2006). Mazzella et al. (2010) encontraram em quatro espécies de macela, incluindo *A. satureioides*, o mesmo número diploide, $2n = 28$, e relataram pouquíssimas diferenças de cariótipo dentro do gênero.

2.2 Descrição macroscópica

Segundo a Administração Nacional de Medicamentos, Alimentos e Tecnologia Médica da Argentina (ANMAT, 2014), as flores são reunidas em capítulos e agrupados em glomérulos, sendo estes por sua vez organizados em extremidades paniculiformes. Cada capítulo apresenta de 4 a 8 flores dimorfas, protegidas por um involúcro subcilíndrico, de 4,0 a 7,0 mm de altura, formado por 9 a 14 brácteas involucrais escariosas, hialinas, naviculares, imbricadas, dispostas em 3 ou 4 séries,

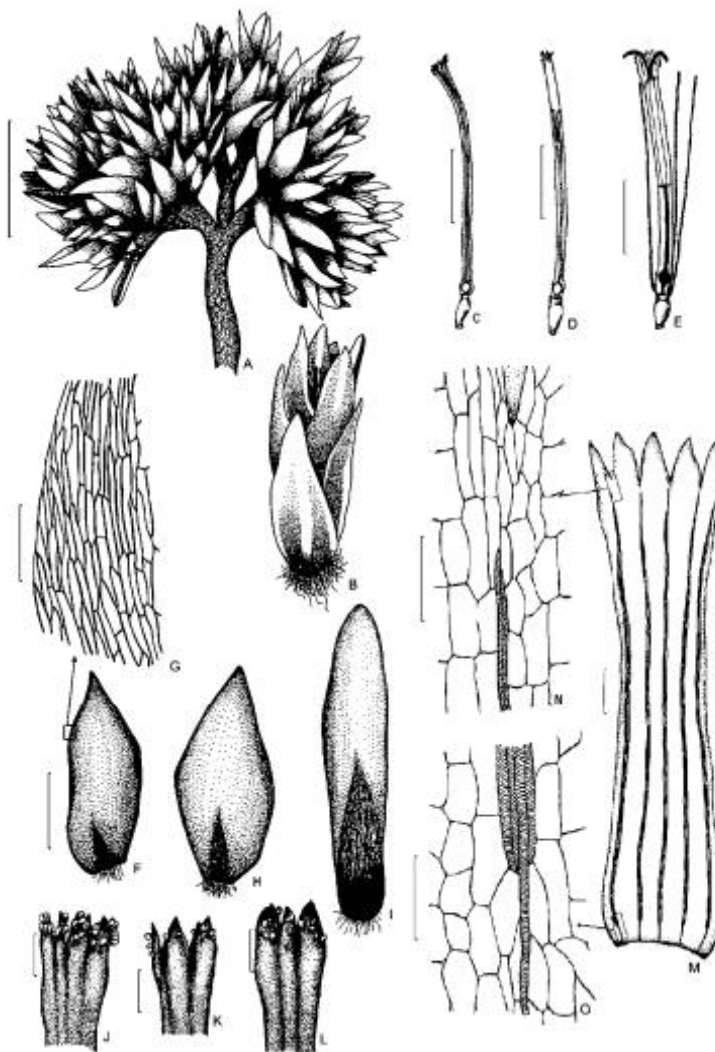
amarelas, amareladas, amarelo-palha, amarelo-pálido a esverdeadas, ou ainda amarelo-douradas, amarelo-pardo a amarelo-avermelhadas. Brácteas externas de 2,5 a 3,0mm de comprimento; brácteas medianas de 3,5 a 4,5 mm de comprimento, brácteas internas de 3,0 a 7,0 mm de comprimento, todas com tricomas tectores simples, lanosos, de 2,0 a 3,0 mm de comprimento e/ou tricomas glandulares apenas no seu terço inferior externo.

De 3 a 6 flores marginais, pistiladas, com corola filiforme, de 3,0 a 4,5 mm de comprimento, dentada ou partida no ápice, com tricomas glandulares na porção apical externa; estilete filiforme, bífido, glabro, dilatado próximo à base, com ramos estigmáticos geralmente na maturação, de ápice truncado, papiloso e com uma coroa de tricomas na porção apical; ovário ínfero, bicarpelar e unilocular, monospermico; papus unisseriado, com cerca de 20 cerdas brancas, ásperas, livres entre si na base, que alcançam quase a mesma altura da corola, raramente mais.

Uma a três flores do disco, hermafroditas, com corola tubulosa, estreita, de 3,0 a 4,5 mm de comprimento, tubo ligeiramente dilatado na base e limbo pentadentado, dentes com tricomas glandulares na face externa; androceu com 5 estames, epipétalos, inseridos na metade inferior da corola, com anteras sinânteras, de 1,5 a 2,0 mm de comprimento, com deiscência longitudinal e introrsa, sagitadas na base, com cauda laciniada; conetivo prolongado em um apêndice apical triangular, levemente obtuso, hialino; ovário, estilete e papus semelhantes aos das flores pistiladas.

Fruto aquênio, castanho-claro ou pardo, de 0,7 a 0,8 mm de comprimento, elipsoidal a obovado, levemente comprimido, glabro, de superfície papilosa. Para comprovar a identidade da espécie, verifica-se a presença de ramos não alados junto às inflorescências (Figura 2).

Figura 2 - Aspectos macroscópicos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. As escalas correspondem em A a 5 mm, B, C, D, E, F, H e I a 1 mm, G a 100 μm , J, K e L a 200 μm , M a 300 μm , N e O a 50 μm . A - aspecto geral de uma inflorescência. B - aspecto de um capítulo em vista lateral. C e D - flores pistiladas em vista lateral. E - flor perfeita com cerdas do papus em vista lateral. F - aspecto da bráctea externa do capítulo. G - detalhe do parênquima da bráctea, como indicado em F. H - aspecto da bráctea mediana do capítulo. I - aspecto da bráctea interna do capítulo. J a L - porção apical da corola tubulosa, mostrando a variabilidade de número e tamanho dos tricomas glandulares. M - aspecto geral da nervação da corola. N - detalhe da nervação na porção apical da corola, como indicado em M. O - detalhe da nervação na porção basal da corola, como indicado em M.



Fonte: adaptado de ANMAT, 2014.

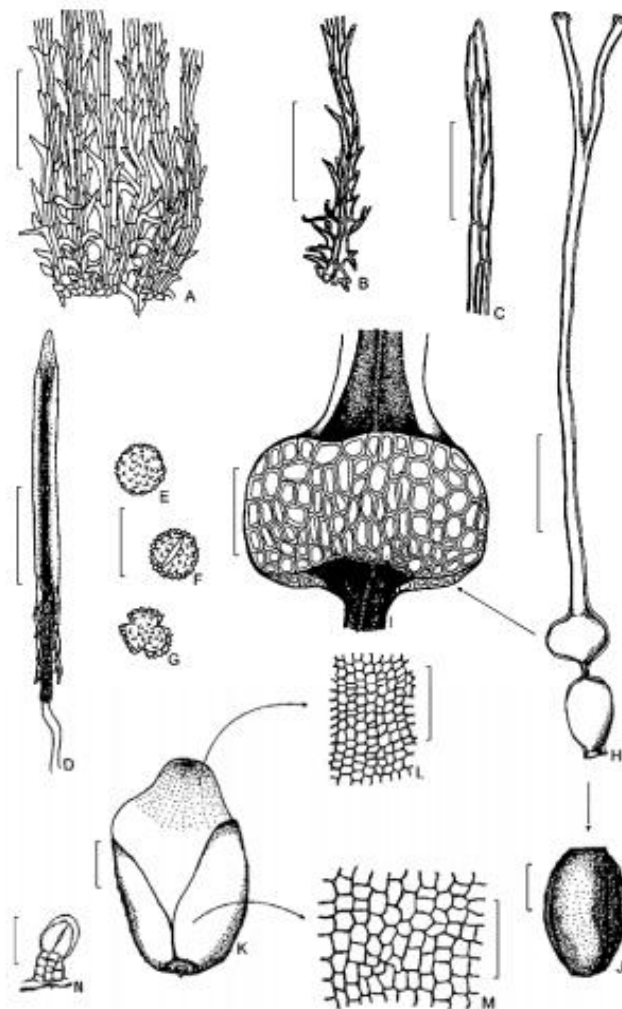
2.3 Descrição microscópica

De acordo com ANMAT (2014), a face abaxial das brácteas apresenta epiderme formada por células alongadas, de contorno retangular. No terço inferior ocorrem tricomas tectores pluricelulares e unisseriados, e/ou glandulares, formados por um pedicelo bi a trisseriado, com 3 ou 4 camadas de células e por duas células terminais ovalado-alongadas, bem maiores do que as anteriores. Os tricomas glandulares das brácteas medem 60 a 100 μm de comprimento total e sua cabeça possui diâmetro de 30 a 40 μm . O papus é constituído por cerdas longas, formadas por células alongadas, hialinas, de paredes finas, muitas delas projetadas lateralmente.

A face abaxial da corola apresenta epiderme formada por células alongadas, de contorno poligonal. Cinco feixes vasculares percorrem longitudinalmente seu tubo. As lacínias são cobertas abaxialmente por tricomas glandulares semelhantes aos das brácteas. Os grãos de pólen apresentam exina espinhosa, são esferoidais e tricolpados, medindo de 17 a 35 μm de diâmetro.

O ovário é recoberto por uma camada de células epidérmicas poligonais, seguido por um tecido parenquimático constituído por várias camadas de células, que após o completo desenvolvimento, reduzem-se a 3 ou 4. Internamente, encontra-se apenas um rudimento seminal anátropo, preenchendo totalmente a cavidade ovariana. O estilete apresenta próximo à base uma expansão globosa constituída por numerosas células arredondadas e de paredes finas. O fruto, quando maduro, apresenta um pericarpo formado por 3 ou 4 camadas de células (Figura 3).

Figura 3 - Aspectos microscópicos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. As escalas correspondem em A a 10 μm , B, C, D, I, L e M a 100 μm , E, F e G a 30 μm , H a 0,5 mm, J e K a 200 μm , N a 50 μm . A - detalhe da base do papus. B - base da cerda do papus. C - ápice da cerda do papus. D - estame, em vista lateral. E, F e G - grãos de pólen. H - aspecto do gineceu em vista lateral. I - detalhe do gineceu, na região dilatada indicada em H. J - detalhe do ovário, na região indicada em H. K - fruto, em vista lateral. L - detalhe de fragmento do tegumento da semente na porção indicada em K. M - detalhe de fragmento do pericarpo do fruto na porção indicada em K. N - aspecto de um tricoma glandular com pedicelo trisseriado e duas células terminais.



Fonte: adaptado de ANMAT, 2014.

2.4 Aspectos agronômicos e comerciais de *Achyrocline satureioides*

Ainda são escassas informações agronômicas sobre a influência de fatores como a quantidade e tipos de adubos orgânicos, bem como de diferentes espaçamentos no cultivo, na produção de biomassa e acúmulo de substâncias químicas de macela, assim como é elucidado cientificamente para outras espécies medicinais, tais como, *Lippia alba* (MING, 1994), *Melissa officinalis* L (SANTOS et al., 2009), *Majorana hortensis* L. (AL-FRAIHAT et al., 2011); *Baccharis trimera* Less. DC. (GARCIA, 2013).

Espaçamento é uma variável pertinente na área agrícola, uma vez que alguns dos objetivos é o cultivo do maior número de plantas em um menor espaço possível, desde que não haja qualquer problema relacionado ao bom crescimento e desenvolvimento das espécies cultivadas. Conforme se aumenta a densidade de plantas, muitas crescerão em altura e competirão por água, luz e nutrientes, influenciando, dessa forma, o maior desenvolvimento e acúmulo de biomassa (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Além disso, o plantio adensado possibilita a melhor ocupação dos espaços no campo de cultivo, protege o solo, promove as trocas gasosas com o meio ambiente, aproveita os nutrientes e água entre outras vantagens (EMBRAPA, 2017).

Segundo Taiz e Zeiger (2009), os vegetais possuem mecanismos de autorregulação, baseando-se na capacidade de adaptação às relações de interferência, como competição por nutrientes, água e luz. Daí a importância de estudos agronômicos que visam investigar as respostas das plantas frente às diversas variáveis que possam elevar a produção vegetal e de suas substâncias químicas. Na área agrônômica, por exemplo, são raras as investigações científicas que correlacionam os fatores bióticos e abióticos na produção e acúmulos de determinadas substâncias farmacologicamente ativas provenientes das espécies medicinais brasileiras. Alonso (1998) já alertava e Souza et al. (2012) reforçaram a ideia de que estudos agronômicos com plantas medicinais nativas são raros se comparados às exóticas, sendo esse um dos motivos que podem dificultar a organização da produção nacional dessas plantas. Além disso, a falta de dados agronômicos sobre as etapas de cultivo, colheita e pós-colheita de plantas medicinais nativas (CORTÉS et al., 2007; FURLAN & GARCIA, 2013) contribui para obtenção de produto vegetal de baixa qualidade (VEIGA Jr., 2008), além de promover a coleta indiscriminada (CARVALHO, 2003), incluindo a macela

(MONTANARI JR., 2009). A macela ainda é objeto de extrativismo (RETTA et al., 2012), o que pode acarretar em desequilíbrios do sistema ambiental e diminuição de suas populações (MONTANARI JR., 2009) além de diversas outras consequências ambientais.

Algumas poucas investigações científicas trataram de estudar alguns dos fatores agrônômicos para o cultivo de macela. Sartório et al. (2000) e Correa Jr. et al. (2006), por exemplo, sugerem espaçamentos entre plantas e entre linhas de: 0,20 x 0,30 m e 0,6 x 0,4 m, respectivamente. Ajalla et al. (2009) não encontraram diferenças estatísticas significativas para a produção de biomassa em dois espaçamentos (0,25 x 0,25 m e 0,40 x 0,40 m).

O compêndio de Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial (MMA, 2011), afirma que espaçamentos maiores que 0,30 x 0,25 m resultarão em plantas maiores e com muitas hastes. Vale destacar que esta variável é uma informação importante a ser elucidada cientificamente, tendo em vista que para diferentes espécies de plantas medicinais, alguns autores relatam que menores espaçamentos produzem maiores quantidades de biomassa e maiores acúmulos de óleos essenciais, como as pesquisas realizadas com *Cymbopogon winterianus* Jowitt. (MARCO et al., 2006), *Melissa officinalis* (WANDERER & BARROS, 2007); *Glycine max* L. (CASTOLDI et al., 2009) e *Ocimum basilicum* L. (FAVORITO et al., 2011). Percebe-se que ainda há grave conflito de informações quando essa variável é aplicada para o cultivo de macela (RETTA et al., 2012).

Em relação a época de cultivo e adubação, Correa Jr. et al. (2006) recomendam o transplântio no período de julho a outubro, para a região Sul do Brasil, acreditando-se que haja rápida aclimação e estabelecimento das raízes para resistir durante o inverno.

Correa Jr. et al. (1994) sugerem aplicar adubo orgânico na proporção de 30 t ha⁻¹. Algumas investigações científicas mostram a importância de testar diferentes tipos e teores de adubação orgânica no cultivo de plantas medicinais (MING, 1998; MONTANARI et al., 2004; PEREIRA et al., 2006; GARCIA, 2013), já que esses fatores podem favorecer as características físico-químicas do solo, bem como contribuir para o equilíbrio da flora microbológica, refletindo, assim, em resultados significativos nos teores de biomassa, no acúmulo de óleos essenciais e de outras substâncias químicas (RAM & KUMAR, 1997; FURLAN, 2005).

Maia et al. (2009) defendem que para o cultivo de plantas medicinais deve-se dar preferência à utilização de adubos orgânicos, com o objetivo de preservar as substâncias ativas. Os autores explicam que os adubos orgânicos, de forma geral, apresentam teores de macronutrientes menores que os adubos inorgânicos, mas exercem efeito positivo nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Por outro lado, existem autores que obtiveram resultados satisfatórios para o cultivo da macela com adubação organo-mineral (CORREA JR. et al., 1994; DAVIES, 1999; VIEIRA et al., 2015). Chagas et al. (2011) aumentaram a biomassa e o acúmulo de óleo essencial da hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.) com teores mais altos de adubo orgânico, tanto no cultivo (10,0 kg.m⁻²) como em cobertura (7,5 kg.m⁻²).

Retta et al. (2012) alertam que doenças podem afetar a plantação durante o cultivo. Os autores reportam que no início é possível o aparecimento de *Botrytis* e *Sclerotinia*, enquanto que na fase reprodutiva existe a possibilidade do ataque de *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. e *Epicoccum* spp., os quais causam danos nas inflorescências, algumas vezes caracterizados por manchas pretas e apodrecimento das mesmas.

Existe um consenso religioso em relação à época da colheita. Geralmente é realizada, no Rio Grande do Sul, na madrugada da Sexta-feira Santa (março). Esse fato curioso é devido à crença popular, por acreditar que os teores de substâncias químicas da macela atingem os maiores teores nesse período.

Em relação à produção e acúmulo de óleo e substâncias químicas, Radaelli et al. (2009) encontraram maior teor de óleo essencial na primavera (0,1% m/m) acumulados nos ramos e maior acúmulo de majoritários no inverno em macela silvestre [25,7% de α -pineno, 11,8% limoneno e 25,5% de (E)-cariofileno] coletada no Rio Grande do Sul. Cezarotto (2011) obteve resultados semelhantes em relação aos encontrados por Radaelli et al. (2009), pois 0,1% de óleo essencial (m/m) foi obtido dos ramos colhidos na primavera (Rio Grande do Sul) e os teores de majoritários foram: 28,5% de α -pineno, 8,45% limoneno e 29,8% de (E)-cariofileno.

A variação dos teores e até a presença ou não de algumas substâncias químicas acumuladas na macela durante as épocas do ano, podem estar associadas ao fato dessas substâncias estarem desempenhando funções diferentes nas estações climáticas. Além da proteção dos vegetais contra a incidência de radiação ultravioleta visível, ação antioxidante, dentre outros fatores bióticos e abióticos, as substâncias químicas auxiliam na proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias;

como atraentes de animais com finalidade de polinização; controle de ação de hormônios vegetais, agentes alelopáticos e inibição de enzimas (SIMÕES et al., 2007).

De acordo com Eloff (1999), o material vegetal coletado em diferentes períodos do ano pode conter novas substâncias com diferentes atividades biológicas. Alguns trabalhos relatam a influência do fator sazonal e idades dos vegetais no acúmulo de diferentes teores de substâncias químicas como flavonoides em *Daucus carota* (BROOKS & FEENY, 2004); *Baccharis articulata* e *A. satureioides* (CEZAROTTO, 2011); e nos óleos essenciais de *Hypericum perforatum* (SCHWOB et al., 2004) e de *Baccharis trimera* (SILVA et al., 2007).

Apesar da riqueza fitoquímica e do potencial farmacológico da macela, segundo Retta et al. (2012), ainda não há demanda além da que ocorre nos países da América do Sul, provavelmente devido à escassez de dados científicos e/ou ineficácia da divulgação em comunidades globais e da falta de organização da cadeia produtiva. Na China, por exemplo, 6.000 espécies de plantas são utilizadas de diferentes formas em diferentes lugares, segundo Xiao (1991). Dessas, aproximadamente 1.000 são as mais usadas na China e 500 são as mais importantes do ponto de vista farmacológico (HE & SHENG, 1997). China é um dos países mais importantes no fornecimento de plantas medicinais para o resto do mundo, seguido pela Índia (XIAO, 1991).

O valor comercial de muitas plantas medicinais deveria ser determinado principalmente pelo teor de metabólitos especializados acumulados, resultado das relações ecológicas entre a planta e o ambiente (PIÑOL et al, 2000; WAGNER et al, 2006). Qualidade da matéria-prima vegetal, segundo a ANVISA (RDC 14, 2010): “é a intensidade da cor, do aroma, o grau de fragmentação, porcentagem de material estranho, identificação taxonômica, identificação macro e microscópica, percentual de cinzas, de cinzas insolúveis em ácido clorídrico, de umidade, o nível de contaminação microbiológica, de metais pesados e a análise qualitativa e quantitativa de princípios ativos e/ou marcadores, quando conhecidos”.

Assim, estudos agronômicos passam a ser uma parte imprescindível para compreender os fatores que influenciam na produção de substâncias químicas de interesse industrial, além de fornecer dados sobre as correlações entre planta/ambiente (FURLAN & GARCIA, 2013).

As plantas medicinais *in natura*, desidratadas e, principalmente, suas substâncias químicas extraídas, são tão versáteis que no caso da tintura, feita a partir das inflorescências de macela, pode ser aplicada no tingimento e aromatização de peças de roupas feitas de algodão (NUNES et al., 2013). Outra oportunidade de mercado diz respeito ao pó dos ramos e das inflorescências da macela, após garantir sua segurança no consumo por meio dos testes toxicológicos, poderia ser comercializado como condimento. Ainda são poucas as referências que mencionam o pó dos ramos e das inflorescências como condimento (SEIDEMANN, 2005).

A cultura da macela deveria ser vista no Brasil como uma oportunidade de renda para agricultores e incentivada com maior ênfase pelos órgãos governamentais, principalmente. Segundo Mota et al. (2011b), o consórcio entre alface (*Lactuca sativa*) e macela, é economicamente viável e pode atingir um rendimento anual bruto de US\$ 3,000/ha/ano como valor final de toda produção. Esta oportunidade poderia conduzir os agricultores à diversificação das espécies cultivadas, contribuindo, desta forma, para preservar-se de quedas na produção em momentos de intempéries e/ou oscilações econômicas.

O baixo número de fitoterápicos provenientes de plantas medicinais nativas disponíveis nas farmácias e centros de saúde é um reflexo significativo da fraca relação que existe entre a inovação e a organização da cadeia produtiva e, entre a escassez de estudos agrônômicos e o agricultor. Menezes Jr. (2006) observa que cerca de 90% das espécies medicinais nativas consumidas no Brasil são provenientes de coletas sem manejo. Reis e Mariot (1998) alertaram que a carqueja (*Baccharis* sp.), por exemplo, assim como as demais espécies medicinais nativas, podem entrar em risco de extinção devido à extração sem o manejo adequado.

Infelizmente, essa realidade não deveria fazer parte do Brasil já que o território nacional abriga a maior biodiversidade vegetal do mundo e, segundo estimativas, somente no território nacional existem cerca de 30% (ao redor de 55 mil) de todas as espécies vegetais do planeta (GIULIETTI, 2005).

Esta grave situação sugere a relação intrínseca entre agricultores e pesquisadores com o objetivo de obter melhores resultados organizacionais na cadeia produtiva brasileira. Essa interação aproximada poderia resultar em sucesso mútuo, destacando de fato a maior qualidade do material vegetal, retorno financeiro para o agricultor além da preservação e valorização das espécies nativas brasileiras ainda, em sua maior parte, em estado silvestre. Além disso, o rastreamento do

material vegetal é imprescindível no fornecimento adequado e na certificação da qualidade de um medicamento fitoterápico (FURLAN & GARCIA, 2013).

Na Argentina, por exemplo, os produtos gerados a partir da macela são usados na etnofarmacologia, na formulação de fitoterápicos e na produção de alimentos que necessitam de aromas (BASTIANELLO et al., 2011). A demanda nesse país está estimada em 20 toneladas de inflorescências por ano. No Uruguai é vendida em muitos mercados e restaurantes e, utilizada também pelas indústrias de cosméticos em virtude da sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória (RETTA et al., 2012).

No mercado brasileiro, existe grande amplitude de valores sobre a venda das inflorescências desidratadas de macela. A empresa Semente Rara comercializa as inflorescências desidratadas por R\$ 40,00 o quilo enquanto que a empresa Kampo de Ervas comercializa a mesma quantidade por R\$ 456,66. Esses valores passam a ser um incentivo aos agricultores que estejam interessados em diversificar a gama de plantas cultivadas.

A genética é o destaque da *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, pois, segundo Montanari Jr. (2009), a cultivar está adaptada aos ambientes agrícolas. O florescimento mais homogêneo possível, comum em cultivares que visam as inflorescências como produto comercial, é uma das principais características desse cultivar e de interesse das indústrias que necessitam de fornecimento constante de matéria-prima (CORREA JR. et al., 2004), já que os princípios ativos variam, entre outras razões, de acordo com os diferentes estágios fenológicos dos vegetais (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Pank (2006) acrescenta que a demanda de produtores por plantas homogêneas e com crescimento e desenvolvimento vigorosos pode ser atendida por meio do melhoramento genético.

A cultivar CPQBA 2 ainda não recebeu a devida atenção quanto às respostas fitoquímicas frente aos fatores agronômicos em nível de campo. Assim, como lembra Vieira et al. (2015), as plantas medicinais não devem ser encaradas apenas como recursos terapêuticos, mas também como possibilidades de geração de renda e da necessidade de estabelecer linhas de ação voltadas para a fitotecnia.

2.5 Aspectos fitoquímicos de *Achyrocline satureioides*

O que mais chama a atenção nas plantas medicinais é a produção de substâncias químicas durante seu desenvolvimento, os quais são intensamente

utilizados por indústrias, tanto na área farmacêutica quanto nas áreas agrônômica, cosmética, alimentícia entre outras (SANTOS, 2007; BIZZO et al., 2009; FURLAN & GARCIA, 2013).

Os óleos essenciais são constituídos por um conjunto de substâncias químicas que podem atuar de várias formas no tratamento de doenças. Além disso, as substâncias bioativas isoladas podem servir como base para a produção de novas substâncias sintéticas ou semi-sintéticas (NEVES, 2009). Apesar da versatilidade dos óleos essenciais e da alta demanda, ainda são raras no Brasil informações agrônômicas capazes de contribuir significativamente para atingir produção adequada (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; VIEIRA et al., 2015), principalmente em relação as plantas nativas (ALVES, 2013).

Os óleos essenciais são comumente encontrados nas folhas e inflorescências, em canais secretores e tricomas. Na natureza, os óleos essenciais desempenham importantes funções ecológicas, como, proteção contra herbívoros e patógenos, na atração de polinizadores, competição entre plantas, dentre outras (TAIZ & ZEIGER, 2009).

A inflorescência da macela é a parte vegetal mais utilizada na preparação de chás, não só no Brasil, mas também no Uruguai, na Argentina e no Paraguai (FACHINETTO et al., 2007; RETTA et al., 2012), sendo comumente utilizada a infusão ou decocção (TORRES, 2005). As inflorescências desidratadas da macela contêm ao redor de 0,75% de óleo essencial, o qual é composto por diversas substâncias químicas, tais como: cariofileno, óxido de cariofileno, cadineno, cariatina, germacreno-*D*, α -pineno, salveno, ácido crotônico, farneseno, terpenóides, cumarinas e flavonoides (DAVIES, 1999).

Sierra et al. (2015) analisaram e quantificaram as substâncias químicas presentes no óleo essencial extraído das inflorescências de macela não cultivada (Colômbia) e encontram β -cariofileno (25%), seguido por óxido de cariofileno (13%), γ -muuroleno (8%), γ -cadineno (7%) e α -pineno (7%). Gillij et al. (2008) afirmam que terpineno-4ol (1,3%) é o constituinte majoritário do óleo essencial das inflorescências (Argentina), seguido de α -terpineol (0,8%). α -Pineno (41-78%) foi encontrado como majoritário em todas as amostras de *A. satureioides* e *A. alata* coletadas na região Sul do Brasil (Lamaty et al., 1991). No mesmo trabalho os autores obtiveram diferentes rendimentos de óleo essencial nas diferentes regiões, sendo 0,84 mL/100g o maior e 0,24 mL/100g o menor rendimento.

Labuckas et al. (1999) obtiveram rendimento de óleo essencial em macela, abaixo de 0,2% e Lorenzo et al. (2000), entre 0,3 e 0,45% (m/m). Este último é um dos poucos trabalhos disponíveis na literatura que investigou as substâncias químicas presentes no óleo dos ramos de macela provenientes do Brasil e do Uruguai.

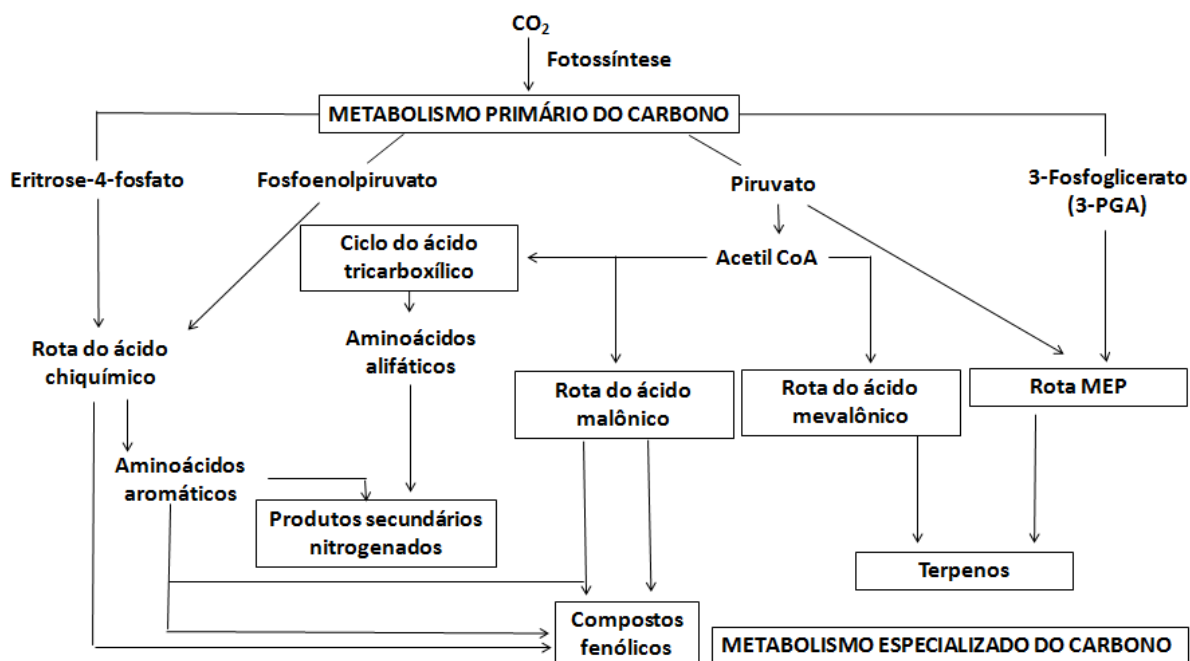
Do Carmo et al. (2015) estudaram as atividades dos óleos essenciais de macela obtidos na empresa Mundo do Óleos S/A (Brasília) contra o parasita *Trypanosoma evansi*. No mesmo trabalho, os autores identificaram vinte e duas substâncias químicas sendo α -pineno (36,19%) a majoritária seguida por β -cariofileno (25,65%), β -ocimeno (7,36%) e 1.8-cineol (5,93%).

Asolini et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante e antibacteriana de extratos provenientes de diferentes plantas, sendo uma delas a macela. Os extratos etanólicos e aquosos da macela foram os que apresentaram maior atividade antioxidante (97%) dentre os demais, apesar de ter apresentado baixo teor de fenóis totais (abaixo de 25 mg GAE/g). No entanto, o extrato etanólico da macela se destacou como um dos melhores antibacterianos entre os demais.

Glicosídeos e os flavonoides, por exemplo, são as substâncias químicas responsáveis pelo gosto amargo e pela adstringência característica do chá da macela (FERNANDES et al., 1996; BARATA et al., 2009).

Os terpenos encontrados na macela podem ser classificados em monoterpenos e sesquiterpenos com maior frequência e, os diterpenos com menor frequência. Os monoterpenos podem ser classificados de acordo com a ciclização: acíclicos (linalol, geraniol), monocíclicos (terpinoleno, α -terpineol), e bicíclicos (α -pineno, cânfora), ou por meio do grupo funcional: hidrocarbonetos insaturados (limoneno), aldeídos (cital), álcoois (mentol), lactonas (nepetalactona), cetonas (carvona) e tropolonas (gamatujaplicina). Os sesquiterpenos também são classificados de acordo com a ciclização sendo: acíclicos (farnesol), monocíclicos (ácido abscísico) e bicíclicos (β -cariofileno) (BRUNETON, 2001; SIMÕES & SPITZER 2003). A figura 4 ilustra a rota simplificada do metabolismo especializado do carbono com destaque para a produção de terpenos.

Figura 4 - Rota simplificada do metabolismo especializado do carbono (adaptado de Taiz e Zeiger, 2009).



Alguns óleos essenciais, como os de eucalipto, lavanda, tomilho e melaleuca, por exemplo, possuem ação antimicrobiana e anti-inflamatória, como forma de ação promovendo danos às estruturas celulares de patógenos, como *Escherichia coli* (LORENZI & MATOS, 2008). Os terpenos também possuem muitas funções nos vegetais, sendo elas: atuando como fitoalexinas, agentes de atração polínica, repelentes de insetos, agentes de defesa contra herbivoria, feromônios, hormônios vegetais, aleloquímicos e moléculas de sinalização (DA SILVA et al., 2009).

A indústria de cosméticos utiliza os óleos essenciais na fabricação de perfumes, cremes, produtos de limpeza e diversos outros tipos de produtos (RETTA et al., 2012). Bizzo et al. (2009) comentam que o Brasil está em destaque na produção mundial de óleos essenciais, mas ainda tem problemas com a qualidade, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor. Percebe-se que o Brasil ainda é tímido no que diz respeito à exportação de óleos provenientes de plantas nativas. Segundo Blank et al. (2004; 2005), o preço do óleo essencial no mercado internacional tem altas flutuações e o valor de mercado funciona em função da organização e do planejamento de pequenos e grandes produtores rurais.

Devido à extensão do território brasileiro, as características edafoclimáticas peculiares em algumas regiões podem interferir positiva ou negativamente na produção de óleos essenciais (GOBBO-NETO & LOPES, 2007), principalmente por estarem as plantas nativas ainda em estado silvestre (MONTANARI JR., 2002).

A falta de domínio tecnológico sobre as etapas de cultivo e de desenvolvimento vegetal, aliado a outros fatores fitotécnicos, podem promover menor quantidade de biomassa e de teores de princípios ativos (CORRÊA JR. et al., 2004; BLANK et al., 2005). Desta forma, o agricultor acaba descobrindo informações empiricamente e o material vegetal colhido passa a ser de qualidade inferior (FURLAN, 2005). Daí a importância de se atentar aos fatores agrônômicos para obtenção dos níveis adequados dessas substâncias químicas produzidas e acumuladas pelas plantas durante as etapas de cultivo até a colheita.

Destaca-se que as etapas pós-colheita também necessitam de grande atenção, principalmente durante os processos de secagem, visto que diversas substâncias químicas podem ser volatilizadas durante este processo (FURLAN & GARCIA, 2013).

2.6 Substâncias fenólicas

Segundo Sousa et al. (2007), as substâncias fenólicas se distribuem nas seguintes categorias: fenóis totais, fenóis simples, flavonoides, cumarinas, lignanas, ligninas, estilbenos e taninos. Ainda, existem certas estruturas fenólicas que são encontradas na forma de proteínas, alcaloides e terpenóides (DAGLIA, 2012). As substâncias fenólicas podem ter produção e acúmulos de acordo com os tecidos vegetais, tamanho da planta, parte coletada, da época, localização geográfica entre outros fatores (MONTEIRO et al., 2005; GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Diversas investigações têm mostrado com êxito atividades antivirais de fenóis (OZÇELIK et al., 2011; IKEDA et al., 2011). Asolini et al. (2006) avaliaram a atividade antioxidante e antibacteriana de extratos provenientes de diferentes plantas, sendo a macela uma delas. Os extratos etanóilcos e aquosos da macela foi um dos que apresentaram maior atividade antioxidante (97%) dentre os demais, apesar de ter apresentado baixo teor de fenóis totais (abaixo de 25 mg GAE/g). O extrato etanólico da macela se destacou como um dos melhores antibacterianos entre os demais.

Campos et al. (2016) detectaram capacidade antifúngica de extrato hidroalcoólico bruto de macela testadas em inóculos de *Candida* spp. isolados de situações-

problema de mastite bovina. Os autores observaram que o *screening* fitoquímico do extrato apresentou substâncias fenólicas além de taninos, taninos condensados e de flavonoides, atribuindo a ação antifúngica a essas substâncias.

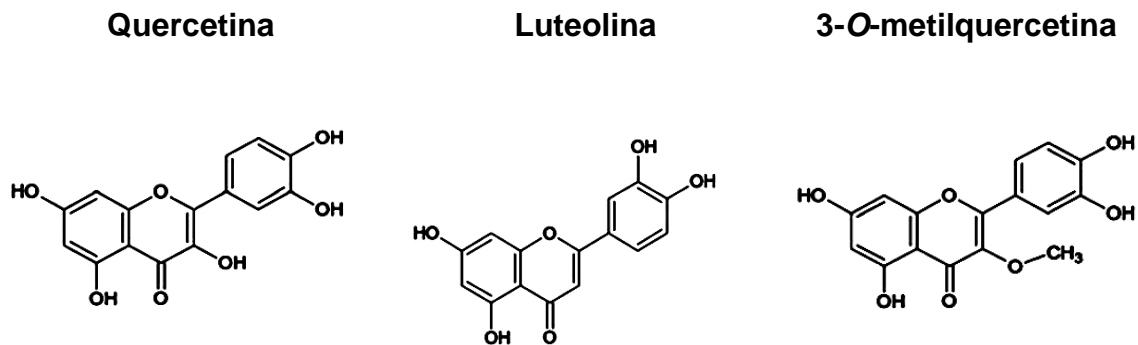
Sabini et al. (2016) testaram o extrato aquoso de macela como inibidor do vírus causador da encefalite equina (*Western Equine Encephalitis*). Nesse trabalho, foi obtido frações de flavonoides e fenóis nos extratos os quais podem ter sido responsáveis pela atividade potencial contra o referido vírus. Os autores também detectaram a presença de ácido clorogênico, luteolina, 5,7,8-trimetoxiflavona, 3-O-metilquercetina e ácido cafeico. Além de ser um potencial antiviral, ainda o extrato mostrou baixa ação citotóxica. Sendo assim, os autores concluíram que a macela pode ser utilizada como um potente inibidor do alfavírus neurotrópico.

Os polifenóis, antocianinas, flavonoides e outros presentes nos vegetais, podem atuar de forma preventiva, já que beneficiam o organismo com ação antioxidante reduzindo os danos oxidativos gerados pelos radicais livres nas células (HERTOG et al., 1992). As substâncias fenólicas, especialmente os flavonoides, representam um dos grupos fitoquímicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essas substâncias químicas provenientes do metabolismo especializado são conhecidas pelas suas importantes funções na natureza, tais como: proteção contra raios UV, na interação simbiótica ou patogênica entre plantas e microorganismos e na interação entre plantas parasídica. Além disso, os flavonoides possuem importantes atividades no incremento de sabor, odor e pigmentos em diversos tipos de frutos (TAIZ & ZEIGER, 2009).

As análises quantitativas e qualitativas de flavonoides de macela têm sido bastante visadas nos últimos anos, uma vez que estas substâncias foram relatadas como tendo atividades farmacológicas que corroboram com vários usos etnofarmacológicos (RETTA et al., 2011; 2012; EVELINE et al., 2014). Em macela, os diversos flavonoides são encontrados em maior teor nas inflorescências (CARINI et al., 2014).

O perfil cromatográfico de extratos etanólicos de macela (Figura 5) mostrou a presença, em maior acúmulo de quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina (MARQUES & FARAH, 2009). Além desses, ainda foram identificados isonafaliina, galangina-3-metiléter, ácido cafeico, ácidos polifenólicos, luteolina, galangina, ésteres de colerianina, isognaftalina entre outros (TOURSARKISSIAN, 1980).

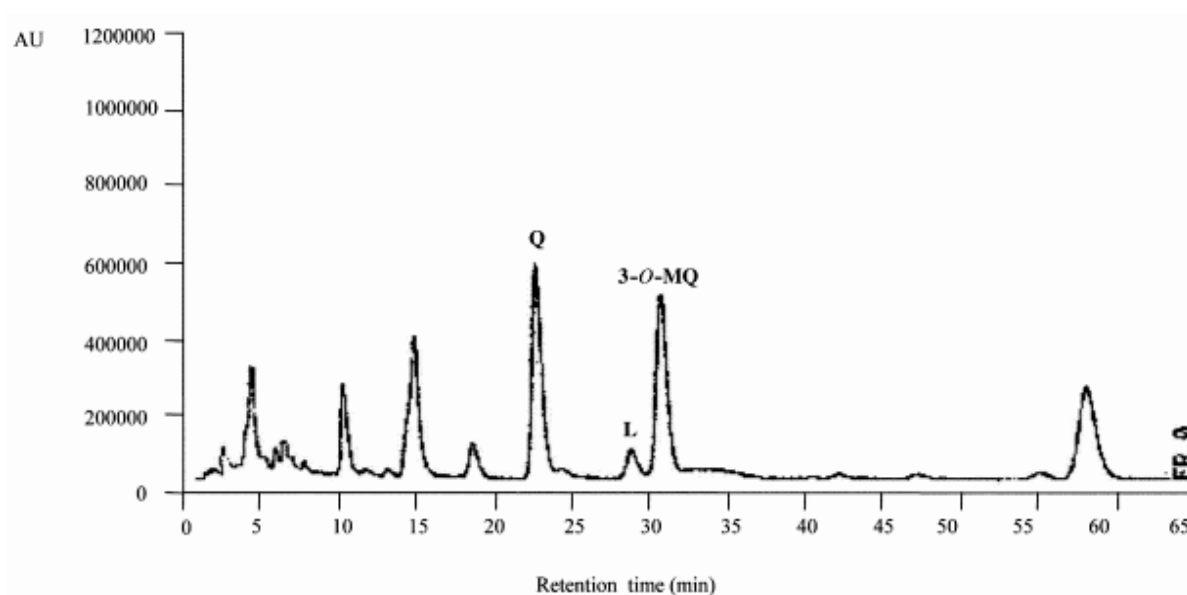
Figura 5 - Estruturas químicas dos flavonoides quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina extraída de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (adaptado de MARQUES & FARAH, 2009; CARINI et al., 2014).



O método mais utilizado para obter dados de substâncias fenólicas dos vegetais é fazendo-se uso do reagente FolinCiocalteu. Trata-se de uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstíco, o qual o molibdênio e o tungstênio estão em estado de oxidação. Na presença de agentes redutores, forma-se o molibdênio e tungstênio azul. Nos vegetais são encontradas muitas estruturas, tais como dos ácidos fenólicos, dos pigmentos hidrossolúveis das flores, dos frutos e das folhas, dos derivados de cumarina, além das ligninas, taninos e polímeros com importantes funções naturais. A concentração de substâncias redutoras pode ser observada pela mudança na coloração, nesta situação, as substâncias de natureza fenólicas (CHAVES et al., 2010).

Martino et al. (1989) determinaram os teores de ácidos cafeicos em infusões e extratos etanólicos dos ramos e inflorescências de *A. satureioides*, *A. alata* e *A. flaccida*. De Souza et al. (2002) quantificaram quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina por meio de cromatografia líquida a partir de extratos das inflorescências de *A. satureioides*. O método mostrou resultados satisfatórios ao separar e quantificar com eficiência os três flavonoides (Figura 6).

Figura 6 - Cromatograma dos flavonoides quercetina (Q), luteolina (L) e 3-O-metilquercetina (3-O-MQ) (adaptado de DE SOUZA et al., 2002).



A quercetina, luteolina e o 3-O-metilquercetina extraídos da macela, são alvos de recentes estudos para o tratamento de câncer (CARINI et al., 2014). Além disso, Carini et al. (2015) conseguiram isolar pela primeira vez a Achyrobichalcona de *A. satureioides* por meio da cromatografia contracorrente de alta-velocidade (*High-Speed Counter-current Chromatography*). Achyrobichalcona é um bioflavonoide recentemente encontrado na macela o qual possui propriedades farmacológicas importantes, tais como anticancerígenas. No entanto, os autores afirmam que maiores estudos clínicos devem ser realizados a fim de comprovar tal propriedade farmacológica.

2.7 Aspectos farmacológicos de *Achyrocline satureioides*

O interesse clínico pelos produtos gerados pela macela é recente, apesar de seus usos na etnofarmacologia serem antigos (BARATA et al., 2009). *A. satureioides* possui atividade antibacteriana (JORAY et al., 2011; 2013), anti-giardia (BRANDELLI et al., 2009), antiviral (SABINI et al., 2011), antioxidante (GRASSI-ZAMPIERON et al., 2009), reduz o colesterol (ESPIÑA et al., 2012) e não apresenta efeito citotóxico e genotóxico em humanos (SABINI et al., 2013).

As propriedades terapêuticas anti-inflamatória e no combate aos distúrbios gastrointestinais podem ser devido a presença de flavonoides, segundo Simões et al. (1988).

As propriedades aromáticas da macela também foram estudadas e Davies e Villamil (2004) projetam grande potencial para a área da perfumaria.

O extrato aquoso dos ramos e o extrato alcoólico das inflorescências apresentam atividade antiespasmódica, fato que pode justificar seu uso na cura de distúrbios gastrointestinais (SIMÕES et al., 1984). Essa atividade farmacológica pode ser atribuída, pelo menos em parte, à presença de quercetina, segundo Simões et al. (1986).

Extratos aquosos das inflorescências apresentaram atividade genotóxica em organismos procarióticos. Essa atividade pode estar relacionada com a presença da quercetina e do ácido cafeico no extrato (FACHINETTO et al., 2007). A quercetina também demonstrou ação anti-inflamatória (SONAGLIO et al., 1986), no entanto, maiores investigações necessitam ser realizadas a fim de desvendar qual o sinergismo envolvido na atuação dos extratos em favor dos tratamentos farmacológicos. ANMAT (2014), por exemplo, não recomenda a administração da infusão para crianças menores de 5 anos.

O extrato etanólico dos ramos e inflorescências foi capaz de promover a morte de *Trypanosoma cruzi* (ROJAS DE ARIAS et al., 1995). A atividade antiviral dos flavonoides da macela foi verificada contra a replicação de alguns vírus (CHE, 1991; AMOROS et al., 1993). Em outro estudo, o extrato etanólico das sementes de macela apresentou eficiência no combate às bactérias *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* (MARTINS et al., 1988; UCHIMA et al., 1999). O extrato das inflorescências apresentou atividade repelente (98,5%) contra insetos (DAL MAGRO et al., 1998). Outras investigações reforçam o uso do extrato da macela como propriedade inseticida (ROJAS DE ARIAS et al., 1995).

Registros etnofarmacológicos indicam diversas propriedades terapêuticas atribuídas à decocção das inflorescências de *A. saturoioides*, como, por exemplo, eficaz no combate a alta pressão arterial e alto colesterol (KOCH, 2000), epilepsia, cólicas de origem nervosa, infecção intestinal e para limpeza de feridas (PIRKER et al., 2012), diarreia (BRANDELLI et al., 2009), como anti-inflamatória e distúrbios gastrointestinais (SIMÕES et al., 1988) e outros (BOLSON et al., 2015).

Os índios Tobas (norte da Argentina) empregavam-na como emagrecedora (PETENATTI et al., 2004). O mesmo uso é divulgado por ervateiros de Porto Alegre (DICKEL et al., 2007). Diversos autores registraram alguns outros usos etnofarmacológicos da macela, tais como: tratamento de problemas gástricos, epilepsia e cólicas de origem nervosa (ALMEIDA, 1993); analgésico, antiespasmódico, disenteria e diarreia (ROCHA, et al., 1994; BOSCOLO & VALLE, 2008); reumatismo, nevralgia, menstruações dolorosas, dores articulares e musculares (PANIZZA, 1998).

Na Argentina, a infusão das inflorescências da macela ajuda na regulação do ciclo menstrual e tratamento da asma (SAGGESE, 1959). No Uruguai, a infusão das inflorescências é utilizada para tratar problemas gastrointestinais, estomacais, digestivos e também é aplicada como sedativa e antiespasmódica (GONZALES, 1993; VENDRUSCOLO et al., 2005). Zayachkivska et al. (2005) relacionam estes efeitos farmacológicos ao conteúdo de flavonoides presentes em alta concentração nas inflorescências da macela, principalmente. Os mesmos autores complementam que a forma de extração destes princípios ativos pode influenciar na atividade farmacológica.

Apesar de não ser comum na literatura trabalhos que tenham estudado as atividades antibacterianas dos óleos essenciais de macela assim como pode ser observado para outras espécies medicinais (PRABUSEENIVASAN et al., 2006), sabe-se que as indústrias farmacêuticas têm buscado novas moléculas capazes de inibir a proliferação ou a morte das bactérias, uma vez que elas possuem, dentre outras capacidades, a de adquirir resistência aos antibióticos sintéticos (NAGAPPAN et al., 2011).

Do Carmo et al. (2015) estudaram as atividades microbiológicas dos óleos essenciais de macela contra o parasita *Trypanosoma evansi*. Os autores administraram via oral para ratos infectados durante cinco dias o óleo essencial puro e nanocápsulas contendo o óleo essencial puro. Os autores concluíram que ambos foram capazes de inibir a atuação do parasita, com destaque para os tratamentos com as nanocápsulas, mas não eliminá-lo completamente. A curiosidade é que ambos os tratamentos foram capazes de diminuir consideravelmente os problemas inflamatórios e de anemia, geralmente recorrentes desse parasita. No mesmo trabalho, os autores identificaram α -pineno, β -ocimeno e β -cariofileno como maiores acúmulos nos óleos obtidos na empresa Mundo dos Óleos S/A (Brasília). Por outro

lado, Sonaglio et al. (1992) não observaram atividades antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli* e *Candida albicans* a partir de amostras de óleo essencial provenientes das inflorescências de macela.

Apesar das comprovações farmacológicas, da diversidade fitoquímica e da ampla utilização da macela pela população, principalmente a do Rio Grande do Sul, ela ainda não faz parte da lista de plantas medicinais de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2009).

A carência de informações científicas sobre as etapas de cultivo de plantas medicinais nativas (CORTÉS et al., 2007), contribui para obtenção de produto vegetal de má qualidade (VEIGA JR., 2008), além de condicionar a coleta indiscriminada (CARVALHO, 2003) e a conseqüente desorganização do mercado de plantas medicinais (FURLAN & GARCIA, 2013) conforme já discutido anteriormente (vide item 1 “Introdução”).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Processo de seleção de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

A cultivar de macela, nomeada de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. cv. CPQBA 2, está registrada no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2015) sob o número 22.975. Essa cultivar foi desenvolvida pelo Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – Universidade de Campinas (CPQBA-UNICAMP).

3.2 Identificação botânica de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

A exsicata de *A. satureioides* cv. CPQBA 2 está depositada no Herbário CPQBA, sob o número 1286.

3.3 Semeadura e repicagem de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Sementes de macela foram obtidas de matrizes cultivadas no CPQBA e semeadas em tubetes, preenchidos com substrato Carolina Soil[®]. Um mês após a semeadura houve a necessidade de efetuar uma repicagem das mudas excedentes devido, principalmente, ao tamanho pequeno das sementes.

Os tubetes foram devidamente acomodados em bandejas contendo 176 células e dispostas nas bancadas em casa de vegetação entre o período de junho a dezembro de 2014 (Figura 7). A irrigação foi efetuada automaticamente mediante sistema de nebulização com o objetivo de manter a umidade relativa do ambiente entre 65 e 75% (MARQUES & BARROS, 2001).

Figura 7 – Mudanças de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 propagadas em tubetes dispostos em casa de vegetação no Departamento de Agronomia (Horticultura), FCA/UNESP, Botucatu - 2014.

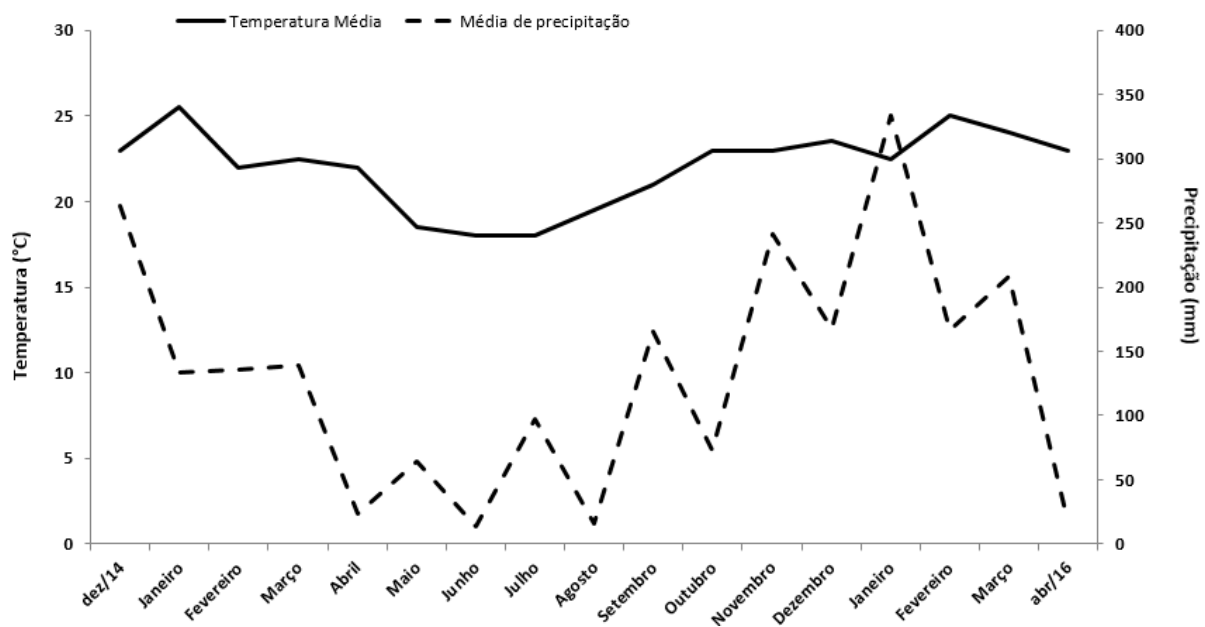


3.4 Caracterização da área experimental

O cultivo foi realizado na Fazenda Experimental de São Manuel (Botucatu), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas (UNESP-FCA), cujas coordenadas geográficas são: 22° 46' S de latitude, 48° 34' W de longitude, e 740 m de altitude. Cunha et al. (2005) analisaram o clima da região entre o período de 1971 e 2005, caracterizando-o como Cwa (Köppen), clima temperado quente (mesotérmico) com chuvas no verão e seca no inverno, e temperatura média anual de 22°C.

Dados de precipitação pluviométrica (mm) e temperaturas médias mensais (°C) da região centro-oeste de São Paulo foram obtidos no banco de dados do BDMEP (Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa) no período de dezembro de 2014 a março de 2016 (Figura 8).

Figura 8 – Temperatura média (°C) e precipitação média (mm) da região de São Paulo, Brasil, de dezembro de 2014 até março de 2016. Fonte: Base de Dados Meteorológicos para Educação e Pesquisa (BDMEP), 2016.



O solo da área (Figura 9) foi classificado como nitossolo vermelho, segundo critérios da Embrapa (2006).

Figura 9 - Área experimental localizada na Fazenda da UNESP, São Manuel, São Paulo, 2014.



Foto: Daniel Garcia - 2014

Amostras de solo foram coletadas, segundo metodologia descrita no Boletim 200 (2014) e enviadas ao Laboratório de Análises de Solo da Faculdade Cantareira (São Paulo - SP) para obtenção dos resultados químicos (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise química do solo da área experimental. UNESP, Campus de São Manuel, Estado de São Paulo, Brasil, 2014.

pH	M.O	P_{resina}	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	
CaCl₂	g/dm³	mg/dm³	-----mmol_c/dm³-----							
5,1	12	41	18	3,2	18	5	26	44	59	
			B	Cu	Fe	Mn	Zn			
			-----mg/dm³-----							
			0,3	0,8	19	8	2			

pH-Potencial hidrogeniônico; **M.O**-Matéria Orgânica; **P**-Fósforo; **H+Al**-Acidez Potencial; **K**-Potássio; **Ca**- Cálcio; **Mg**-Magnésio; **SB** – Soma de Bases; **CTC**-Capacidade de Troca de Cátions; **V%**-Saturação em Bases.

Dentro das condições deste trabalho não houve a necessidade de efetuar calagem, tendo em vista que a análise de solos demonstrou condições adequadas para o cultivo de macela.

3.5 Composto orgânico

O composto orgânico utilizado no experimento foi proveniente da mistura de restos culturais de diversas plantas medicinais da empresa Centroflora (Botucatu) com esterco de curral fornecido pela UNESP (Medicina Veterinária). Uma pilha do composto orgânico foi disposta em ambiente protegido da chuva e revolvida a cada 20 dias para favorecer a correta decomposição do material.

Ao final de cada revolvimento foi efetuada irrigação abundante. Após atingir o ponto de bioestabilização (KIEHL, 2005), ao redor de 3 meses, uma amostra do composto orgânico foi enviada para o Laboratório de Análises de Solo (UNESP) para obtenção dos resultados químicos (Tabela 2; Figura 10).

Tabela 2 - Análise química do composto orgânico utilizado na adubação de plantio e de cobertura. UNESP, *Campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil, 2014.

pH	U65°C	M.O.	C	C/N	N	S	Ca	Mg	K ₂ O	P ₂ O ₅
-----*% ao natural-----										
7,2	46	17	9	8/1	1,10	0,2	1,3	0,4	0,5	0,9
-----mg/kg ao natural-----										
			Mn	Na	Fe	Zn	Cu			
			348	421	6264	100	60			

pH-Potencial hidrogeniônico; **M.O**-Matéria Orgânica; **C**-Carbono; **N**-Nitrogênio; **S**-Enxofre; **P₂O₅**-Óxido de Fósforo; **K₂O₅**-Óxido de Potássio; **Ca**-Cálcio; **Mg**-Magnésio.

*Teores totais

Figura 10 - Baias contendo adubo orgânico utilizado no experimento, FCA/UNESP Botucatu - 2014.



Foto: Daniel Garcia - 2014

Pretozotti e Guarçoni (2013) reforçam que o valor da relação C/N abaixo de 20 indica que o processo de mineralização já está estabilizado, podendo ser aplicado sem o risco de danificar as plantas.

3.6 Delineamento experimental e adubação de cobertura

O uso de um esquema fatorial é importante quando se objetiva investigar as possíveis interações entre os fatores. Segundo Wechesler (1998), o esquema fatorial além de permitir investigar as interações entre os fatores, permite estimar a variância do erro experimental com maior precisão, aumentando a potência dos testes estatísticos. Além disso, são comuns esquemas fatoriais em experimentos agrônomicos. Sendo assim, optou-se neste trabalho pela aplicação do delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial 5x2 para avaliar o efeito do fator níveis de adubo orgânico e do fator espaçamento no cultivo de macela. Os níveis de adubo orgânico foram: 0, 30, 60, 90 e 120 toneladas.ha⁻¹, e os níveis do fator espaçamento foram 50 e 100 cm, entre plantas e entre linhas (Figura 11) com quatro repetições (Figura 12), contendo 12 plantas cada parcela.

Ainda, a fim de avaliar a variação dos teores de fenóis totais e flavonoides durante o período do experimento, procederam-se quatro coletas de amostras dos ramos: 150 (inverno), 240 (primavera), 320 (verão) e 457 (outono) DAT, sendo esta última composta também por amostras das inflorescências.

Ao redor de cada parcela, foi plantada uma linha de macela (bordadura), não considerada para coleta de dados. Para o cálculo dos teores de adubo orgânico incorporados em cada tratamento levou-se em consideração o peso seco do material e o espaçamento de cada parcela do experimento. Cento e vinte dias após o transplântio foi realizada uma adubação de cobertura com o mesmo composto orgânico utilizado na adubação de plantio, porém, diluído em água, na proporção de 50% do valor total inicial referente a cada parcela.

3.7 Instalação e condução do experimento

As mudas foram transplantadas para a área experimental em 19 de dezembro de 2014, com altura média de 30 cm. O processo de transplântio ocorreu no período vespertino, momento em que a temperatura local estava amena, evitando, dessa forma, grande perda de água da planta para o meio ambiente (TAIZ & ZEIGER, 2009).

As parcelas foram irrigadas por sistema de gotejamento em dias secos para evitar a extinção dos ramos apicais causada pelo estresse hídrico, principalmente nos primeiros meses após o transplântio, conforme relatado por Retta et al. (2012). No início da época das águas (de setembro de 2015 a março de 2016), a irrigação foi suspensa devido a robustez da espécie já estabelecida no campo experimental e devido aos altos índices pluviométricos registrados na região.

A manutenção da área experimental ocorreu várias vezes durante o período do experimento para a retirada das plantas concorrentes, como, por exemplo, capins-braquiárias e tiriricas. O material vegetal resultante da capina foi deixado sobre o solo em todas as ocasiões em que este procedimento foi acionado a fim de promover a incorporação dos nutrientes para solo e manter a cobertura como forma de proteção do solo.

3.8 Coleta de dados de altura das plantas

Observou-se que nos primeiros meses após o transplântio, as mudas acamaram por conta dos fortes ventos que atingiram a região. Depois de observado considerável crescimento das plantas (cm), a altura foi registrada a cada 30 dias de junho de 2015 (180 DAT) até março de 2016. Esta variável foi registrada com o uso de uma trena, determinando a distância entre a base e o ponto mais alto da planta.

3.9 Coleta e processamento das amostras para análise de fenóis totais e flavonoides

Foram realizadas 4 coletas dos ramos e uma das inflorescências conforme citado no item 3.6 “Delineamento experimental e adubação de cobertura”, sendo a última também composta pelas inflorescências. Vale lembrar que essas amostras foram coletadas em quatro diferentes idades para investigar a variação dos teores de flavonoides e fenóis totais durante o cultivo. Todas as amostras foram coletadas entre 7:00 e 9:00 horas da manhã, com o auxílio de uma tesoura de poda. A coleta das inflorescências foi realizada com as mãos, destacando as inflorescências dos pedúnculos.

As amostras foram colocadas em sacos de papel do tipo *kraft* e desidratadas em estufa de circulação forçada de ar quente controlado a 40°C, até atingirem peso constante. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para o processo de trituração no laboratório do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, do Instituto de Biociências da Unesp, *campus* de Botucatu.

Todas as amostras foram trituradas separadamente em moinho criogênico *Spex Sample Prep*, modelo *Geno/Grinder 2010*, à temperatura de -196°C.

Cada amostra foi colocada em frasco de policarbonato juntamente com duas esferas de aço inoxidável (modelo 440, sem óleo ou graxa), e devidamente fechado e imerso em nitrogênio líquido durante 2 minutos para o congelamento das amostras.

Posteriormente, 20 amostras de cada vez foram colocadas no aparelho e moídas por um período de 5 minutos, com rotação de 920 rpm em alta frequência, para obtenção de material homogêneo, com aspecto de talco (LICATTI, 1997; DUCATTI, 1999). Após esse processo, as amostras foram colocadas em *ependorfs* e armazenadas em local com ausência de luz.

As amostras foram enviadas para o Laboratório de Fitoquímica (departamento de Química e Bioquímica), do Instituto de Biociências (IBB) da UNESP.

3.10 Colheita, secagem e armazenamento

Dados da literatura científica sugerem a colheita das inflorescências da macela entre o verão e o outono (ALMEIDA, 1993; SARTÓRIO et al., 2000). No presente estudo, a colheita foi realizada aos 457 DAT (Março de 2016), momento em que todas as plantas apresentavam inflorescências. Além disso, apesar da crença sobre o horário da colheita, decidiu-se no presente trabalho efetuar a colheita no período matutino.

A colheita foi dividida em três etapas. A primeira foi a colheita total das inflorescências, na segunda etapa ocorreu a colheita parcial dos ramos e a terceira etapa foi constituída pela colheita do restante dos ramos. A primeira e a segunda etapa ocorreram no mesmo dia (457 DAT), sendo esse material, após a secagem, destinado para extração de óleo e para análises de atividade antibacteriana, flavonoides, polifenóis e fenóis totais. A terceira etapa ocorreu durante a semana subsequente, e o seu conteúdo utilizado apenas para calcular a quantidade total de biomassa.

As colheitas divididas em três etapas possibilitaram a secagem de todas as amostras de forma organizada. Destaca-se que a colheita dos ramos durante a segunda etapa ocorreu de forma aleatória dentro de cada parcela, com o auxílio de uma tesoura de poda, na tentativa de homogeneizar o máximo possível o material suficiente para a extração de óleo e demais análises.

Na terceira etapa da colheita fez-se uso de uma serra aplicando como altura de corte padronizada em 70 cm acima do solo, possibilitando dessa forma coletar todos os ramos nos quais ainda haviam folhas.

As partes vegetais colhidas foram colocadas em sacos de papel do tipo *kraft* antes da secagem. Todas as amostras foram desidratadas em estufas de circulação forçada de ar com temperatura controlada a 40°C até atingirem peso constante (BRASIL, 2006). Após a secagem procedeu-se o cálculo de biomassa seca das inflorescências e dos ramos.

O armazenamento das amostras foi realizado com o uso de sacos com dupla camada de papel do tipo *Kraft*, para evitar a exposição à luz, e uma camada interna de polietileno atóxico para evitar a reidratação do material vegetal (BRASIL, 2006).

3.11 Extração e análise fitoquímica dos óleos essenciais

3.11.1 Extração e cálculo do teor (%) de óleo essencial (%)

Os óleos essenciais dos ramos e das inflorescências foram obtidos separadamente por hidrodestilação, em aparato do tipo Clevenger (CRAVEIRO et al., 1981), fazendo-se uso de 90 g de biomassa desidratada submersas em água deionizada contida em balão volumétrico de fundo redondo (2L) em manta com aquecimento de 80°C (Figura 13).

Figura 13 - Clevengers contendo inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 no processo de extração de óleo essencial, Laboratório de Plantas Medicinais, Departamento de Agronomia (Horticultura), FCA/UNESP, Botucatu – 2016.



Após duas horas de hidrodestilação, contados a partir da condensação, o óleo essencial foi coletado com o auxílio de uma pipeta de *Pasteur* e armazenado em *ependorfs* devidamente identificados. Em seguida, foi realizado o cálculo do teor de óleo seguindo a fórmula:

$$\text{Teor (\%)} = \frac{\text{Peso de óleo obtido (g)}}{90 \text{ g}} \times 100$$

Os frascos contendo óleo foram protegidos com auxílio de papel alumínio, a fim de evitar a fotodegradação das substâncias contidas no óleo. Em seguida todas as amostras foram acondicionadas em freezers do Laboratório de Plantas Medicinais da Faculdade de Ciências Agronômicas (UNESP-Botucatu).

O óleo essencial resultante das extrações foi enviado ao Laboratório da Escola de Agricultura e Biologia Universidade de Xangai Jiao Tong (China). Todas as amostras de material vegetal enviados para fora do país foram acompanhadas de um formulário disponibilizado no site do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e que autoriza o transporte de amostra de componente do patrimônio genético, exclusivo para amostras usadas em projetos de pesquisa sem potencial de uso econômico e que não requeira depósito definitivo da amostra ou parte da mesma na instituição onde foi realizada a pesquisa (anexo 1).

3.11.2 Análise fitoquímica dos óleos essenciais

As análises fitoquímicas dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório da Escola de Agricultura e Biologia da Universidade de Xangai Jiao Tong, China, em parceria com a Profa. Dra. Dafeng Huang e Profa. Dra. Yani Wu.

Volume de 15 µL do óleo essencial foram solubilizados em 1 mL da mistura de etanol e hexano (1:1 v/v, Anpel China, grau cromatográfico). A análise foi realizada em cromatógrafo a gás 7890A acoplado com um espectrômetro de massa 5975C (Agilent Inc., CA, EUA). Utilizou-se uma coluna capilar DB-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) da Agilent para separar as substâncias. A entrada do injetor foi aquecida a 270°C e as injeções (1 µL) foram realizadas com uma razão de divisão de 5:1. Utilizou-se gás hélio (pureza >99,999%) como gás transportador a um fluxo constante de 1 mLmin⁻¹. A temperatura da coluna foi mantida a 50°C durante 3 min, depois aumentada para 190°C a 3°C min⁻¹ e depois para 290°C a 20°C min⁻¹. O tempo total de execução foi de 55 min para cada amostra. As temperaturas da linha de transferência, da fonte de íons e do quádruplo, foram mantidas a 280, 230 e 150°C, respectivamente. As ionizações por impacto de elétrons foram registrados

com uma energia de ionização de 70 eV e tensão EM de 2200V. Os espectros de massa foram examinados de 33 a 500 *amu* no cromatograma de íons totais (CIT) para identificar as substâncias nas misturas e amostras padrão. O software MSD ChemStation (versão E.02.02.1431) foi utilizado para analisar os dados. As substâncias foram identificadas por meio da comparação de espectros de massa (modo SCAN), com os dados de base NIST 11. Quando não estava disponível referência, a identificação foi realizada comparando os índices de retenção e os espectros de massa no Adams (2007).

3.12 Extração e análise de flavonoides, polifenóis, fenóis totais e atividade antibacteriana

As extrações e análises dos flavonoides, polifenóis e fenóis totais das amostras dos ramos e das inflorescências foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica (departamento de Química e Bioquímica), do Instituto de Biociências (IBB) da UNESP, em parceria com a Profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima e sua equipe.

Para as análises de flavonoides e fenóis totais foram feitas quatro coletas. A última não só dos ramos, mas também das inflorescências, onde em seguida foram desidratadas e trituradas em moinho até nível de pó (LICATTI, 1997; DUCATTI, 1999).

As análises de atividades antibacterianas de amostras do óleo das inflorescências foram realizadas em parceria com o prof. Dr. Ary Fernandes Junior (Instituto de Biociências de Botucatu) e sua equipe no Departamento de Microbiologia e Imunologia (UNESP).

3.12.1 Flavonoides

A determinação dos flavonoides dos ramos e das inflorescências foi realizada em triplicata de acordo com o método espectrofotométrico adaptado de Dos Santos e Blatt (1998). A extração foi realizada de acordo com o método de Awad et al. (2000), segundo adaptações de Popova et al. (2004). Em triplicatas contendo 30mg de cada amostra foram adicionados 4 mL de metanol acidificado a 10% em tubos de centrífuga. As amostras foram levadas para banho ultrassônico durante 30 minutos,

e após esse período, foi adicionado ao conteúdo, 1 mL cloreto de alumínio a 5%. As amostras ficaram acondicionadas em ambiente livre de luz por 30 minutos. Em seguida, foram centrifugadas por 5 minutos a 6000 × g. As leituras foram realizadas a 425 nm e os resultados expressos em “µg” equivalente de quercetina por “g⁻¹” de massa seca.

3.12.2 Fenóis totais

A determinação espectrofotométrica dos fenóis totais foi realizada de acordo com metodologia descrita por Singleton e Rossi Jr. (1965) utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. A curva de calibração foi obtida fazendo-se uso de três diluições de ácido gálico (0-30 mg.L⁻¹). As amostras de ramos e inflorescências de macela na forma de pó (20 mg) foram submetidas ao mesmo procedimento. As mensurações das absorbâncias em função da concentração foram feitas em espectrofotômetro UV (BEL-2000) a 765 nm, em triplicata. A equação da curva de calibração foi obtida através de regressão linear da absorbância/concentração de equivalentes de ácido gálico. Os resultados foram expressos em “mg” de equivalente de ácido gálico por 100 g de massa seca.

3.12.3 Polifenóis (UPLC)

As amostras foram extraídas a partir de 30 mg de ramos de macela e 10 mg de inflorescências, separadamente. Foram adicionados 4 mL de metanol (grau HPLC) acidificado a 10% em tubo de centrífuga contendo as amostras e levadas para banho ultrassônico durante 30 minutos, sendo por último acondicionadas em ambiente livre de luz por 30 minutos. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm, por 30 minutos a 4°C (Millipore 0,22 µm filter) e filtradas, seguindo o método adaptado de Escarpa e González (1999). Volume de 20 µL da amostra foi injetado no sistema Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 (MA, USA), acoplado a uma bomba quaternária, um amostrador automático Ultimate 3000RS e um detector de diodos (DAD - 3000RS).

Os polifenóis foram separados em uma coluna C18 (4,6 × 250 mm; 5 µm) a 25°C. A taxa de fluxo foi de 0,8 mL min⁻¹ e a fase móvel utilizada foi de ácido fosfórico 0,85% (solvente A) e acetonitrila (solvente B). O sistema foi operado com o seguinte

programa de gradiente de eluição: 0-2 min, 0% B; 2-3 min, 7% B; 3-5 min, 9% B; 5-7 min, 10% B; 7-8,5 min, 12% B; 8,5-10,5 min, 13% B; 10,5-11min, 14% B; 11-12,5 min, 15% B; 12,5-13 min, 20% B; 13-14 min, 21% B; 14-15 min, 23% B; 15-17 min, 25% B; 17-19min, 30% B; 19-22 min, 45% B; 22-23 min, 65% B; 23-24 min, 75% B; 24-24,5 min, 30% B e 24,5-26 min 100% A.

Os polifenóis foram quantificados pela determinação das áreas de pico sob a curva no UPLC calibrado contra as quantidades conhecidas de padrões comerciais de ácido cafeico (320 nm), ácido trans-ferúlico (320 nm), quercetina (360 nm), luteolina (360 nm), rutina (360 nm) e 3-O-metilquercetina (360 nm), por meio do software Dionex Chromeleon. Software MSD ChemStation (versão E.02.02.1431) foi usado para analisar dados totais.

3.12.4 Atividade antibacteriana

Para a análise de atividade antibacteriana foram utilizadas amostras dos óleos essenciais extraídos das inflorescências de macela. Testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram realizados através da metodologia da microdiluição de 2,4 to 5000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, (*Resazurin Microtiter Assays* - REMA). O óleo essencial das inflorescências foi testado sobre duas linhagens bacterianas, sendo uma Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina - MRSA – ATCC 33591) e uma Gram-negativa (*Escherichia coli* ATCC 43895). As linhagens foram cultivadas em meio *Brain Heart Infusion* (37°C/24 horas) e, após padronização na escala 0,5 de MacFarland (105 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL) foram inoculadas nas placas de diluição de 96 poços contendo meio de cultura Muller Hinton, junto do volume de óleo relativo a cada concentração a ser testada. No controle foi adicionado ciprofloxacina (1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A verificação de crescimento bacteriano foi realizada com a adição de 50 μL de resazurina (0,01%).

3.13 Análises estatísticas

Os dados das análises foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste t Student ($p \leq 0,05$). No caso das idades foi realizada uma análise conjunta para analisar a significância dos dados de flavonoides e fenóis totais entre os três fatores: teores de adubo, espaçamentos e as 4 idades. Nos casos de significância para o fator adubação, foi realizada análise de regressão polinomial de 2º, a fim de facilitar a visualização dos resultados.

Chew (1976) recomenda que para fatores quantitativos, quando não há interação significativa entre os fatores analisados, como os teores de adubo e os espaçamentos no presente estudo, a análise de regressão é a técnica mais apropriada para o pesquisador inferir sobre os resultados do desdobramento. Rumsey (2009) explica que em experimentos fatoriais, quando há diferença estatística significativa entre grupos ou entre tratamentos, deve-se obrigatoriamente inferir que essas diferenças não são atribuídas ao acaso (ou ao erro, ou aos fatores não controlados), mas sim aos efeitos de alguns dos tratamentos testados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

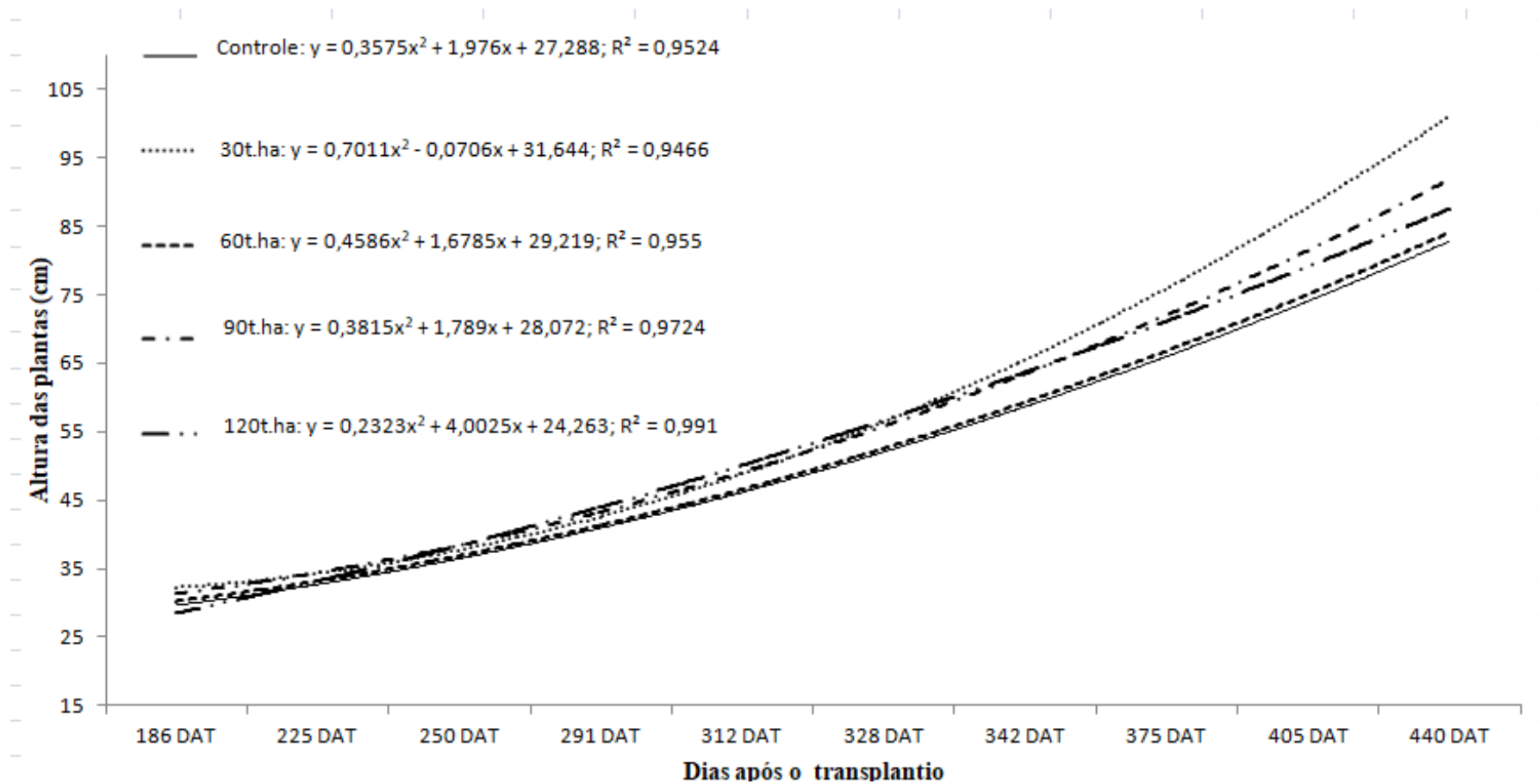
Vale destacar a escassez de dados agronômicos e fitoquímicos disponíveis na literatura científica sobre macela, que de certa forma limitou as comparações entre os resultados obtidos no presente estudo, também foi detectada por outros pesquisadores (RETTA et al., 2012; CARINI et al., 2014; VIEIRA et al., 2015).

4.1 Altura de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Iniciou-se o processo de mensuração da altura da macela desde o início do cultivo. No entanto, por conta da acamação, decorrente dos fortes ventos na região foi detectado baixo crescimento até 186 DAT. Sendo assim, optou-se por incluir neste trabalho apenas os dados do momento em que de fato observou-se crescimento significativo. Segundo Retta, et al. (2012), este período pode ser explicado devido ao momento de aclimatação da macela.

A figura 14 demonstra o crescimento quadrático da altura das plantas de 186 DAT até 440 DAT. O tratamento 30 t ha⁻¹ ($R^2=0,9466$) se destacou com maior altura final (110,89 cm).

Figura 14 - Altura das plantas (cm) dias após o transplântio (DAT), cultivadas sob cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP, 2014 - 2016.



A análise de variância da altura final não indicou efeito significativo para interação entre os dois fatores analisados (Tabela 3).

Tabela 3 - Quadro de análise de variância em experimento fatorial da altura final de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	4713.42142	1178.35536	2.6027ns
Fator 2 (espaçamento)	1	1845.87738	1845.87738	4.0771ns
Interação F1 x F2	4	2318.30271	579.57568	1.2801ns
Tratamentos	9	8877.60151	986.40017	2.1787ns
Blocos	3	1094.20863	364.73621	0.8056ns
Resíduo	27	12224.02004	452.74148	
Total	39	22195.83018		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

No entanto, apesar do quadro de análises não indicar efeito significativo a tabela 4 apresenta resultados da influência de cada fator sobre a altura final das plantas analisados separadamente. Pode-se observar que houve destaque, apesar do R^2 demonstrar valor de confiabilidade moderada ($R^2 = 0,51$), apenas para o fator adubação, sendo 110,89 cm (30 t ha^{-1}) a média final que se destacou (Figura 15).

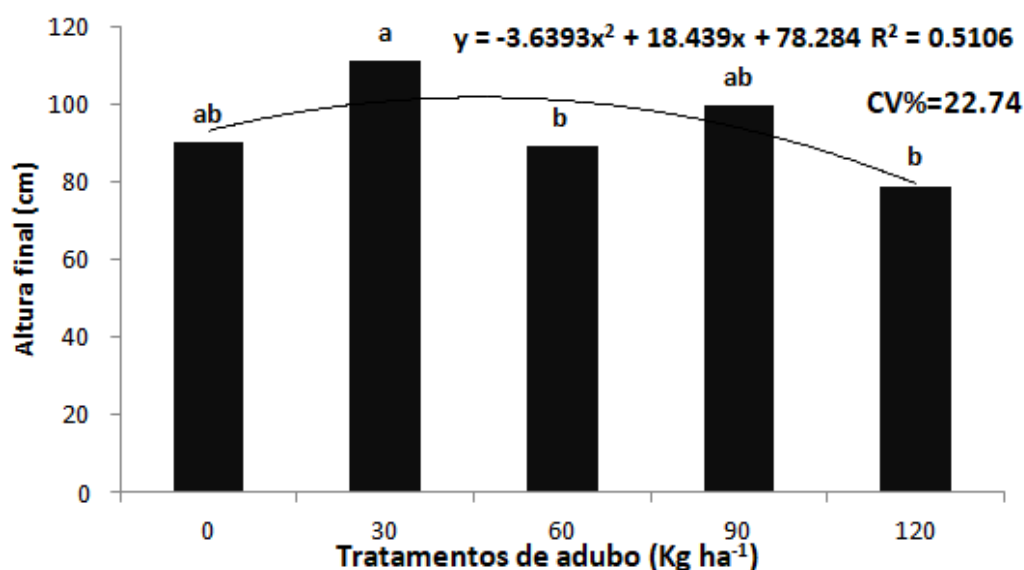
A altura máxima atingida foi de 188 cm no tratamento 30 t ha^{-1} (0,50 cm).

Tabela 4 - Alturas finais das plantas de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Altura	Espaçamento	Altura
t ha⁻¹	cm	cm	
0	89,92 ab	50	100,36 a
30	110,89 a	100	86,78 a
60	88,97 b	DMS	13,79
90	99,36 ab		
120	78,70 b		
DMS	21,80		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 15 - Alturas finais das plantas de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 submetidas a regressão polinomial de 2° grau, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Ajalla et al. (2009) estudaram a produtividade da macela (*A. satureioides*) em cultivo solteiro e consorciado com tansagem (*Plantago major*). As colheitas foram realizadas em três idades: 180, 210 e 225 DAT. Os autores não detectaram diferenças estatísticas entre os tratamentos em relação à altura média das plantas de macela em cultivo solteiro, sendo 68 cm a maior altura detectada. Já Vieira et al. (2001), ao estudarem o crescimento e o desenvolvimento de macela em função de

três espaçamentos (40; 50; e 60 cm) e dois arranjos (duas e três fileiras), detectaram altura na colheita (240 DAT) de 151 cm no tratamento 40 cm e 178 cm no tratamento 50 cm.

Mota et al. (2011b) testaram a produtividade do cultivo solteiro e consorciado de alface (*Lactuca sativa* L.) e macela (*A. saturoioides*). Os autores não detectaram diferença estatística significativa para altura das plantas de macela entre os espaçamentos testados em cultivo solteiro entre plantas e linhas: 35 cm (120 cm) e 50 cm (112 cm).

Atingir maiores produtividades e aproveitar melhor os nutrientes do solo em espaçamento adequado entre plantas são alguns dos objetivos dos cultivos agrícolas planejados. No entanto, cultivos adensados podem promover condições de maior umidade, sombreamento e temperaturas mais amenas, o que torna o ambiente altamente favorável para o surgimento de problemas fitossanitários como a ferrugem, além de culminar em maior competição entre plantas vizinhas por nutrientes, água e luz (BRASIL, 2006).

Para algumas espécies medicinais, como a *Plantago major*, a altura das plantas é de grande importância visto que no processo de colheita, a qual é feita manualmente, as maiores alturas podem facilitar a colheita e, conseqüentemente proporcionar maior rendimento de biomassa (MOTA et al., 2008). Além disso, Chen et al. (2015) lembra que a complexidade envolvida nos estudos de densidades vai além dos fatores ambientais e agrônômicos, mas também deve-se levar em consideração a genética das espécies avaliadas.

4.2 Biomassa seca das inflorescências de *Achyrocline saturoioides* cv. CPQBA 2

A colheita das inflorescências ocorreu 457 DAT (Figura 16).

Figura 16 – Plantas de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 no estágio de desenvolvimento, Fazenda Experimental da UNESP (FCA), São Manuel - 2016.



Não houve diferença estatística significativa na interação entre os fatores estudados para biomassa das inflorescências e nem para o fator adubação (Tabela 5). No entanto, a mesma tabela 5 e a tabela 6 demonstram que houve diferença estatística para o menor espaçamento ($1267,33 \text{ kg ha}^{-1}$) quando esse fator foi analisado independentemente da interação.

Tabela 5 - Análise de variância da biomassa seca das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	195189.31990	48797.32998	0.2208 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	2596334.77749	2596334.77749	11.7482 **
Interação F1 x F2	4	231292.48539	57823.12135	0.2616 ns
Tratamentos	9	3022816.58278	335868.50920	1.5198 ns
Blocos	3	246463.07598	123231.53799	0.5576 ns
Resíduo	27	3977962.61460	220997.92303	
Total	39	7247242.27336		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Tabela 6 - Biomassa das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Biomassa	Espaçamento	Biomassa
t ha⁻¹	Kg ha⁻¹	cm	Kg ha⁻¹
0	937,41 a	50	1.267,33 a
30	1.092,01 a	100	678,96 b
60	876,10 a	DMS	360,48
90	1.041,79 a	CV (%)	22,85
120	918,42 a		
DMS	569,97		
CV (%)	22,85		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade

Uma das hipóteses deste trabalho para o fator espaçamento ter apresentado diferença significativa é que em um espaçamento mais amplo, a planta tende a tornar-se mais prostrada, o que é característico, neste caso, da macela (RETTA et al., 2012). Na medida em que se aumenta a densidade de plantas no campo, naturalmente existe a tendência no desenvolvimento vertical por causa da competição por luz, principalmente (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; MMA, 2011).

Segundo Reis et al. (2007), a macela é uma espécie bem adaptada às condições de solos pobres em nutrientes e, como planta rústica, todas as condições de nutrição e irrigação que lhe forem fornecidas poderão resultar em maior produção.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os resultados encontrados por outros autores que trabalharam com espécies medicinais, onde relataram que menores espaçamentos produziram maiores quantidades de biomassa seca [MARCO et al., 2006 (*Cymbopogon winterianus*); WANDERER & BARROS, 2007 (*Melissa officinalis*); BLANK et al., 2007 (*Cymbopogon citratus*); CASTOLDI et al., 2009 (*Glycine max*); FAVORITO et al., 2011 (*Ocimum basilicum*)].

Por outro lado, Ajalla et al. (2009) não encontraram diferenças estatísticas significativas na produção de biomassa de macela sob dois espaçamentos (0,25 × 0,25 e 0,4 × 0,4 m). Em outro trabalho, a biomassa seca das inflorescências nos tratamentos com distância entre plantas e linhas de 1,0 × 1,0 m foi de 336 a 570 kg ha⁻¹, respectivamente (MAGALHÃES, 2000). Davies (1999) estudou a produção de

macela no Uruguai em duas densidades ($0,30 \times 0,30$ e $0,45 \times 0,45$ m) e obteve o teor de biomassa seca das inflorescências variando de 1218 a 920 kg ha⁻¹ no primeiro ano e, 540 a 897 kg ha⁻¹ no segundo ano.

Vieira et al. (2015) investigaram a biomassa seca das inflorescências de macela em resposta a quatro níveis de P₂O₅ (0, 100, 200 e 300 kg ha⁻¹) e dois níveis de cama de frangos de corte (0 e 10 t ha⁻¹). O rendimento máximo de biomassa seca das inflorescências aos 223 DAT foi maior em relação ao presente estudo e os demais resultados disponíveis na literatura. Os autores encontraram 2,38 t ha⁻¹ de biomassa seca das inflorescências desidratada na associação entre a cama de frangos de corte (10 t ha⁻¹) e o superfosfato triplo (300 kg ha⁻¹). Neste estudo, os autores reforçam a importância do elemento químico fósforo na adubação, além dos benefícios da adubação orgânica no desenvolvimento do sistema radicular, aumentando assim a absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, a qualidade e o rendimento dos produtos colhidos.

Valadares et al. (2010) estudaram adubação orgânica (esterco bovino curtido) em três doses (3, 6 e 9 kg m⁻²) mais o controle (0 kg m⁻²) para a produção de capítulos florais de calêndula (*Calendula officinalis*). Os autores observaram aumento linear de biomassa de capítulos florais em função das doses crescentes de adubação. Oliveira e Innecco (2015) testaram doses de adubação orgânica (0; 2; 4 e 8 t ha⁻¹) e três espaçamentos ($1,0 \times 1,0$, $1,0 \times 0,50$ e $0,50 \times 0,50$ m) em cultivo de jambu (*Acmella oleracea*) e observaram que o menor espaçamento e dose de 40 t ha⁻¹ de adubo orgânico foram capazes de atingir níveis adequados de produção de capítulos florais, parte comercial da planta.

Munarin et al. (2010) investigaram a produção de biomassa desidratada de folhas de bardana (*Arctium lappa*) em função de diferentes espaçamentos. Os autores observaram que no menor espaçamento (40 cm) houve maior acúmulo de biomassa, sendo que o maior espaçamento (70 cm) induziu a redução na produção. No entanto, Larcher (2000) recomenda que a alta densidade do plantio possa favorecer a produtividade de diversas espécies vegetais, desde que não afete a produção e a partição de metabólitos.

Do ponto de vista econômico, percebe-se que as inflorescências de macela desidratadas são altamente valorizadas no mercado assim como mostra na tabela 7, o valor de compra das inflorescências de macela em quatro empresas brasileiras.

Tabela 7 - Valores de compra no mercado brasileiro das inflorescências desidratadas de macela.

Empresa	Valor cobrado
Beleza da terra*	R\$ 78,00/Kg
Chamel	R\$ 103,50/Kg
Semente Rara	R\$ 400,00/Kg
Kampo de Ervas	R\$ 456,66/Kg

*inflorescências de macela em forma de pó

Estes dados podem ser considerados de grande interesse para produtores interessados em produzir macela. Essa base de valores extrapolada para a produção obtida no presente estudo poderia gerar um lucro visível para o produtor que porventura opte pelo processamento do material na propriedade.

4.3 Biomassa seca dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Não foi observada diferença estatística significativa na interação entre os fatores agronômicos estudados para esta variável (Tabela 8). No entanto, observa-se diferença estatística significativa para o fator espaçamento.

Tabela 8 - Análise de variância da biomassa seca dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	188683944.9117	47170986.2279	0.9207 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	343571463.2017	343571463.202	6.7061*
Interação F1 x F2	4	208861678.2825	52215419.5706	1.0192 ns
Tratamentos	9	741117086.3959	82346342.9329	1.6073 ns
Blocos	3	29497430.03130	14748715.0157	0.2879 ns
Resíduo	27	922191319.7653	51232851.0981	
Total	39	1692805836.192		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

A tabela 9 apresenta os resultados significativos quando o fator adubação foi estudado separadamente do fator espaçamento. Também houve diferença para o fator espaçamento quando analisado separadamente do fator adubação.

Tabela 9 - Biomassa seca dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

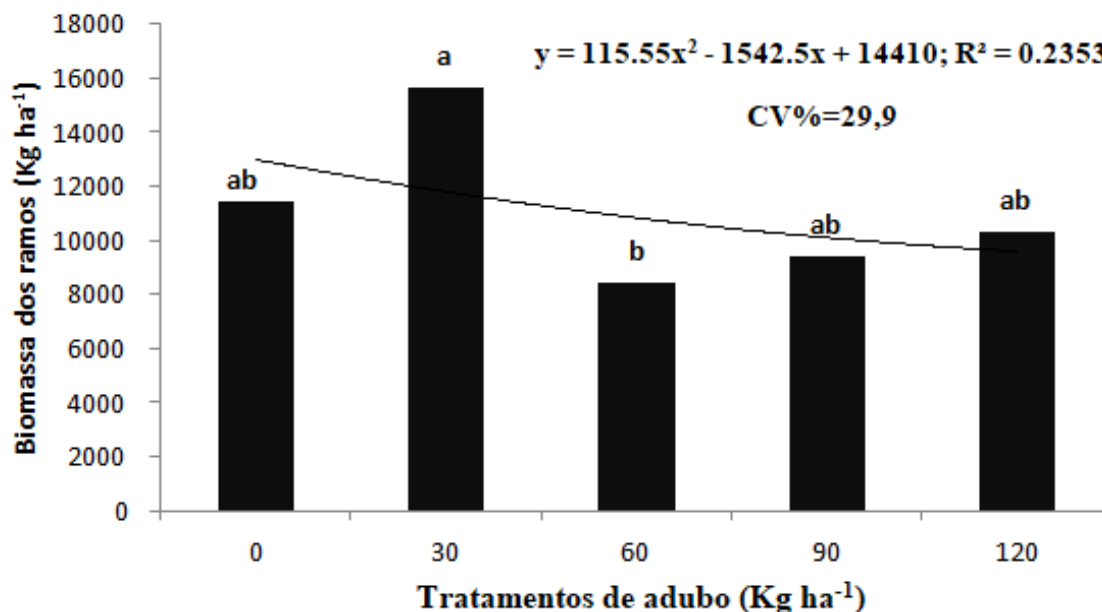
Adubação	Biomassa	Espaçamento	Biomassa
t ha⁻¹	Kg ha⁻¹	cm	Kg ha⁻¹
0	11.445,65 ab	50	14.437,25 a
30	15.656,19 a	100	7.668,97 b
60	8.438,28 b	DMS	4.335,51
90	9.397,14 ab		
120	10.328,29 ab		
DMS	6.855,45		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Pode-se observar na figura 17 que apesar do baixo valor de confiabilidade ($R^2 = 0,2353$) houve destaque para o tratamento 30 t ha⁻¹ (15.656,19 kg ha⁻¹). Além disso, observa-se que a média do menor espaçamento apresentou quase o dobro de

biomassa dos ramos ($14.437,25 \text{ kg ha}^{-1}$) sendo significativo em relação ao maior espaçamento avaliado ($7.668,97 \text{ kg ha}^{-1}$).

Figura 17 – Biomassa seca dos ramos (Kg ha^{-1}) de *Achyrocline saturoioides* cv. CPQBA 2 submetida a análise de regressão polinomial de 2º, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Devido à escassez de dados científicos sobre a produtividade de biomassa de ramos da macela, não foi possível fazer maiores comparações entre os resultados obtidos no presente estudo com os disponíveis na literatura.

Ajjala et al. (2009) encontraram $8,67 \text{ t ha}^{-1}$ (180 DAT); $7,94 \text{ t ha}^{-1}$ (210 DAT); e $6,49 \text{ t ha}^{-1}$ (225 DAT) de biomassa de ramos desidratados de macela. Vieira et al. (2015) encontraram respostas diferente de biomassa seca dos ramos em relação ao presente estudo, onde aos 195 DAT os autores obtiveram $24,5 \text{ t ha}^{-1}$ e na segunda colheita, aos 223 DAT, colheram $30,31 \text{ t ha}^{-1}$ com o uso de $300 \text{ kg ha}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$. No mesmo trabalho, os autores efetuaram o corte rente ao solo, podendo ser esse um dos motivos pelos quais tenham colhido valores maiores em relação ao presente estudo.

No presente estudo, acreditou-se não ser válida efetuar a colheita da macela rente ao solo devido a escassez de evidências científicas que justifiquem a colheita dessa parte vegetal, podendo neste caso, até ser desvantajoso para o produtor rural

por conta do peso e transporte desse material para secagem, além da falta de mercado para esse produto e contaminação do material com terra e outras sujidades.

4.4 Teor de óleo essencial das inflorescências 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Apesar do quadro de análises (Tabela 10) não demonstrar valores significativos entre os tratamentos, percebe-se na tabela 11 que a macela não é exigente a altos níveis de adubo orgânico para acumular teores significativos de óleo essencial nas inflorescências (0,29%). Este resultado é de interesse para produtores rurais já que não há necessidade de efetuar adubação em níveis elevados. No entanto, o valor de confiabilidade do resultado é considerado baixo ($R^2=0,23$) conforme mostra a figura 18.

Tabela 10 - Análise de variância do teor de óleo essencial das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	0.01702	0.00425	1.6056 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	0.00139	0.00139	0.5237 ns
Interação F1 x F2	4	0.00448	0.00112	0.4226 ns
Tratamentos	9	0.02288	0.00254	0.9596 ns
Blocos	3	0.00814	0.00271	1.0244 ns
Resíduo	27	0.07153	0.00265	
Total	39	0.10256		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

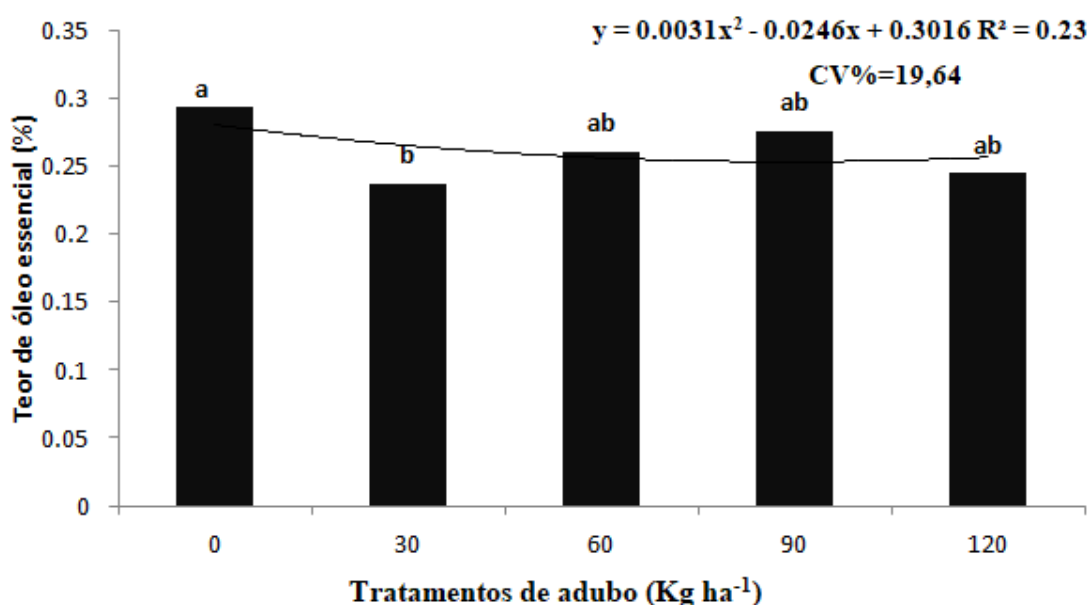
ns não significativo ($p \geq .05$)

Tabela 11 - Teor (%) de óleo essencial extraído das inflorescências 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha ⁻¹	%	cm	%
0	0,2935 a	50	0,2611 a
30	0,2366 b	100	0,2679 a
60	0,2602 ab	DMS	0,033
90	0,2753 ab		
120	0,2444 ab		
DMS	0,052		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 18 – Teores (%) de óleo essencial extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, submetidos a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Produtores interessados no óleo da macela proveniente das inflorescências podem adensar o cultivo aos níveis de 50 cm entre plantas e entre linhas, visto que não houve diferença estatística entre os tratamentos quando analisados separadamente do fator adubação.

Diversos trabalhos que estudaram os mesmos fatores para outras espécies vegetais também relatam que menores espaçamentos são capazes de induzir maiores teores de óleos essenciais, tais como: *M. officinalis* L (WANDERER & BARROS, 2007); *G. max* L (CASTOLDI et al., 2009) e *O. basilicum* L (FAVORITO et al., 2011).

Davies (1999) obteve 0,75% de óleo essencial das inflorescências da macela silvestre. Gillij et al. (2008) obtiveram diferentes rendimentos de óleo essencial em diferentes regiões de coleta, sendo 0,84% o maior e 0,24% o menor rendimento. Em um experimento parecido, Labuckas et al. (1999) detectaram teor abaixo de 0,2%. Lamaty et al. (1991) obtiveram baixos valores para o teor de óleo essencial (0,4%) extraídos via hidrodestilação para amostras de macela compradas em mercados brasileiros. Yamane et al. (2016) extraíram teor de 0,04% de óleo essencial de amostras de *A. saturoioides* cv. CPQBA-2. Os autores justificam o baixo teor, geralmente encontrado na literatura entre 0,2 e 0,8% (RETTA et al., 2012), devido ao período da colheita, tipo de solo e região de cultivo, mas notadamente os autores não identificaram qualquer problema no rendimento relacionado às características genéticas da cultivar.

Cezarotto et al. (2011) investigou a variação do teor de óleo essencial durante as estações climáticas e concluiu que o maior teor foi obtido na primavera (0,10%). O trabalho reiterou o que a ciência já havia compreendido sobre as variações nos teores fitoquímicos frente à sazonalidade (GOBBO-NETO & LOPES, 2009).

4.5 Teor de óleo essencial dos ramos de *Achyrocline saturoioides* cv. CPQBA 2

As tabelas 12 e 13 revelam que houve diferença estatística significativa apenas para o fator adubação entre os tratamentos, sendo o tratamento 30 t ha⁻¹ (0,1086%) o que apresentou resultados satisfatórios em relação aos demais (R²=0,782; Figura 19).

Tabela 12 – Teores (%) de óleo essencial extraído dos ramos 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	0,1033 b	50	0,0977 a
30	0,1086 a	100	0,0933 a
60	0,0911 bc	DMS	0,00851
90	0,0899 bc		
120	0,0849 c		
DMS	0,01345		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 13 - Análise de variância do teor de óleo essencial dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

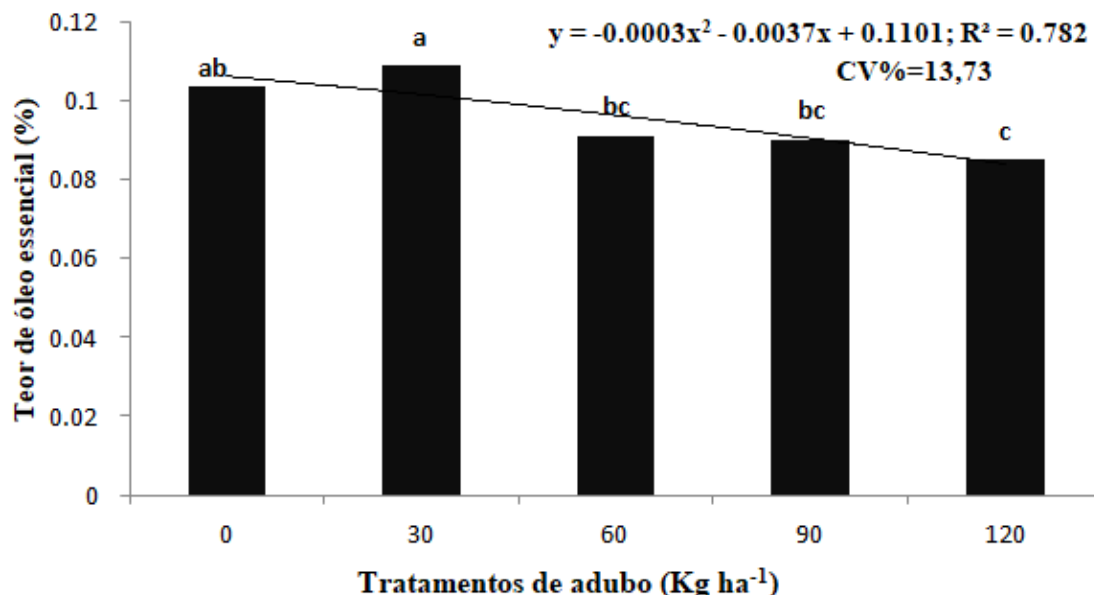
FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	0.00316	0.00079	4.5915**
Fator 2 (espaçamento)	1	0.00019	0.00019	1.1323 ns
Interação F1 x F2	4	0.00101	0.00025	1.4595 ns
Tratamentos	9	0.00436	0.00048	2.8151*
Blocos	3	0.00086	0.00029	1.6740 ns
Resíduo	27	0.00465	0.00017	
Total	39	0.00988		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Figura 19 – Teores (%) de óleo essencial extraído dos ramos 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Uma hipótese para este trabalho ter obtido baixo teor de óleo essencial nas inflorescências pode estar relacionada com o fator genético aliado a época de colheita. O acúmulo de óleo essencial em diferentes teores e partes da planta é uma característica natural dos vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2009), sendo facilmente observada nas espécies aromáticas (MASSETO et al., 2011). As alterações nos teores de óleos essenciais podem estar relacionadas com as reações químicas reguladas pelo nível de expressão gênica e/ou atividade das enzimas regulatórias no que diz respeito à síntese de óleo (GERSHENZON et al., 2000).

Sabe-se que entre algumas das funções ecológicas dos óleos essenciais, uma das mais importantes é a atração de polinizadores, sendo esse um dos motivos pelos quais geralmente acumulam maiores teores nas inflorescências (TAIZ & ZEIGER, 2009). Além do fator genético, as inflorescências da macela foram colhidas antes da senescência das folhas. Em outras palavras, existe a possibilidade do óleo estar concentrado em parte nos ramos, além outras partes vegetais, e o restante distribuído nas inflorescências.

Bousmaha et al. (2005) detectaram teores crescentes de óleo essencial durante o florescimento nas folhas em *Lavandula dentata* com redução no final do florescimento. Geralmente, essa espécie acumula mais óleo nas folhas do que nas

inflorescências, conforme relatado por outros pesquisadores [KALOUSTIAN et al. (2000); BOECKELMANN (2008)].

Masseto et al. (2011) também investigaram o teor de óleo essencial acumulado nas inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* em diferentes estádios de desenvolvimento floral e épocas de colheita. Os autores encontraram interação entre os fatores épocas de colheita e desenvolvimento floral no teor de óleo essencial das inflorescências. No entanto, foram detectados nas folhas os maiores teores de óleo. Por outro lado, os autores detectaram diferentes composições químicas dos óleos nos diferentes estádios de desenvolvimento floral e nas duas épocas de colheita.

4.6 Correlação da biomassa e do teor de óleo entre os ramos e inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Por diversas vezes durante o presente estudo e durante o levantamento bibliográfico houve a indagação do motivo pelo qual serem raros artigos científicos sobre os ramos da macela, bem como o comércio dessa parte vegetal na forma desidratada ou até mesmo dos produtos extraídos, tais como óleo essencial e extratos.

Uma das razões para isso pode ser explicada pelo hábito da macela ser uma espécie anual ou bianual. Em outras palavras, na época da colheita das inflorescências, geralmente já não se observa folhas nos caules, sendo esse um indicativo do final do ciclo. No entanto, segundo observações de campo do presente estudo percebeu-se que mesmo quando a maior parte das inflorescências já estavam desabrochadas, ainda existia grande volume de folhas nos galhos.

Dessa forma, acredita-se não haver a necessidade em aguardar o final do ciclo da macela para efetuar a colheita das inflorescências, visto que é válida também a colheita dos ramos. Assim, o agricultor poderá comercializar não só as inflorescências, mas também os ramos ainda com a presença de folhas.

Foi realizada uma correlação dos dados médios extrapolados para $L \cdot ha^{-1}$ entre a biomassa seca total das inflorescências e dos ramos com os teores de óleos essenciais acumulados em ambas as partes vegetais obtidas neste trabalho (Tabela 14). Os quadros de análises demonstram diferença estatística para o fator espaçamento em ambas as análises (Tabelas 15 e 16).

Em um hectare de cultivo de macela, segundo dados obtidos no presente estudo, o produtor colherá mais ramos do que inflorescências, sendo esse um dos motivos pelos quais o teor de óleo essencial relativo por hectare é maior nos ramos do que nas inflorescências (19.33 L ha⁻¹ nos ramos; R²=0,151 e; 3,34 L ha⁻¹ nas inflorescências; R²=0,331, Figura 20).

Tabela 14 - Teores de óleo essencial (L.ha⁻¹) das inflorescências e dos ramos 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 em função da biomassa obtida por hectare nos tratamentos de cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor de óleo das inflorescências	Teor de óleo dos ramos	Espaçamento	Teor de óleo das inflorescências	Teor de óleo dos ramos
t ha⁻¹	L ha⁻¹		cm	L ha⁻¹	
0	3,27 aB	13,14 abA	50	3,84 aB	16,64 aA
30	2,98 aB	19,33 aA	100	2,19 bB	8,46 bA
60	2,72 aB	9,77 bA	DMS	0,74	5,07
90	3,34 aB	9,99 bA			
120	2,77 aB	10,52 abA			
DMS	1,17	8,03			

Letra maiúscula nas colunas (teor de óleo das inflorescências x teor de óleo dos ramos)

Letra minúscula nas linha (adubação e espaçamento)

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 15 - Análise de variância do teor de óleo essencial (L.ha⁻¹) das inflorescências 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 em função da biomassa obtida por hectare nos tratamentos de cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	1.92131	0.48033	0.2190 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	20.55542	20.55542	9.3739**
Interação F1 x F1	4	1.20038	0.30010	0.1369 ns
Tratamentos	9	23.67711	2.63079	1.1997 ns
Blocos	3	2.48142	1.24071	0.5658 ns
Resíduo	27	39.47083	2.19282	
Total	39	65.62936		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Tabela 16 - Teor de óleo essencial (L.ha⁻¹) dos ramos 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 em função da biomassa obtida por hectare nos tratamentos de cinco doses de adubo orgânico e dois espaçamentos, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

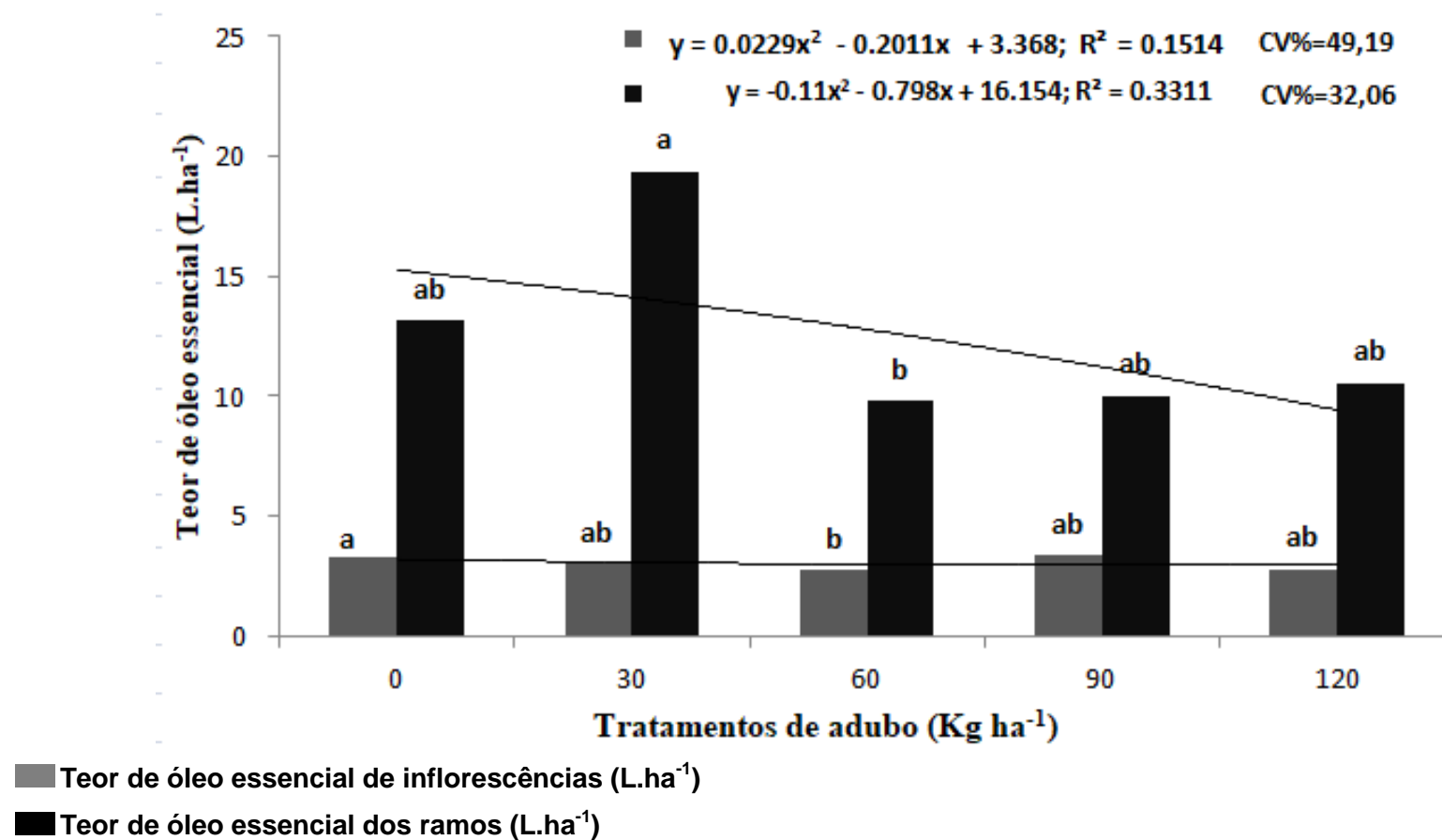
FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	388.05694	97.01423	1.3246 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	501.30565	501.30565	6.8446*
Interação F1 x F2	4	295.98041	73.99510	1.0103 ns
Tratamentos	9	1185.34300	131.70478	1.7982 ns
Blocos	3	16.84028	8.42014	0.1150 ns
Resíduo	27	1318.34689	73.24149	
Total	39	2520.53018		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Figura 20 - Teores de óleos essenciais das inflorescências e dos ramos (L.ha⁻¹) 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 submetidas a análise de regressão polinomial de 2º grau, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Do ponto de vista econômico o óleo de macela das inflorescências comercializado em frascos contendo 10mL (sendo 1 mL de óleo bruto e 9 ml de miristato de isopropila) são vendidos no mercado brasileiro em torno de R\$34,00 a R\$37,00. Essa base de valores extrapolada para o presente estudo poderia gerar um lucro visível para o produtor que porventura optar pela extração na propriedade.

No entanto, este resultado trata-se apenas de uma estimativa já que não existe uma lista oficial de valores tabelados do litro do óleo bruto da macela e muito menos uma estimativa de custo de produção para essa espécie.

Andrião et al. (2010) disponibilizaram estimativas de custo de produção de carqueja (*Baccharis trimera*), levando-se em consideração os custos operacionais e estimativas de lucro do produtor durante 4 anos. Os autores reinteram a importância deste tipo de estudo, custo e rentabilidade, visto que existe a necessidade do produtor em saber os custos desse tipo de cultivo. Além disso, eles concluem que apesar das peculiaridades do cultivo de carqueja, o produtor é capaz de cobrir todos os custos operacionais e ainda obter lucro. No mesmo estudo os autores alertam para um fato recorrente entre os produtores de plantas medicinais no Brasil, já que as flutuações dos preços no mercado, principalmente por conta de atravessadores, aliado ao desconhecimento do produtor sobre os padrões de exigência dos parâmetros da matéria-prima exigidos pela Farmacopeia são fatores que podem desestimular o produtor e forçá-lo a desistir do cultivo ou coletar a planta diretamente do meio ambiente. Para esta espécie os autores concluíram como rentável a produção de carqueja no município de Cajuru (SP).

4.7 Substâncias químicas no óleo essencial de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 (China)

Os terpenoides são classificados pelo tamanho da cadeia carbônica, conforme o número de unidades de isopreno que foram combinadas para dar origem ao terpeno correspondente, tais como, hermiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), sesquiterpenos (C₂₅), triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀).

No presente estudo foram identificadas 30 substâncias químicas no óleo essencial extraído, tanto das inflorescências como dos ramos de macela, sendo 11 monoterpenos e 19 sesquiterpenos (Tabelas 17 e 18). α -Pineno foi a principal

substância química detectada (60,12%; 46,53%), seguido de β -cariofileno (13,39%; 17,65%) e α -humuleno (8,81%; 12,30%) tanto nas inflorescências como nos ramos, respectivamente (Figura 21).

Tabela 17 - Composição do óleo essencial (%) das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 cultivada sob doses de adubo orgânico (0, 30, 60, 90, 120 t ha⁻¹) e espaçamentos entre plantas (50 e 100cm). Universidade de Xangai Jiao Tong, China, 2017.

Tratamentos (t ha ⁻¹)	Controle		30		60		90		120		IR _c	IR _{lit}
Espaçamentos (cm)	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100		
Substâncias químicas	%											
<i>Monoterpenos</i>												
α-Pineno*	58,96aA	57,70aA	56,44aAB	60,12aA	51,77aB	59,80bA	56,67aAB	57,05aA	55,00aAB	61,07aA	927	932
Canfeno	0,12aB	0,15aB	0,10aB	0,23bA	0,21aA	0,23aA	0,22aA	0,23aA	0,22aA	0,23aA	937	946
β-Pineno	0,38aA	0,35aB	0,37aA	0,40aA	0,31bB	0,38aAB	0,36aAB	0,37aAB	0,36aAB	0,38aAB	970	974
β-Mirceno	0,28aA	0,22aA	0,26aA	0,29aA	0,25aA	0,29bA	0,25aA	0,28aA	0,27aA	0,28aA	982	988
Limoneno	0,45aA	0,53aA	0,37aA	0,54aA	0,81aA	0,40aA	0,47aA	0,87aA	0,55aA	0,51aA	1022	1024
Eucaliptol	1,82aAB	1,89aA	1,91aAB	1,87aA	2,00aA	1,80bA	1,81aAB	1,82aA	1,75aAB	1,87aA	1032	1033
trans-β-Ocimeno	2,28aA	2,59aA	2,21aA	2,36aAB	1,95aA	2,49aAB	2,19aA	1,80aB	2,52aA	2,47aAB	1049	1044
γ-Terpineno	0,41bAB	0,45aA	0,41bAB	0,45aAB	0,43aA	0,45aAB	0,38bB	0,43aAB	0,41aAB	0,41aB	1051	1054
Terpinoleno	0,23aA	0,18aA	0,16aB	0,18aA	0,18aAB	0,18aA	0,15aB	0,18aA	0,17aB	0,17aA	1078	1086
endo-Borneol	0,05aAB	0,03bAB	0,02aBC	0,01aBC	0,07aA	0,05bA	0,01aC	0,01aC	0,01aC	0,02aBC	1164	1165
α-Terpineol	0,11aA	0,12aA	0,10aA	0,11aA	0,12aA	0,10aA	0,12aA	0,11aA	0,12aA	0,12aA	1187	1186
<i>Sesquiterpenos</i>												
Ylangeno	0,15aAB	0,17aA	0,13aB	0,15aA	0,19aA	0,16aA	0,17aAB	0,17aA	0,18aAB	0,15aA	1361	1373
α-Copaeno	2,02aA	2,02aA	2,20aA	1,85aA	2,33aA	1,89bA	2,10aA	2,01aA	2,11aA	1,80aA	1368	1376
β-Cariofileno*	11,05aB	11,48aA	11,97aAB	10,68aA	13,39aA	10,72bA	12,15aAB	11,77aA	12,80aAB	10,54bA	1414	1417
Aromandendreno	0,45aA	0,37aA	0,40aA	0,50aA	0,55aA	0,44aA	0,48aA	0,49aA	0,52aA	0,43aA	1430	1439
α-Humuleno*	7,27aB	7,37aA	7,95aAB	7,04aA	8,81aA	7,05bA	7,88aAB	7,80aA	7,89aAB	6,77aA	1449	1454
9-epi-trans-Cariofileno	0,36aA	0,27aA	0,30aAB	0,24aA	0,43aA	0,20bA	0,16aB	0,26aA	0,40aA	0,34aA	1452	1464
γ-Muuroleno	0,55aB	0,40aB	0,39aB	0,40aB	0,66bB	2,88aA	2,61aA	0,60bAB	0,30aB	0,13aB	1466	1478
β-Selineno	0,69aA	0,46aA	0,46aA	0,45aA	0,75aA	0,45aA	0,49aA	0,60aA	0,46aA	0,26aB	1480	1489
Ledeno	0,13aA	0,32aA	0,42aA	0,31aA	0,40aA	0,17aA	0,25aA	0,39aA	0,27aA	0,54aA	1482	1490
α-Muuroleno	0,15aA	0,48aA	0,39aA	0,47aA	0,33aA	0,35aA	0,33aA	0,41aA	0,63aA	0,49aA	1489	1500
γ-Cadineno	0,51aA	0,48aA	0,28aBC	0,32aB	0,45aAB	0,38aAB	0,19aC	0,31aB	0,43aAB	0,46aAB	1503	1513

Cadina-1,4-dieno	1,27abA	1,31aA	1,10abA	0,95aA	0,96abA	0,45bB	0,87bB	1,37aA	1,43aA	1,18aA	1509	1533
β-Calacoreno	0,46aA	0,42aA	0,22aA	0,37aA	0,37aA	0,24aA	0,16aA	0,14aA	0,18aA	0,48aA	1532	1548
Álcool de cariofileno	0,18aA	0,10aA	0,07aA	0,10aA	0,15aA	0,07aA	0,06aA	0,06aA	0,06aA	0,10aA	1566	1568
Óxido de cariofileno	0,30aA	0,22aA	0,11aA	0,28aA	0,29aA	0,14aA	0,11aA	0,19aA	0,12aA	0,26aA	1572	1582
Epóxido de humuleno II	0,27aA	0,16aA	0,16aA	0,22aA	0,25aA	0,14aA	0,16aA	0,20aA	0,10aA	0,24aA	1599	1608
Muurolol	0,19aA	0,14aA	0,12aA	0,15aA	0,20aA	0,12aA	0,12aA	0,14aA	0,11aA	0,16aA	1616	1640
Cubenol	0,10aA	0,17aA	0,16aA	0,17aA	0,09aA	0,12aA	0,17aA	0,15aA	0,19aA	0,12aA	1617	1645
α-Cadinol	0,71aA	0,64aA	0,73aA	0,41aA	0,72aA	0,58aA	0,48aA	0,50aA	0,48aA	0,58aA	1645	1653
Total monoterpenos	65.09	64.21	62.29	66.56	58.1	66.07	62.59	63.12	61.37	67.34		
Total sesquiterpenos	26.76	26.82	27.39	25.02	31.43	25.6	28.73	27.28	28.52	24.53		

IR_c = índice de retenção calculado; IR_{lit} = índice de retenção literatura, $\times < 0.04$, * = substâncias principais.

As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 18 - Composição do óleo essencial (%) dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 cultivada sob doses de adubo orgânico (0, 30, 60, 90, 120 t ha⁻¹) e espaçamentos entre plantas (50 e 100cm). Universidade de Xangai Jiao Tong, China, 2017.

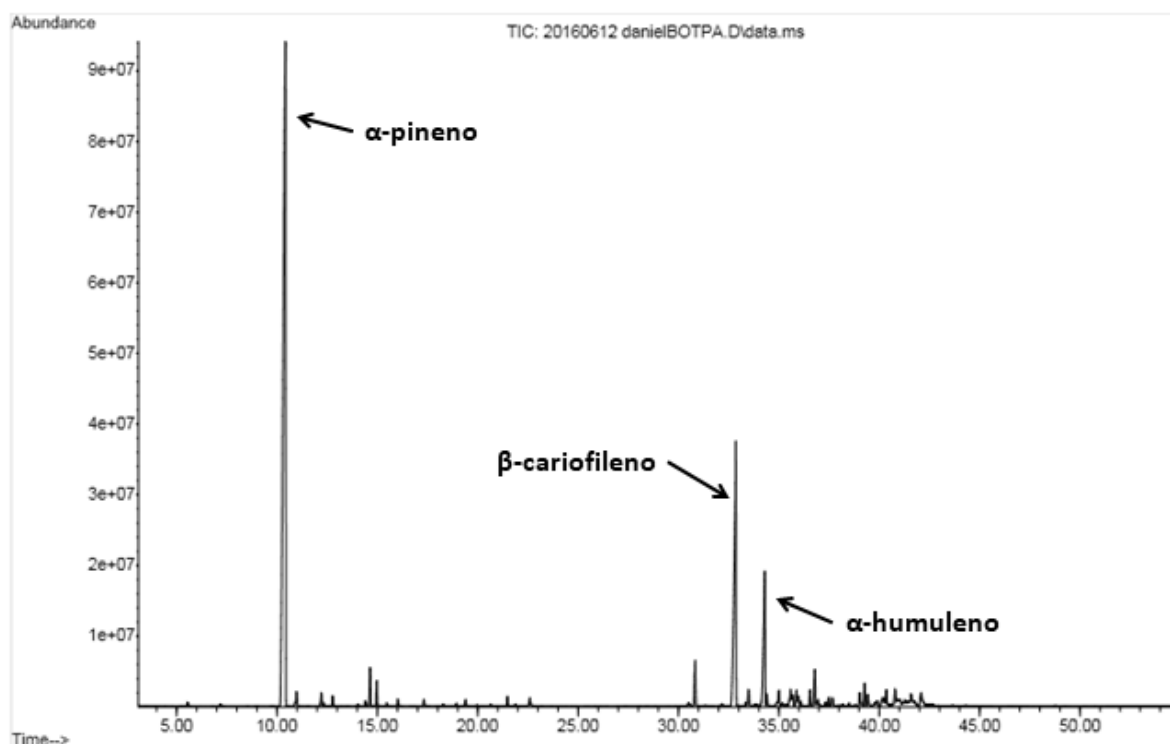
Tratamentos (t ha ⁻¹)	Controle		30		60		90		120		IR _c	IR _{lit}
Espaçamentos (cm)	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100		
Substâncias químicas	%											
<i>Monoterpenos</i>												
α-Pineno*	43,66aA	36,38abA	33,65aA	46,53aA	39,13aA	42,98abA	40,79aA	41,77abA	44,10aA	42,44bA	927	932
Canfeno	0,43aA	0,32aA	0,36aA	0,34aA	0,36aA	0,43aA	0,44aA	0,40aA	0,39aA	0,44aA	937	946
β-Pineno	0,28aA	0,23aA	0,22aA	0,29aA	0,25aA	0,26aA	0,20aA	0,26aA	0,27aA	0,25aA	970	974
β-Mirceno	0,14aA	0,15aA	0,17aA	0,16aA	0,19aA	0,13aA	0,11aA	0,13aA	0,18aA	0,20aA	982	988
Limoneno	0,79bA	0,85aA	0,81bA	1,13aA	1,16abA	1,01aA	1,34aA	1,02aA	1,30aA	1,02aA	1022	1024
Eucaliptol	1,36aA	1,29abA	1,42aA	1,80aA	1,23abA	1,24bA	0,80bA	1,27bA	1,01abA	1,47abA	1032	1033
trans-β-Ocimeno	0,89aA	0,36aA	0,56aA	0,53aA	0,38aA	0,58aA	0,19aA	0,57aA	0,30aA	0,63aA	1049	1044
γ-Terpineno	0,27aA	0,21aA	0,26aA	0,25aA	0,24aA	0,24aA	0,19aA	0,20aA	0,23aA	0,25aA	1051	1054
Terpinoleno	0,42abA	0,14abA	0,17bA	0,09bA	0,34abA	0,59aA	0,79aA	0,39abA	0,13bA	0,35abA	1078	1086
endo-Borneol	0,20aA	0,21aA	0,15aA	0,17aA	0,24aA	0,23aA	0,16aA	0,17aA	0,17aA	0,24aA	1164	1165
α-Terpineol	0,23aA	0,13aA	0,34aA	0,19aA	0,30aA	0,21aA	0,33aA	0,26aA	0,20aA	0,23aA	1187	1186
<i>Sesquiterpenos</i>												
Ylangeno	0,25aA	0,28aA	0,28aA	0,22aA	0,27aA	0,26aA	0,28aA	0,27aA	0,25aA	0,25aA	1361	1373
α-Copaeno	2,25aA	2,53aA	2,11aA	2,06abA	2,46aA	2,24abA	2,41aA	2,32abA	2,22aA	1,86bA	1368	1376
β-Cariofileno*	14,87aA	17,65aA	17,30aA	14,54bA	16,61aA	15,03abA	16,59aA	15,93abA	15,61aA	15,26abA	1414	1417
Aromandendreno	0,62aA	0,51aA	0,70aA	0,48aA	0,54aA	0,62aA	0,65aA	0,65aA	0,65aA	0,51aA	1430	1439
α-Humuleno*	10,38aA	12,30aA	12,05aA	10,88aA	12,21aA	11,18aA	11,70aA	11,48aA	11,25aA	12,19aA	1449	1454
9-epi-trans-Cariofileno	0,54aA	0,46aA	0,47aA	0,40aA	0,45aA	0,40aA	0,44aA	0,44aA	0,43aA	0,41aA	1452	1464
γ-Muuroleno	0,87aA	0,87aA	1,10aA	0,75aA	1,00aA	0,55aA	0,92aA	0,87aA	0,73aA	0,90aA	1466	1478
β-Selineno	0,79aA	0,97aA	0,89aA	0,84aA	1,02aA	0,93aA	1,09aA	1,01aA	0,99aA	0,84A	1480	1489
Ledeno	0,56aA	0,76abA	0,72aA	0,52bA	0,62aA	0,65abA	0,65aA	0,63abA	0,52aB	0,81aA	1482	1490
α-Muuroleno	0,82aA	0,74aA	0,74aA	0,68aA	0,76aA	0,76aA	0,80aA	0,72aA	0,64aA	0,68aA	1489	1500
γ-Cadineno	0,30aA	0,26aA	0,39aA	0,21aA	0,35aA	0,26aA	0,47aA	0,35aA	0,29aA	0,31aA	1503	1513

Cadina-1,4-dieno	0,84aA	0,94aA	0,95aA	0,75aA	0,89aA	0,85aA	0,91aA	0,88aA	0,84aA	0,89aA	1509	1533
β-Calacoreno	1,81aA	1,50aA	2,12aA	1,65aA	2,00aA	1,84aA	1,98aA	1,93aA	2,04aA	1,56aA	1532	1548
Álcool de cariofileno	0,49aA	0,37aA	0,30aA	0,33aA	0,30aA	0,36aA	0,39aA	0,31aA	0,27aA	0,37aA	1566	1568
Óxido de cariofileno	0,45aA	0,85aA	0,66aA	0,39abA	0,30aA	0,22bA	0,17aA	0,47abA	0,35aA	0,23abA	1572	1582
Epóxido de humuleno II	0,67aA	0,68aA	0,66aA	0,65aA	0,75aA	0,66aA	0,70aA	0,76aA	0,70aA	0,76aA	1599	1608
Muurolol	0,57aA	0,56aA	0,41abA	0,35aA	0,28abA	0,32aA	0,33abA	0,25aA	0,06bA	0,08aA	1616	1640
Cubenol	0,73aA	0,83aA	0,70aA	0,69abA	0,70aA	0,58abA	0,06bA	0,37bA	0,15bA	0,43abA	1617	1645
α-Cadinol	0,54aA	0,53aA	0,65aA	0,52aA	0,68aA	0,54aA	0,50aA	0,55aA	0,65aA	0,77aA	1645	1653
Total monoterpenos	48.42	40.02	38.01	51.49	43.48	47.4	44.59	46.09	48.28	47.33		
Total sesquiterpenos	38.18	42.66	42.96	36.61	42.38	38.72	41.11	40.58	38.17	37.95		

IR_c = índice de retenção calculado; IR_{lit} = índice de retenção literatura, * = substâncias principais.

As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 21 - Cromatograma com destaque para as três principais substâncias químicas identificadas no óleo essencial de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 (α -pineno, β -cariofileno e α -humuleno), Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Curiosamente, e em contraste com o atual trabalho, Yamane et al. (2016) identificaram em amostras de *A. satureioides* cv. CPQBA 2 (Campinas, São Paulo) β -cariofileno como majoritário no óleo essencial de inflorescências frescas, seguido de α -humuleno e copaeno, sendo o α -pineno encontrado em baixíssimos teores. Os autores não citaram os valores dessas substâncias no trabalho cujo objetivo foi desenvolver um bioadesivo anestésico e anti-inflamatório contendo extrato de jambu (*Acmella oleracea*) e óleo essencial de macela (*Achyrocline satureioides*). No entanto, variações fitoquímicas podem ocorrer devido a uma vasta gama de fatores bióticos e abióticos (GOBBO-NETO & LOPES, 2009), genéticos, além de volatilização de algumas substâncias químicas durante os processos pós-colheita (FURLAN & GARCIA, 2013).

Do Carmo et al. (2015) identificaram 22 substâncias químicas em amostras de macela, sendo α -pineno (36,19%) o majoritário seguido por β -cariofileno (25,65%), β -ocimeno (7,36%) e 1.8-cineol (5,93%), em Mato Grosso do Sul. Labuckas et al.

(1999) identificaram 52 substâncias químicas em amostras de óleos essenciais das inflorescências de macela coletadas na Argentina, sendo (E)-cariofileno o majoritário (39-48%), seguido por α -copaeno (10-15%) e δ -cadineno (1-9%). Davies (1999) identificaram cariofileno, óxido de cariofileno, cadineno, cariatina, germacreno-D, α -pineno como algumas das substâncias químicas do óleo de macela, no Uruguai. Sierra et al. (2015) analisaram e quantificaram as substâncias químicas presentes no óleo essencial extraído das inflorescências de macela silvestre (Colômbia) e encontram β -cariofileno (25%) como majoritário, seguido por óxido de cariofileno (13%), γ -muuroleno (8%), γ -cadineno (7%) e α -pineno (7%). Gillij et al. (2008) identificaram (E)-cariofileno como majoritário (39,7%), seguido de α -copaeno (14,2%) em amostras de macela silvestre colhida na Argentina. α -Pineno (41–78%) foi encontrado como majoritário em todas as amostras de macela coletadas na região Sul do Brasil (LAMATY et al., 1991), enquanto Lucas et al. (2009), na mesma região, detectaram óxido de cariofileno (36%) como majoritário em amostras de óleo extraído das inflorescências de macela silvestre.

Como se pode observar, existe grande variabilidade de majoritários nessa espécie vegetal. Lorenzo et al. (2000) estudaram as substâncias químicas do óleo acumulados nos ramos de macela do Sul do Brasil e do Uruguai. Os autores detectaram 32% de (E)-cariofileno como majoritário em amostras brasileiras sendo esta substância detectada com apenas 11,1% em amostras uruguaias. O α -pineno foi o majoritário nas amostras uruguaias (46,2%), sendo esta substância detectada com apenas 29,9% nas amostras brasileiras.

A mesma variabilidade de substâncias químicas que ocorre entre as diferentes partes da planta também ocorre para outras espécies vegetais, mostrando assim, a grande complexidade de se trabalhar com plantas medicinais (MACIEL et al., 2002).

4.8 Principais substâncias químicas identificadas nos óleos essenciais das inflorescências e dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

4.8.1 Teor de α -Pineno nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Não foi observada relação significativa na interação entre adubação x espaçamento. Apenas o fator espaçamento foi considerado estatisticamente significativo (Tabela 19).

Tabela 19 - Análise de variância do teor de α -pineno nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	1227.05161	306.76290	1.3798 ns
Fator 2(espaçamento)	1	0.20207	0.20207	0.0009*
Interação F1 x F2	4	1896.08597	474.02149	2.1321 ns
Tratamentos	9	3123.33964	347.03774	1.5609 ns
Blocos	3	652.05140	217.35047	0.9776 ns
Resíduo	27	6002.86728	222.32842	
Total	39	9778.25833		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

A tabela 20 apresenta o teor de α -pineno detectado no óleo essencial das inflorescências de *A. satureioides* cv. CPQBA 2 em função dos tratamentos de adubo orgânico. Neste caso o controle se destacou no acúmulo de α -pineno (58,33%) e houve diferença estatística entre os espaçamentos.

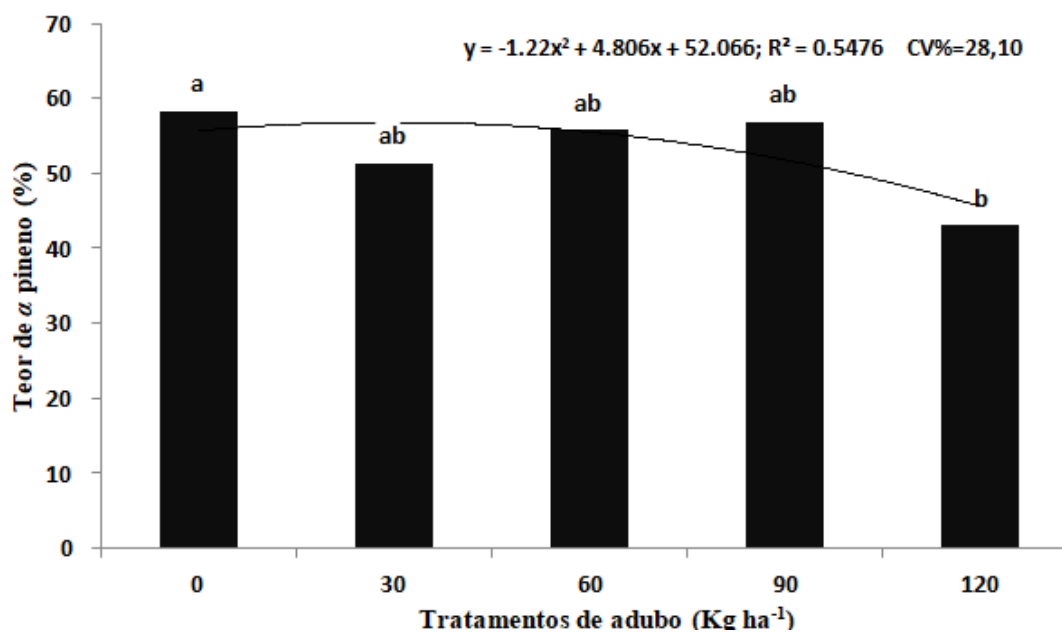
Tabela 20 - Teor de α pineno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	58,33 a	50	52,99 b
30	51,35 ab	100	53,14 a
60	55,78 ab	DMS	9,66
90	56,85 ab		
120	43,01 b		
DMS	15,28		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

A figura 22 facilita a observação dos valores em destaque para o tratamento controle, apesar do moderado valor de confiabilidade ($R^2=0,547$) dos resultados.

Figura 22 - Teores de α -pineno (%) nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 e submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



Nirmal et al. (2005) identificaram α -pineno (78,64%) como majoritário presente no óleo essencial de *Wedelia trilobata* (Asteraceae) coletadas na Índia. Raggi (2013) encontrou 30% de acúmulo de α -pineno na composição do óleo de *Sphagneticola trilobata* (vedélia), sendo β -pineno (47,3%) o majoritário. Carvalho Júnior et al. (2004) verificaram o perfil químico do óleo essencial extraído das folhas de *Varronia curassavica* e identificaram α -pineno (29,69%), (E)-cariofileno (25,27%), aloaromadendreno (9,99%), α -humuleno (4,64%) e β -gurjuneno (4,11%) como as principais substâncias químicas.

4.8.2 Teor de α -Pineno nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

O acúmulo de α -pineno nos ramos de *A. satureioides* cv. CPQBA 2 não foram significativos tanto para a interação entre os fatores como para ambos os fatores analisados separadamente (Tabelas 21 e 22).

Tabela 21 - Teores de α -pineno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	40,01 a	50	40,26 a
30	40,09 a	100	39,94 a
60	41,05 a	DMS	6,12
90	41,28 a	CV (%)	23,54
120	38,08 a		
DMS	9,67		
CV (%)	23,54		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 22 - Análise de variância do teor de α -pineno nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	50.97252	12.74313	0.1430 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	0.99552	0.99552	0.0112 ns
Interação F1 x F2	4	757.58976	189.39744	2.1248 ns
Tratamentos	9	809.55780	89.95087	1.0091 ns
Blocos	3	242.34244	80.78081	0.9062 ns
Resíduo	27	2406.73502	89.13833	
Total	39	3458.63526		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Vale destacar que o teor de α -pineno entre as inflorescências e os ramos de *A. satureioides* cv. CPQBA 2 foi cerca de 30% maior nas inflorescências.

Bauer et al. (1992) e Lorenzo et al. (2000) encontraram composições parecidas em óleos essenciais dos ramos de macela provenientes do Brasil e do Uruguai, sendo α -pineno (30%, 46%) e β -cariofileno (32%; 11%) os principais, respectivamente. Radaelli et al. (2009) encontraram maior acúmulo de majoritários

no inverno em ramos de macela silvestre (25,7% de α -pineno, 11,8% limoneno e 25,5% de (E)-cariofileno) coletada no Rio Grande do Sul.

4.8.3 Teor de β -cariofileno nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Como pode ser observado nas tabelas 23 e 24, não houve interação e diferença estatística significativa do teor de β -cariofileno nas inflorescências, sendo esta substância química produzida e acumulada independentemente dos fatores agronômicos estudados no presente estudo.

Tabela 23 - Teores de β -cariofileno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	11,26 a	50	11,72 a
30	9,95 a	100	10,08 a
60	12,05 a	DMS	1,94
90	11,96 a	CV (%)	27,56
120	9,28 a		
DMS	3,08		
CV (%)	27,56		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 24 - Quadro de análise de variância em experimento fatorial do teor de β -cariofileno nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	48.73365	12.18341	1.3486 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	26.74001	26.74001	2.9599 ns
Interação F1 x F2	4	91.23724	22.80931	2.5248 ns
Tratamentos	9	166.71090	18.52343	2.0504 ns
Blocos	3	25.13611	8.37870	0.9275 ns
Resíduo	27	243.91977	9.03407	
Total	39	435.76678		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Yamane et al. (2016) detectaram β -cariofileno como sendo o majoritário em amostras de óleo essencial da mesma cultivar utilizada no presente estudo, sendo aqui identificado como a segunda substância química com maior teor acumulado. Vale destacar que Yamane et al. (2016) utilizaram inflorescências frescas e

seguiram a metodologia de González e Marioli (2010) para a extração do óleo essencial.

4.8.4 Teor de β -cariofileno nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Assim como o teor de β -cariofileno acumulado nas inflorescências não foi alterado em função dos fatores agrônômicos, o mesmo ocorreu para o teor dessa substância química nos ramos (Tabelas 25 e 26).

Tabela 25 - Teores de β -cariofileno acumulados nas amostras de óleo essencial extraído dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	16,26 a	50	16,19 a
30	15,92 a	100	16,05 a
60	15,82 a	DMS	1,15
90	16,26 a	CV (%)	11,08
120	15,54 a		
DMS	1,83		
CV (%)	11,08		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade

Tabela 26 - Análise de variância do teor de β -cariofileno nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	6.65987	1.66497	0.5214 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	0.21882	0.21882	0.0685 ns
Interação F1 x F2	4	23.80272	5.95068	1.8634 ns
Tratamentos	9	30.68141	3.40905	1.0675 ns
Blocos	3	8.62296	2.87432	0.9001 ns
Resíduo	27	86.22375	3.19347	
Total	39	125.52812		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Radaelli et al. (2009) detectaram 25,5% de β -cariofileno em amostras desidratadas dos ramos de macela.

4.8.5 Teor de α -humuleno nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

Não houve interação significativa entre os dois fatores analisados neste estudo (Tabela 27).

Tabela 27 - Análise de variância do teor de α -humuleno nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	23.89730	5.97432	1.6315 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	9.65799	9.65799	2.6374 ns
Interação F1 x F2	4	29.96978	7.49245	2.0460 ns
Tratamentos	9	63.52507	7.05834	1.9275 ns
Blocos	3	11.76614	3.92205	1.0710 ns
Resíduo	27	98.87278	3.66195	
Total	39	174.16400		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

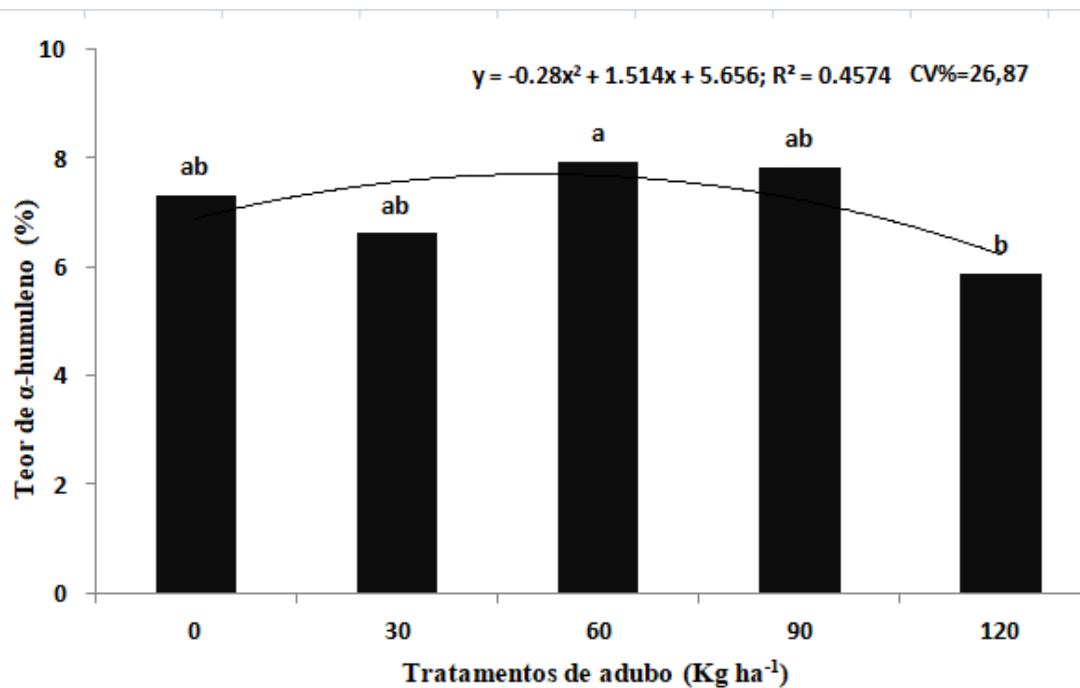
Percebe-se na tabela 28 que houve destaque para o tratamento 60 t ha^{-1} (7,93%). A figura 23 demonstra o baixo valor de confiabilidade do resultado ($R^2=4574$) obtido para esta variável.

Tabela 28 - Teor de α -humuleno acumulado nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	7,32 ab	50	7,61 a
30	6,62 ab	100	6,63 a
60	7,93 a	DMS	1,24
90	7,84 ab		
120	5,88 b		
DMS	1,96		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 23 - Teores de α -humuleno (%) acumulados nas amostras de óleo essencial extraído das inflorescências 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 e submetido a análise de regressão polinomial de 2°, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.



4.8.6 Teor de α -humuleno nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2

O acúmulo de α -humuleno nos ramos não apresentou interação significativa entre os fatores, bem como não houve diferença entre eles quando analisados separadamente (Tabelas 29 e 30).

Tabela 29 - Teores de α -humuleno acumulados nas amostras de óleo essencial extraído dos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha⁻¹	%	cm	%
0	11,34 a	50	11,51 a
30	11,46 a	100	11,04 a
60	11,69 a	DMS	1,56
90	11,59 a	CV (%)	21,36
120	10,31 a		
DMS	2,47		
CV (%)	21,36		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 30 - Análise de variância do teor de α -humuleno nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	9.84338	2.46084	0.4237 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	2.22839	2.22839	0.3837 ns
Interação F1 x F2	4	16.99416	4.24854	0.7316 ns
Tratamentos	9	29.06593	3.22955	0.5561 ns
Blocos	3	14.30405	4.76802	0.8210 ns
Resíduo	27	156.79918	5.80738	
Total	39	200.16916		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

Leal et al. (2006) obtiveram por hidrodestilação α -humuleno como substância majoritária em amostras dos ramos de macela colhidas no Brasil.

Curiosamente as três substâncias químicas detectadas neste estudo também são produzidas e acumuladas por outras espécies de grande importância econômica e

farmacológica como *Cannabis sativa* (FISCHEDICK et al., 2010) e *Varronia curassavica* (CARVALHO JUNIOR et al., 2004; QUEIROZ et al., 2016).

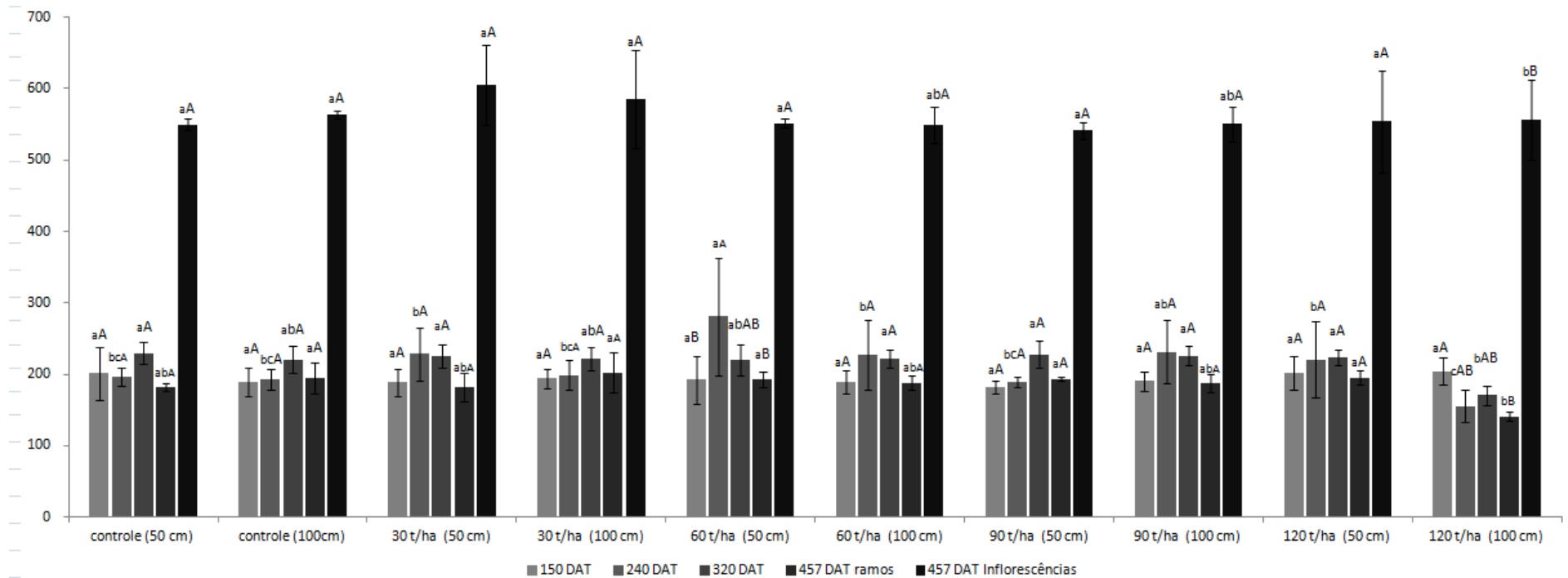
4.9 Teor de flavonoides de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 nos ramos entre 4 idades e nas inflorescências 457 DAT

O método espectrofotométrico apresentou, para os dados, linearidade a 425 nm para as concentrações estudadas (0-100 µg/mL). A equação da regressão linear média obtida a partir de três curvas de calibração foi: $y = 0,0085x - 0,0045$; em absorbância (nm) pela concentração (µg/mL) em equivalentes de quercetina. O coeficiente de determinação obtido foi $R^2 = 0,9989$, comprovando a adequação do método ao intervalo avaliado.

Para esta variável estudou-se a oscilação do teor de flavonoides totais acumulados nos ramos de macela durante as idades em função dos tratamentos aplicados neste trabalho. Avaliou-se também a oscilação dos teores de flavonoides totais acumulados nas inflorescências 457 DAT (Figura 24).

Quando foram comparados os tratamentos aplicados no presente estudo entre as idades, percebeu-se que o tratamento 60 t ha^{-1} no menor espaçamento (281,28 mg/100g) na idade 240 DAT, foi significativo entre os demais, sendo este, também considerado o maior teor obtido no trabalho (Figura 24). A mesma figura 24 ainda mostra os resultados do acúmulo de flavonoides nas inflorescências, os quais foram em média pelo menos duas vezes maiores em comparação com o teor acumulado nos ramos. Não houve diferença estatística significativa para essa variável.

Figura 24 - Teores de flavonoides (mg/100g) acumulados nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 durante as quatro idades incluindo as inflorescências na última coleta, submetidas a cinco teores de adubo orgânico e dois espaçamentos. São Paulo, Botucatu – 2017.



*Para cada período avaliado, as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

O quadro de análises (tabela 31) demonstra os resultados não significativos para o teor de flavonóides nas inflorescências de macela 457 DAT.

Tabela 31 - Análise de variância do teor flavonoides nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, 457 DAT, Botucatu, São Paulo. UNESP - 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (adubação)	4	49315.93069	12328.98267	1.3949 ns
Fator 2 (espaçamento)	1	7439.29171	7439.29171	0.8417 ns
Interação F1 x F2	4	31167.04247	7791.76062	0.8816 ns
Tratamentos	9	87922.26486	9769.14054	1.1053 ns
Blocos	3	39370.80412	13123.60137	1.4848 ns
Resíduo	27	238638.18925	8838.45145	
Total	39	365931.25823		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$)

ns não significativo ($p \geq .05$)

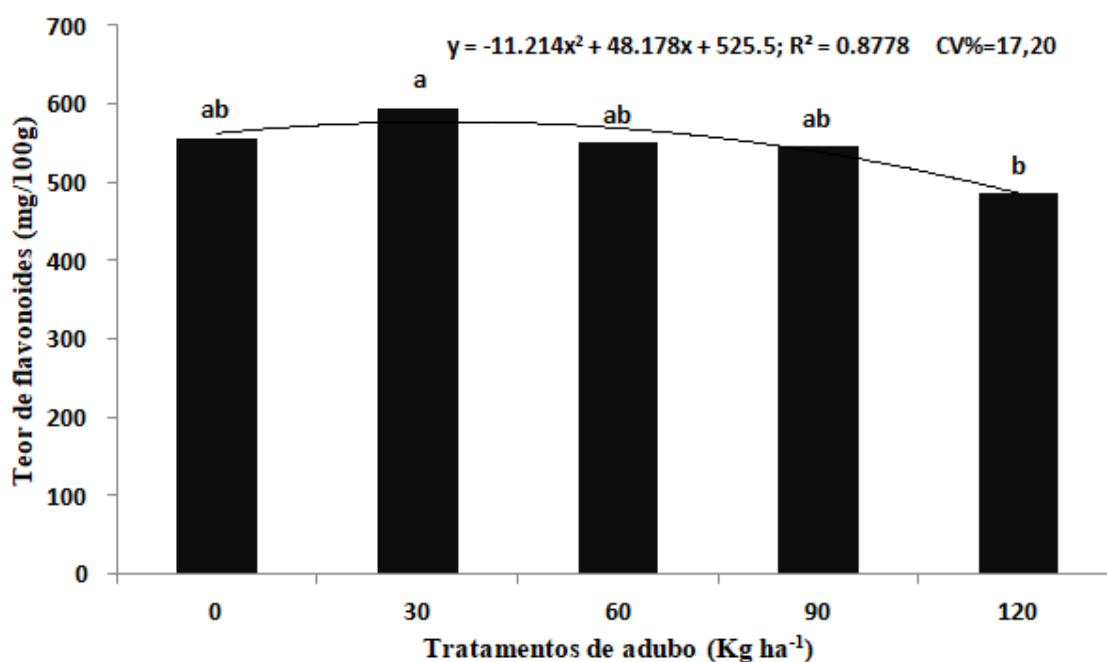
Os resultados dos teores de flavonoides nas inflorescências analisados separadamente entre os fatores está mostrado na tabela 32. Não houve diferença estatística no fator espaçamento. No entanto, o tratamento 30 t ha⁻¹ foi o responsável por acumular maior teor de flavonoides ($R^2=0,8778$; Figura 25).

Tabela 32 - Teor de flavonoides (mg/100g) acumulados nas inflorescências 457 DAT de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2, São Paulo, Botucatu - 2017.

Adubação	Teor	Espaçamento	Teor
t ha ⁻¹	mg/100g	cm	mg/100g
0	556,58 ab	50	560,31 a
30	594,97 a	100	533,03 a
60	550,45 ab	DMS	60,94
90	545,67 ab		
120	485,69 b		
DMS	96,36		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade

Figura 25 - Teores de flavonoides (mg/100g) acumulados nas inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 submetidas a análise de regressão polinomial de 2º grau, São Paulo, Botucatu - 2017.



Análise fatorial demonstrou diferença significativa entre as idades para o teor de flavonoides acumulados nos ramos de macela entre as quatro idades (Tabela 33). A

idade 320 DAT (218,88 mg/100g) acumulou maior teor de flavonoides durante o período avaliado no presente estudo.

Tabela 33 - Teores de flavonoides (mg/100g) detectados nos ramos de *Achyrocline satureioides* entre as 4 idades: 150, 240, 320 e 457 DAT, São Paulo, Botucatu, 2017.

Idade	Teor
DAT	mg/100g
150	193.42 b
240	212.20 ab
320	218.88 a
457	186.25 b
DMS	16.05
CV (%)	17,89

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Trabalhos que correlacionam teores de flavonoides de macela em função de tratamentos agrônômicos e idade são raros de se encontrar na literatura científica.

Coutinho et al. (2010) estudaram a variação da composição química da espécie *Campomanesia adamantium* associada a fatores ambientais e fenológicos. Foi observado que conforme aumentava a disponibilidade hídrica, os teores de flavonoides glicosados aumentavam e os teores de agliconas diminuía. Sabe-se que as substâncias fenólicas, especialmente os flavonoides são conhecidos pelas suas importantes funções ecológicas, tais como: proteção contra raios UV, na interação simbiótica ou patogênica entre plantas e micro-organismos e na interação entre plantas parasitárias. Sendo assim, os mesmos autores acreditam que este aumento pode estar relacionado ao acúmulo de flavonoides na superfície da folha como proteção aos raios UV e/ou como defesa contra predadores. Ainda foi observada variação dos teores em diferentes estações do ano, fato que, segundo os autores, poderia estar influenciando na oscilação da capacidade antioxidante.

Uma curiosidade observada foi em relação ao acúmulo de flavonoides nos ramos e nas inflorescências 457 DAT, momento em que houve alta precipitação hídrica, o qual foi considerado o teor mais baixo entre as demais idades. Por outro lado, os teores de flavonoides acumulados nas inflorescências são os mais altos detectados

em relação aos ramos entre todos os períodos estudados. Uma das hipóteses para esse resultado pode ser alicerçada pela revisão feita por Gobbo-Neto e Lopes (2007), onde os autores alertam que, especialmente em estudos de campo e com plantas anuais, não se pode confundir os efeitos da sazonalidade com as alterações metabólicas, uma vez que as respostas agrônômicas e fitoquímicas podem estar sob o controle do desenvolvimento regulado internamente pela planta (hormônios). Ou seja, entende-se neste caso, que o processo de desenvolvimento da macela, por conta da produção de inflorescências, pode ter sido o principal redutor do acúmulo de flavonoides nos ramos 457 DAT.

As discussões de trabalhos agrônômicos relacionadas às respostas fitoquímicas ficam mais ricas quando há a correlação das substâncias químicas aliadas às eficiências farmacológicas (VENDRUSCOLO et al., 2005). Zayachkivska et al. (2005) relacionaram o maior conteúdo de flavonoides presentes nas inflorescências da macela com a maior atividade farmacológica. A maioria dos trabalhos com ênfase em atividades farmacológicas dos produtos da macela tem estudado apenas as inflorescências e poucos estudos têm investigado as substâncias químicas presentes nos ramos (LORENZO et al., 2000). Schimidt et al. (2008) verificaram que o potencial antimicrobiano proveniente de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* não foi alterado significativamente em função do período de coleta.

4.10 Fenóis totais de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 presentes nos ramos entre 4 idades e nas inflorescências 457 DAT

Os dados fornecidos pelo método espectrofotométrico apresentaram linearidade a 725 nm para as concentrações estudadas (0-28 µg/mL). A equação da regressão linear média obtida foi $y = 0,0153x + 0,0423$, em absorbância (nm) pela concentração (µg/mL) em equivalentes de ácido gálico. O coeficiente de determinação obtido foi $R^2 = 0,913$.

Pode-se observar na tabela 35 e na figura 26 que o teor de fenóis totais não diferiu significativamente entre os fatores na idade 150 DAT. Na idade seguinte (240 DAT) não houve interação e diferença significativa entre os fatores. No entanto, foi detectado nessa idade o maior teor de fenóis totais (159,34 mg.100g⁻¹) entre as demais idades. A idade 320 DAT não apresentou diferença estatística significativa

entre os fatores. Na última idade, 457 DAT (ramos), não foi detectada interação entre os fatores, mas houve diferença estatística significativa no tratamento 90 t ha⁻¹ (151,15 mg 100g⁻¹) no menor espaçamento e 120 t ha⁻¹ (151,01 mg/100g) no maior espaçamento.

Para as inflorescências, nota-se que houve interação significativa entre os fatores (120 t ha⁻¹) com destaque para o teor 60 t ha⁻¹ (151,18 mg.100g⁻¹) no menor espaçamento e 30 t ha⁻¹ (154,50 mg.100g⁻¹) no maior espaçamento.

No geral percebe-se que não houve grande variação de fenóis totais entre os fatores e entre as idades nos ramos, já que a diferença entre o menor e o maior valor detectado foi de apenas 35 mg/100g. Nas inflorescências o mesmo fato pode ser observado com uma diferença ainda menor, de apenas 16 mg/100g.

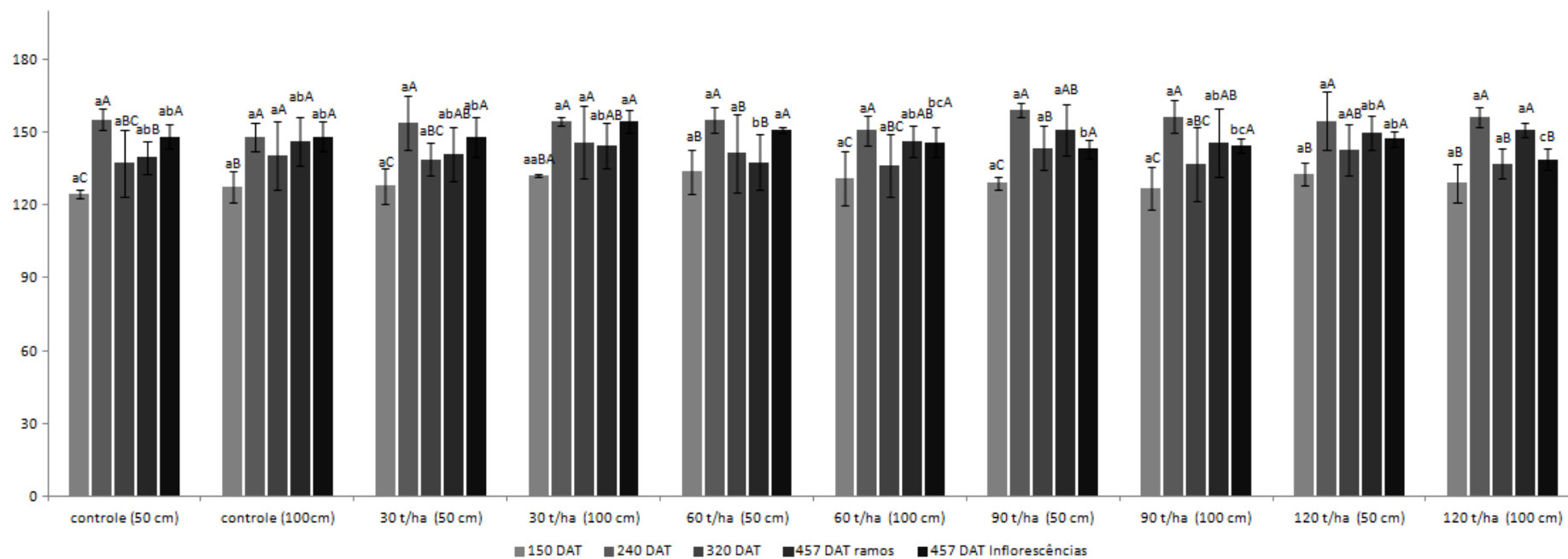
Tabela 35 – Fenóis totais (mg/100g) acumulados nos ramos durante as 4 idades e nas inflorescências aos 457 DAT, São Paulo, Botucatu - 2017.

Espaçamentos	50 cm					100 cm					CV%
	0 t.ha ⁻¹	30 t.ha ⁻¹	60 t.ha ⁻¹	90 t.ha ⁻¹	120 t.ha ⁻¹	0 t.ha ⁻¹	30 t.ha ⁻¹	60 t.ha ⁻¹	90 t.ha ⁻¹	120 t.ha ⁻¹	
150 DAT	124,61aC	127,99aC	133,82aB	129,03aC	132,90aB	127,41aB	132,23 aB	131,11 aC	126,74 aC	129,11aB	3,93
240 DAT	155,30aA	153,85 aA	155,39 aA	159,34 aA	154,73 aA	147,96aA	154,54aA	150,88aA	156,43aA	156,34aA	3,56
320 DAT	137,35aBC	138,84 aBC	141,46 aB	143,66 aB	142,87 aAB	140,45 aA	145,94 aA	136,57 aBC	136,79 aBC	137,11 aB	4,31
457 DAT*	139,73abB	141,05abAB	137,81bB	151,15aAB	149,78abA	146,26abA	144,59bAB	146,21 abAB	145,65 abAB	151,01aA	5,82
457 DAT**	148,20abA	148,09abA	151,18aA	143,37bA	147,25abA	148,38abA	154,50aA	145,92bcA	144,51bcA	138,94cB	3,64

*Ramos; **Inflorescências

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha (fator adubação e espaçamento) e letra maiúscula na coluna (idade) não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 26 – Fenóis totais (mg/100g¹) acumulados nos ramos durante as 4 idades e nas inflorescências aos 457 DAT, São Paulo, Botucatu - 2017.



*Para cada período avaliado, as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Houve diferença estatística significativa entre as idades apenas para o fator adubação, sendo 240 DAT (154,48 mg/100g) a idade que se destacou (Tabela 36).

Tabela 36 - Teores de fenóis totais (mg/100g) detectados nos ramos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 entre as 4 idades: 150, 240, 320 e 457 DAT, São Paulo, Botucatu, 2017.

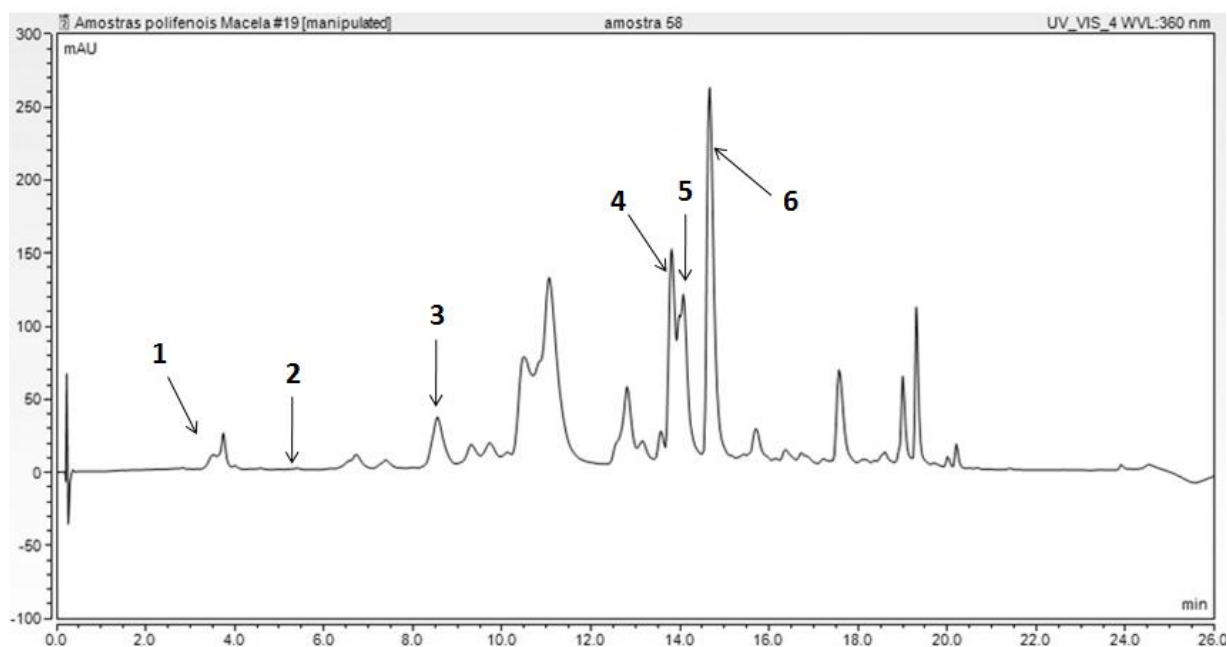
Idade	Teor
DAT	mg/100g
150	129,49 d
240	154,48 a
320	140,10 c
457	145,32 b
DMS	4,05
CV (%)	6,43

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

4.11 Polifenóis de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 presentes nos ramos e nas inflorescências 457 DAT

No presente estudo foram analisados os teores das seguintes substâncias químicas presentes nos extratos dos ramos e das inflorescências de macela 457 DAT: 3-O-metilquercetina, luteolina, quercetina, ácido cafeico, rutina e trans-ferúlico (Figura 27).

Figura 27 - Perfil do extrato hidroalcoólico de amostras de inflorescências de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2. (1) ácido cafeico, (2) trans-ferúlico, (3) rutina, (4) quercetina, (5) luteolina e (6) 3-O-metilquercetina, São Paulo, Botucatu - 2017.



Os maiores teores detectados nas amostras das inflorescências foram: 3-O-metilquercetina (323,45 mg/100g), seguido de rutina (216,82 mg/100g), quercetina (143,01 mg/100g), luteolina (79,98 mg/100g), ácido cafeico (52,31 mg/100g) e trans-ferúlico (37,79 mg/100g). Nos ramos, os maiores teores detectados foram: ácido cafeico (105,63 mg/100g), seguido de trans-ferúlico (29,09 mg/100g) e quercetina (13,80 mg/100g). Curiosamente, 3-O-metilquercetina, maior teor detectado nas inflorescências, foi o menor teor acumulado nos ramos (1,38 mg/100g), sendo luteolina e rutina ausentes (Tabela 37).

Tabela 37 - Principais polifenóis (mg/100g) detectados nos extratos de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 aos 457 DAT submetidos a análise fatorial entre os tratamentos, São Paulo, Botucatu - 2017.

Espaçamento (cm)	50					100				
	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120
Teor de adubo (t ha ⁻¹)	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120
3-O-Metilquercetina*	1,02bcA	1,31abA	0,98cA	1,38aA	1,09bcA	1,20aA	1,25aA	1,23aA	1,28aA	1,17aA
3-O-Metilquercetina**	247,14bB	283,14abA	277,66abA	286,97aA	281,33abB	302,16abA	277,85bcA	260,98cA	281,40bcA	323,45aA
Luteolina*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Luteolina**	58,35bA	74,96aA	74,29aA	67,75abA	69,74abA	67,91bA	79,98aA	61,16bB	65,62bA	63,71bA
Quercetina*	9,10cB	11,02abA	11,92bB	11,14abA	12,17aA	10,36bA	10,55bA	13,80aA	10,14bA	12,44abA
Quercetina**	108,84bB	117,02abB	118,86abA	118,94abA	130,93aA	133,01abA	140,05abA	108,84cA	126,92bA	143,01aA
Ácido cafeico*	92,54aA	64,40cdA	48,25dB	70,15bcA	86,80abA	105,63aA	61,59bA	77,39bA	73,40bA	80,87bA
Ácido cafeico**	48,68aA	45,89abA	43,13abA	37,73bB	43,77abA	41,97bB	51,79aA	37,03bA	52,31aA	41,73bA
Rutina*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rutina**	149,47bcA	216,82aA	142,13cA	141,07cA	182,10abA	159,98abA	129,49bB	156,80abA	168,41aA	154,72abA
Trans-ferúlico*	23,45cB	28,90abA	25,57bcB	29,09aA	29,08aA	29,02aA	26,75aA	28,98aA	28,91aA	27,84aA
Trans-ferúlico**	34,59abA	35,66aA	35,69abA	34,56abA	34,52bA	34,53bA	37,79aA	35,66abA	34,58bA	35,63bA

*Ramos; **Inflorescências

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha (fator adubação e espaçamento) e letra maiúscula na coluna (ramos e inflorescências) não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste t ao nível de 5% de probabilidade.

Os polifenóis de maior interesse presentes na macela para a medicina atual são: 3-O-metilquercetina, quercetina e luteolina (CARINI et al., 2014; 2015). Dentre estas substâncias, percebe-se que 3-O-metilquercetina acumulou maiores teores nas inflorescências assim como a luteolina. Por outro lado, foram detectados teores baixos para quercetina nesta parte vegetal em relação aos ramos, no qual esta última substância se destacou em relação ao 3-O-metilquercetina, sendo luteolina ausente.

Houve interação significativa entre os teores de 3-O-metilquercetina detectados nas inflorescências, sendo a maior dose de adubo no maior espaçamento o tratamento que acumulou maior teor (323,57 mg/100g). Curiosamente os teores dessa substância foram extremamente baixos nos ramos (1,38 mg/100g). Luteolina também se destacou nas inflorescências, sendo 30 t ha⁻¹ no maior espaçamento (79,98 mg/100g) significativo entre os demais tratamentos.

Não foi detectada luteolina nas amostras dos ramos. Foi detectada interação significativa para a quercetina, sendo os maiores teores acumulados nos ramos no tratamento 120 t ha⁻¹ no maior espaçamento (143,01 mg/100g).

Quercetina, considerada uma das principais substâncias da macela, é também uma das principais substâncias responsáveis pela inibição da peroxidação lipídica através do sequestro de espécies reativas ao oxigênio (OHSHIMA et al., 1998). De Sousa et al. (2002) detectaram a presença de luteolina, quercetina, e 3-O-metilquercetina nos extratos de macela através de cromatografia líquida.

Quercetina já foi investigada como potencial anti-inflamatório e agente anti-hepatotóxico, antiespasmódico e antiulceroso, gastroprotetora, antioxidante, anti-hipertensiva, anti-alérgica e antimicrobiana (LASTRA et al., 1994; FORMICA & REGELSON, 1995; GORDON & ROEDIG-PENMAN, 1998; HARBOURNE & WILLIAMS, 2000; GATTO et al., 2000; ARREDONDO et al., 2004; DÍAZ & HEINZEN, 2006).

A luteolina foi utilizada com eficácia como agente vasodilatador e antiplaquetário (SANTOS et al., 1999). 3-O-metilquercetina possui atividade antiviral (FORMICA & REGELSON, 1995), além de ter sido recentemente estudada para atividade anticancer (CARINI et al. 2015).

Martino et al. (1989) encontraram ácidos cafeicos em infusões e extratos etanólicos de ramos de macela. López et al. (1996) analisaram quali e quantitativamente os derivados de ácidos cafeicos provenientes de oito amostras

comerciais de macela. Lopez et al. (2006) avaliaram qualitativa e quantitativamente via HPLC os teores de ácidos cafeicos em amostras de ramos de *A. saturoioides*, *A. tomentosa*, *A. alata* e *A. flaccida*, sendo esta última a que apresentou menores teores dessa substância química.

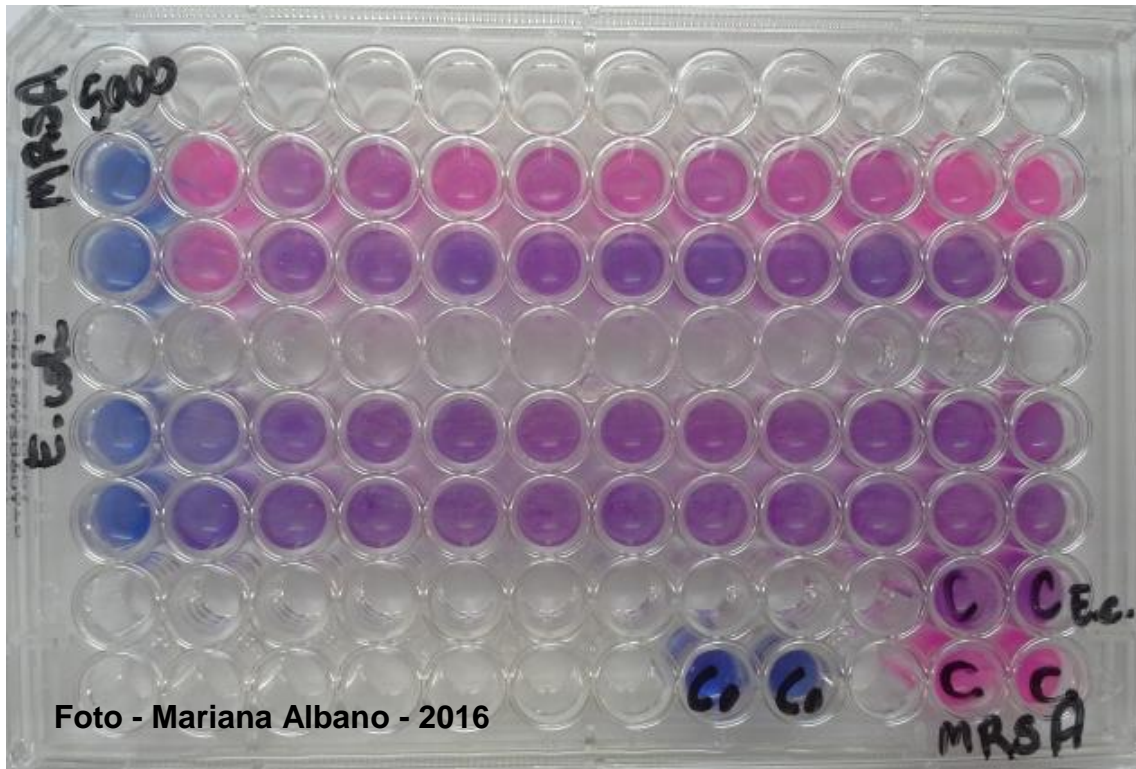
Asolini et al. (2006) identificaram grande variação de substâncias fenólicas nos diferentes tipos de chás, incluindo a macela. Petrovick et al. (2010), estudaram o extrato seco de macela. Os autores identificaram quercetina (0,38%), luteolina (0,17%) e 3-O-metilquercetina (0,88%) como os principais polifenóis.

4.12 Atividade antibacteriana

No presente estudo, o óleo essencial das inflorescências de macela, nas concentrações de 2,4 a 5,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, não proporcionaram inibição suficiente de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Como pode ser visto na figura 28, as tonalidades não se alteraram de forma padronizada, atingindo apenas a coloração lilás. Para que pudesse ser visualizada a ação antibacteriana dos teores de óleo em relação ao controle, tonalidades próximas ao azul deveriam ser atingidas à medida que os teores de óleo essencial aumentassem.

Figura 28 - Placa de 96 poços utilizada no experimento de microdiluição após adição de resazurina, Botucatu, São Paulo - 2016.



Na literatura, foram encontrados artigos com diferentes resultados quanto à determinação da atividade antibacteriana do óleo essencial da macela.

Gonzales e Marioli (2010), em pesquisa realizada na Argentina, testaram o óleo essencial de macela contra a bactéria *Paenibacillus larvae* e obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo. As amostras de óleo essencial de macela não foram eficazes para inibir o crescimento da bactéria testada. Sonaglio et al. (1992), utilizando óleo essencial provenientes das inflorescências da macela, também não verificaram atividades antimicrobianas contra *S. aureus*, *E. coli* e *Candida albicans*. No entanto, os mesmos autores e no mesmo trabalho, sugerem que essa atividade relatada pela etnofarmacologia e observada em testes farmacológicos, possa ser causada por outras substâncias presentes nas inflorescências ou mesmo nos ramos da macela.

Outras pesquisas demonstram potencial da macela contra outras bactérias, como a realizada por Mota et al. (2011a). Os autores, estudando a atividade antibacteriana *in vitro* de inflorescências de macela sobre agentes bacterianos, constataram que os

extratos provenientes das inflorescências de macela promoveram capacidade de inibição *in vitro* sobre os quatro inóculos bacterianos testados: *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* e *Staphylococcus enteritidis*. Esses resultados se diferenciam da presente pesquisa, pois outras variáveis foram consideradas tais como, tempo, formas de extração (uma hidroalcoólica e duas por decocção, com e sem reconstituição hídrica), e presença ou ausência de desinibidores bacterianos.

Joray et al. (2013) também obtiveram resultados positivos quanto à ação do óleo essencial da macela contra as bactérias testadas. Os autores concluíram que os compostos 23-metil-6-O-desmetilauricepirona, quercetina e 3-O-metilquercetina, obtidos de macela, apresentam efeito sinérgico ou aditivo na inibição do crescimento de *E. coli* e *S. aureus*.

Apesar de serem poucos os trabalhos que tenham estudado as atividades antibacterianas dos óleos essenciais de macela, sabe-se que as indústrias farmacêuticas têm buscado novas moléculas capazes de inibir a proliferação ou a morte das bactérias, uma vez que elas possuem, dentre outras capacidades, a de adquirir resistência aos antibióticos sintéticos (NAGAPPAN et al., 2011).

Pesquisas que avaliem o uso de óleos essenciais com ação antimicrobiana são justificadas também porque é comum encontrar na literatura científica artigos que comprovem a atividade antibacteriana desses compostos de diferentes espécies, como, por exemplo, as pesquisas de Prabuseenivasan et al. (2006) que verificaram eficácia dos óleos de 19 das 21 espécies testadas, de Park et al. (2016) com óleo essencial de *Eucalyptus globulus* e Singh et al. (2015) com óleo essencial de *Mentha piperita*.

Diante desses resultados, acredita-se que para haver atividade antibacteriana, é possível que a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de macela deva ser maior que $5,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

5 CONCLUSÕES

Pode-se inferir com estes resultados que não houve interação significativa entre os fatores analisados para a maioria das variáveis testadas. Houve interação significativa apenas entre os teores de 3-O-metilquercetina detectados nas inflorescências, sendo a maior dose de adubo no maior espaçamento o tratamento que acumulou maior teor (323,45 mg/100g). As concentrações de óleo testadas para atividade antibacteriana não foram suficientes para atingir a concentração mínima inibitória. Por fim, entende-se que a cultivar CPQBA 2 atingiu valores satisfatórios para a maioria das variáveis com teor de adubação ao redor de 30 t ha⁻¹ e espaçamento de 50cm entre plantas e entre linhas.

6 ANEXO

TERMO DE RESPONSABILIDADE PARA TRANSPORTE DE AMOSTRA DE COMPONENTE DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

Exclusivo para amostra usada em projeto de pesquisa sem potencial de uso econômico, que não requeira depósito definitivo da amostra ou parte da mesma na instituição onde será realizada a pesquisa

O Termo de Responsabilidade para Transporte de Amostra de Componente do Patrimônio Genético foi instituído para controlar o transporte de amostras de patrimônio genético, existente em condição *in situ*, no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, mantidas em condição *ex situ*, destinadas a instituições de pesquisa nacionais e de outros países, com base nas seguintes premissas:

- a) o reconhecimento de que o intercâmbio do patrimônio genético realizado entre instituições de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, sediadas no Brasil e no exterior, é fundamental para o avanço do conhecimento sobre a biodiversidade brasileira; e
- b) a necessidade de garantir o cumprimento do disposto na Convenção sobre a Diversidade Biológica – CDB, em especial, a soberania nacional sobre a biodiversidade, o consentimento prévio fundamentado e a repartição de benefícios decorrentes do uso do patrimônio genético.

Instituição responsável pela(s) amostra(s): **Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, campus Botucatu.**

Representante Legal: **M.Sc. Daniel Garcia**

Coordenador do projeto de pesquisa: **Prof. Dr. Lin Chau Ming**

Título do projeto de pesquisa: **Desenvolvimento vegetal, análise fitoquímica do óleo essencial, análise quali e quantitativa de flavonoides do extrato hidroalcoólico com ênfase no acúmulo de quercetina, 3-O-metilquercetina e luteolina de *Achyrocline satureioides* cv. CPQBA 2 em função de teores de adubo orgânico, espaçamentos e quatro coletas**

Responsável pelo transporte da(s) amostra(s): **M.Sc. Daniel Garcia**

Instituição de destino da(s) amostra(s)/país: **Universidade de Xangai Jiao Tong/China**

Discriminação da(s) amostra(s) a ser(em) transportada(s): **serão transportadas amostras de *Achyrocline satureioides* em forma de pó e o produto em forma de óleo essencial. Todas amostras estarão devidamente armazenadas em *eppendorfs* e acomodados em caixas de isopor.**

A instituição remetente e o coordenador do projeto de pesquisa acima especificado, considerando o disposto na Convenção sobre a Diversidade Biológica, na Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, no Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, alterado pelo Decreto nº 4.946, de 31 de dezembro de 2003, e na Resolução nº 15, de 27 de maio de 2004, do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, comprometem-se a utilizar as amostras de patrimônio genético a serem acessadas no projeto de pesquisa de acordo com as seguintes condições:

1. O material transportado deverá ser utilizado para o desenvolvimento de pesquisas sem potencial de uso econômico, em estrita observância ao exposto no projeto de pesquisa acima especificado.

Modelo padronizado de etiqueta de advertência a ser afixada no exterior da embalagem contendo a amostra de componente do patrimônio genético transportada. Quando pertinente, será acompanhada de etiqueta na versão inglesa, espanhola ou francesa.

ATENÇÃO!

**AMOSTRA DE PATRIMÔNIO GENÉTICO DO BRASIL
(Material Biológico)**

USO EXCLUSIVO EM PESQUISA SEM VALOR COMERCIAL

**De acordo com Resolução nº 15, de 27 de maio de 2004,
do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
(Medida Provisória no 2.186-16, de 2001)**

<http://www.mma.gov.br/port/cgen>

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. 2007. Identification of essential oils components by gas chromatography mass spectroscopy. 4th, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA, 804 pp.

AJALLA, A.C.A.; VIEIRA, M.C.; ZARATE, N.A.H.; MOTA, J.H.; SOUZA, T.M. Produtividade da marcela [*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.] em cultivo solteiro e consorciado com tansagem (*Plantago major* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p.488-495, 2009.

AL-FRAIHAT, A.H.; AL-DALAIN, S.Y.A.; AL-RAWASHDEH, Z.B.; ABU-DARWISH, M.S.; AL-TABBAL, J.A. Effect of organic and biofertilizers on growth, herb yield and volatile oil of marjoram plant grown in Ajloun region, Jordan. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, n.13, p.2822-33, 2011.

ALMEIDA, E.R. **Plantas medicinais brasileiras, conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus, 1993, 341p.

ALONSO, J.R. **Tratado de fitomedicina: bases técnicas y farmacológicas**. Bueno Aires: Isis Ediciones SRL, 1998, 1039 p.

ALVEZ, L. F. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 450-513, 2013.

AMOROS, M.; SIMÕES, C.M.A.; GIRRE, L.; CORMIER, M. Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. **Journal of Natural Products**, v.55, n.12, p.1732-1740, 1993.

ANDRIÃO, M.A.; SANTOS PEREIRA, F.C.; MARTINS, M.I.E.G.; DO SACRAMENTO, V.S. Estimativas de custo de produção e rentabilidade de plantas medicinais: carqueja cultivada no município de Cajuru, Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v.40, n.2, 2010.

ANMAT, Administração Nacional de Medicamentos, Alimentos e Tecnologia Médica: Disponível em: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/mercosur/ACTA01-14/AGREGADO_XVI/nr/Minuta_macela_droga_vegetal_MERCOSUL.pdf. Acesso em 19 de mar. 2014.

ARREDONDO, M.F.; BLASINA, F.; ECHEVERRY, C.; MORQUIO, A.; FERREIRA, M.; ABIN-CARRIQUIRY, J.A.; LAFON, L.; DAJAS, F. Cytoprotection by *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. and some of its main flavonoids against oxidative stress. **Journal Ethnopharmacology**, v.91, p.13–20, 2004.

ASOLINI, F.C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T.; FERRAZ, C.; DE ALENCAR, S.M. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Braz. J. Food Technol.**, v.9, n.3, p. 209-215, 2006.

AWAD, A.M.; DE JAGER, A.; VAB WESTIBNG, L.M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in aple fruit: characterization of variation. **Scientia Horticulturae**, v. 83, p. 249-263, 2000.

BARATA, L.E.S.; ALENCAR, A.A.J.; TASCONE, M.; TAMASHIRO J. Plantas Mediciniais Brasileiras. I. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Macela). **Revista Fitos**, v.4 n,01, março, 2009.

BASTIANELLO, C.P.C.; FRIES, L.L.M.; TERRA, N.N.; DE CAMPOS, R.M.L. The influence of *Achyrocline satureioides* ("Marcela") extract on the lipid oxidation of salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.1, p.101-105, 2011.

BAUER, I.; CESIO, V.; COLLIN, G.J.; DELLACASSA, E.; FERREIRA, F.; GONZÁLEZ, A.; GONZÁLEZ, G.; HEINZEN, H.; MAHLER, G.; MENÉNDEZ, P.; MERONI, G.; MINICELLI, D.; MOYNA, P.; VÁSQUEZ, A.; ALONSO, E.; ROSSINI, C.; SOULE, S. 1992. ***Achyrocline satureioides* chemotypes**. In: I. World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare, Maastricht, Holanda.

BDMEP (Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa). Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/>. Acessado em 20 de jun. 2016.

BIZZO, H.R.; HOVEL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, n. 3, p. 588-94, 2009.

BLANK, A.F.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SANTOS NETO, A.L. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n.1, p.113-116, 2004.

BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; OLIVEIRA, A.S.. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n.3, p.780-784, 2005.

BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; AMANCIO, V.F.; MENDONÇA, M.C.; SANTANA FILHO, L.G.M. Densidades de plantio e doses de biofertilizante na produção de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.3, 2007.

BOECKELMANN, A. Monoterpene production and regulation in lavenders (*Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia*). MSc Thesis, University of British Columbia Okanagan, pp 70–71, 154–156, 2008.

BOLETIM 200. **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Campinas, Instituto Agrônômico, 7ª edição, 452 p., 2014.

BOLSON, M.; HEFLER, S.R.; DALL'OGGIO CHAVES, E.I.; GASPAROTTO JUNIOR, A.; CARDOZO JUNIOR, E.L. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 1–10, 2015.

BOSCOLO, O.H.; VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissama, Rio de Janeiro, Brasil. **IHERINGIA**, v. 63, n.2, p.263-77, 2008.

BOUSMAHA, L.; BEKKARA, F.A.; TOMI, F.; CASANOVA, J. Advances in the chemical composition of *Lavandula dentata* L. essential oil from Algeria. **Journal of Essential Oil Research**, v.17, n.3, p.292, 5, 2005.

BRANDELLI, C.L.C.; GIORDANI, R.B.; DE CARLI, G.A.; TASCA, T. Indigenous traditional medicine: in vitro anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. **Parasitology Research**, v. 104, 1345–49, 2009.

BRASIL. **Boas Práticas Agrícolas de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 48 p., 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Direção de Administração e Finanças. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **RENISUS - Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS**. 2009. 1p. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2009.

BROOKS, J.S.; FEENY, P. Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles, **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, 769-82, 2004.

BRUNETON, J. **Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinais**. 2ª edição, Editora Acribia, 1099 p., 2001.

CALVO, D.; CARIDDI, L.N.; GROSSO, M.; DEMO, M.S.; MALDONADO, A.M. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela) antimicrobial activity on *Staphylococcus* spp. and immunomodulating effects on human lymphocytes. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v.48, n.3-4, p.247-55, 2006.

CAMPOS, F.L. VALENTE, P.; ETHUR, E.M.; AVANCINI, C.A.M. Atividade desinfetante do extrato hidroalcoólico bruto de *Achyrocline satureioides* (Asteraceae) sobre *Candida* spp. isoladas em situações-problema de mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.4, p.327-333, 2016.

CARINI, J.P.; KLAMT, F.; BASSANI, V.L. Flavonoids from *Achyrocline satureioides*: promising biomolecules for anticancer therapy. **Royal Society of Chemistry**, v.4, 3131–44, 2014.

CARINI, J.P.; LEITÃO, G.G.; SCHNEIDER, P.H.; SANTOS, C.C.; COSTA, F.N.; HOLZSCHUH, M.H.; KLAMT, F.; BASSANI, V.L. Isolation of Achyrochalcone from *Achyrocline satureioides* by High-Speed Countercurrent Chromatography. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.16, 66-71, 2015.

CARVALHO, R.I.N. **Caracterização da exploração de carqueja e espinheira-santa na Região Metropolitana de Curitiba**. Relatório de pesquisa. Curitiba: SEAB-PR, 60 p., 2003.

CARVALHO JUNIOR, P.M.; RODRIGUES, R.F.; SAWAYA, A.C.; MARQUES, M.O.; SHIMIZU, M.T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of Ethnopharmacology**, v.95, p.297-301, 2004.

CASTOLDI, R.; CHARLO, H.C.O.; VARGAS, P.F.; BRAZ, L.T.; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; MENDONÇA, J.L. Influência do espaçamento entre plantas em características agrônômicas de dois genótipos de soja-hortaliça de ciclo tardio em Jaboticabal-SP. **Científica**, v.37, n.2, p.61 - 66, 2009.

CEZAROTTO, V.S.; GIACOMELLI, S.R.; FLORES, E.M.M.; MACK, J.M.; BARIN, J.S.; DA SILVA, U.F.; LINARES, C.E.B. Seasonal variation, chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. **Latin American Journal of Pharmacology**, v. 30, 1536–41, 2011.

CHAGAS, J.H; PINTO, J.E.B.P; BERTOLUCCI, S.K.V; SANTOS F.M.; BOTREL, P.P.; PINTO, L.B.B. Produção da hortelã-japonesa em função da adubação orgânica no plantio e em cobertura. **Horticultura Brasileira**, v. 29, 412-7, 2011.

CHAVES, M.H.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D.; ANTÔNIO, D.A.D.C.; COSTA, A.F.C.; JUNIOR, A.F.M.B. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n.1, 2010.

CHE, C.T. Plants as a source of potential antiviral agents. **Economical and Medicinal Plant Research**, v.5, p.167-251, 1991.

CHEN, G.; WANG, S.; HUANG, X.; HONG, J.; DU, L.; ZHANG, L.; YE, L. Review Environmental factors affecting growth and development of Banlangen (*Radix isatidis*) in China. **African Journal of Plant Science**, v. 9, n.11, pp. 421-426, 2015.

CHEW, V. Comparing treatment means: a compendium. **Hortscience, Alexandria**, v.11, n.4, p.348-35, 1976.

CORREA JR., C.; MING, L. C., SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Jaboticabal: FUNEP, 1994, 162p.

CORREA, JR., C.; GRAÇA, L.R.; SCHEFFER, M.C. **Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnóstico e perspectivas**. Brasil, Curitiba: Editora Embrapa, 272p., 2004.

CORREA, JR., C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 75p., 2006.

CORTÉS, A.M.P.; BIASI, L.A.; MONTE-SERRAT, B.; NAKASHIMA, T. Extração de nutrientes pela parte aérea de carqueja sob a influência de fontes e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 6, p. 1809-12, 2007.

COUTINHO, I.D.; KATAOKA, V.M.F.; HONDA, N.K.; COELHO, R.C. VIEIRA, M.C.; CARDOSO, C.A.L. Influência da variação sazonal nos teores de flavonoides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.3, p. 322-327, 2010.

CRAVEIRO, A.A.; FERNANDES, A.G.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.E.; MACHADO, M.I.L. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: UFC, 210 p., 1981.

CUNHA, A.R.; MARTINS, D.; RICARTE, R.M. **Atualização da classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), p. 7, 2005.

DA SILVA, C.B.; SIMIONATTO, E.; HESS, S.C.; PERES, M.T.L.P. Composição química e atividade alelopática do óleo volátil de *Hydrocotyle bonariensis* Lam. (Araliaceae). **Quimica Nova**, v. 32, n. 9, p.2373-2376, 2009.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, p.174–181, 2012.

DAL MAGRO, J.; RENK, M.H.; GARCIA, F.R.M.; YUNES, R.A.; MAGRO, D. Eficiência de repelentes à base de extratos de *Achyrocline satureioides* e *Cucurbita pepo* sobre simulídeos. **XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Águas de Lindóia, Anais do Congresso, p.163, 1998.

DAVIES, P. Experimentation on the cultivation of *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. and *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. in Uruguai. **Acta Horticulturae**, n. 502, 1999.

DAVIES, P.; VILLAMIL, J.J. **Estudios en domesticación y cultivo de espécies medicinales y aromáticas nativas**. Serie FPTA-INIA, nº 11, 2004.

DE SOUZA, K.C.B.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, L.L.C. Determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 5 ed., v. 28, 771–7, 2002.

DÍAZ, C.; HEINZEN, H. Variaciones en el perfil de flavonoides y en la cantidad de quercetina libre en diferentes extractos de *Achyrocline satureioides*. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.25, n.4, p.574-7, 2006.

DICKEL, M.L.; RATES, S.M.K.; RITTER, M.R. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 109, p. 60–71, 2007.

DO CARMO, G.M.; BALDISSERA, M.D.; VAUCHER, R.A.; RECH, V.C.; OLIVEIRA, C.B.; SAGRILLO, M.R.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.A.; ALVES, M.P.; FRANCA, R.T.; LOPES, S.T.A.; SCHWERTZ, C.I.; MENDES, R.E.; MONTEIRO, D.G.; DA SILVA, A.S. Effect of the treatment with *Achyrocline satureioides* (free and nanocapsules essential oil) and diminazene aceturate on hematological and biochemical parameters in rats infected by *Trypanosoma evansi*. **Experimental Parasitology**, v. 149, S/N, p.39-46, 2015.

DOS SANTOS, M.D.; BLATT, C.T.T. Teor de flavonoides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Brazilian Journal of Botany**, v. 21, n. 2, 1998.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. [Apostila]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista, 1999.

ELOFF J.N. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, 355-60, 1999.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisas Agrícolas. Disponível em: http://bbeletronica.cnph.embrapa.br/2008/ct/ct_62.pdf. Acessado em jul. 2017.

EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. ed. Rio de Janeiro, 2006, 306 p.

ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M. Fast separation of (poly)phenolic compounds from apples and pears by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. **Journal of Chromatogram**, v. 830, n. 2, 301-9, 1999.

ESPIÑA, D.C.; CARVALHO, F.B.; ZANINI, D.; SCHLEMMER, J.B.; CORACINI, J.D.; RUBIN, M.A.; MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.; LEAL, D.B.; BAIOTTO, C.R.; JAQUES, J.A. A more accurate profile of *Achyrocline satureioides* hypocholesterolemic activity. **Cell Biochem Function**, v.30, n.4, p.347-53, 2012.

EVELINE, D.; STOLZA, L.G.; MÜLLER, M.T.R.; BAUMHARDT, E.; RITTER, M.R.; STELA, M.K. Survey of plants popularly used for pain relief in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n° 2, 185–196, 2014.

FACHINETTO, J.M.; BAGATINI, M.D.; DURIGON, J.; DA SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Efeito antiproliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p.49-54, 2007.

FAVORITO, P.A.; ECHER, M.M.; OFFEMANN, L.C.; SCHLINDWEIN, M.D.; COLOMBARE, L.F. Características produtivas do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função do espaçamento entre plantas e entre linhas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, especial, p.582-6, 2011.

FERNANDES, L.C.; SCHENKEL, E.P.; SPITZER, V. **Identificação das substâncias responsáveis pelo amargo característico de preparação de *Achyrocline satureioides***. XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Florianópolis, Anais do Congresso. p.189, 1996.

FISCHEDICK, J.T.; HAZEKAMP, A.; ERKELENS, T.; CHOI, Y.H.; VERPOORTE, R. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. **Phytochemistry**, v.71, p. 2058–2073, 2010.

FORMICA, J.V.; REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids, **Food and Chemical Toxicology: An International Journal**, v.33, p.1061–1080, 1995.

FURLAN, M.R. **Cultivo de plantas medicinais**. Cuiabá: vol. 1, 3 ed., SEBRAE, 2005, 137p.

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

GARCIA, D. **Desenvolvimento, rendimento, teor e componentes do óleo essencial em função de adubação orgânica e rebroto de *Baccharis trimera* (Less.) DC. cv. CPQBA-1**. Dissertação (Mestrado) apresentada na Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2013, 99p.

GATTO, M.T.; FALCOCCHIO, S.; GRIPPA, E.; MAZZANTI, G.; BATTINELLI, L.; NICOLOSI, G.; LAMBUSTA, D.; SASO, L. Antimicrobial and anti-lipase activity of quercetin and its C2-C16 3-O-acyl-esters, **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.10, 269–272, 2000.

GERSHENZON, J.; MC CONKEY, M.E.; CROTEAU, R.B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v.122, p.205–13, 2000.

GILLIJ, Y.G.; GLEISER, R.M.; ZYGADLO, J.A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. **Bioresource Technology**, v. 99, 2507–15, 2008.

GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L.P. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, p. 52-61, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, 374-81, 2007.

GONZALEZ, A. Biological screening of uruguayan medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.39, n. 3, p. 217-220, 1993.

GONZÁLEZ, M.J.; MARIOLI, J.M. Antibacterial activity of water extracts and essential oils of various aromatic plants against *Paenibacillus larvae*, the causative agent of american foulbrood, **Journal of Invertebrate Pathology**, v.104, n.3, pp. 209-213, 2010.

GORDON, M.H.; ROEDIG-PENMAN, A. Antioxidant activity of quercetin and myricetin in liposomes, **Chemistry and Physics of Lipids**, v.97, n.1, p.79–85, 1998.

GRASSI-ZAMPIERON, R.F.; VIEIRA, M.C.; SIQUEIRA, J.M. Atividade antioxidante e captora de radicais livres dos extratos de *Achyrocline alata* (Kunth.) DC. em comparação com extratos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2, 2009.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, A.C. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p.481- 504, 2000.

HARDY, K. et al. Neanderthal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. **Naturwissenschaften**, v.99, p.617–626, 2012.

HE, S.A.; SHENG, H. Utilization and conservation of medicinal plants in China with special reference to *Atractylodes lancea*. In: FAO. (1997). **Medicinal Plants for Forest Conservation and Healthcare**. FAO, Rome, Italy, 1997.

HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.40, n.12, p.2379-83, 1992.

IKEDA, K.; TSUJIMOTO, K.; UOZAKI, M.; NISHIDE, M.; SUZUKI, Y.; KOYAMA, H.; YAMASAKI, H. Inhibition of multiplication of herpes simplex virus by caffeic acid. **International Journal of Molecular Medicine**, v.28, pp. 595–598, 2011.

JORAY, M.B.; PALACIOS, S.M.; CARPINELLA, M.C. Understanding the interactions between metabolites isolated from *Achyrocline satureioides* in relation to its antibacterial activity. **Phytomedicine**, v.20, n.3-4, p.258-261, 2013.

JORAY, M.B.; ROLLÁN, M.D.R.; RUIZ, G.M.; PALACIOS, S.M.; CARPINELLA, M.C. Antibacterial activity of extracts from plants of central Argentina isolation of an active principle from *Achyrocline satureioides*. **Planta Medica**, v.77, p.95–100, 2011.

KALOUSTIAN, J.; PAULI, A.M.; PASTOR, J. Decomposition of bio-polymers of some mediterranean plants during heating. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.61, p.13–21, 2000.

KIEHL, E.J. **Adubação orgânica: 500 perguntas & respostas**. Piracicaba, Degaspari., 234p., 2005.

KOCH, V. **Estudo Etnobotânico das Plantas Medicinais na Cultura Ítalo-brasileira no Rio Grande do Sul – Um Modelo Para o Cultivo Comercial na Agricultura Familiar**. Tese de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 152 p., 2000.

LABUCKAS, D.O.; MAESTRI, D.M.; GROSSO, N.R.; ZYGADLO, J.A. Essential oils of *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline alata* and *Achyrocline tomentosa*. **Planta Medica**, v.65, n.2, p.184-6, 1999.

LAMATY, G.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J.M.; SCHENKEL, E.; DOS SANTOS, M.A.; BASSINI, V. The chemical composition of some *Achyrocline satureioides* and *Achyrocline alata* oils from Brazil. **Journal of Essential oil and Research**, v.3, n.5, p. 317–321, 1991.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, Editora Rima-artes e textos, p.531, 2000.

LASTRA, C.A.D.; MARTIN, M.J.; MOTILVA, V. Antiulcer and gastroprotective effects of quercetin: a gross and histologic study. **Pharmacology**, v.48, p.56–62, 1994.

LEAL, P.; QUEIROGA, C.; RODRIGUES, M.; MONTANARI, I.; MEIRELES, M.A.; Global yields, chemical compositions, and antioxidant activities of extracts from *Achyrocline alata* and *Achyrocline satureioides*. **Pharmacognosy Magazine**, v.2, p.153–159, 2006.

LICATTI, F. **Isótopos estáveis do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) em plantas do ciclo bioquímico C3 e C4**. [Monografia]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista, 1997.

LIN, Y.L.; CHANG, C.C.; LEE, I.J. Review on phytochemical study of Asteraceae in Taiwan (1996~2005). V.19, n.(3,4), p.135-149, 2008.

LOEUILLE, B. ***Achyrocline* em, A Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

LOPEZ, P.; BROUSSALIS, A.; RODRÍGUEZ, M.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Análisis de muestras comerciales de "marcela" (*Achyrocline satureioides*). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.15, p.243-249, 1996.

LOPEZ, P., FERRARO, G., BROUSSALIS, A., Determinación del contenido de derivados cafeilquínicos en especies sudamericanas del género *Achyrocline*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.25, p.571–573, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 512 p., 2008.

LORENZO, D.; TAI-SERAFINI, L.; SANTOS, A.C.; FRIZZO, C.D. *Achyrocline satureioides* essential oils from Southern Brazil and Uruguay. **Planta Medica**, v.66, p.476–477, 2000.

LUCAS, D.A.P.; RODRIGUES, M.R.A.; ALVES, G.H. Caracterização dos constituintes químicos majoritários do óleo essencial da *Achyrocline satureioides* Lam. DC. via GC-MS e GC-FID. 49° Congresso de Química, **resumo**, 2009.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JR., V.F.; GRYNBERG, N.F. Plantas Medicinais: a Necessidade de Estudos Multidisciplinares. **Quimica Nova**, v.25, n. 3, p.429-438, 2002.

MAGALHAES, P.M. Agrotecnología para el cultivo de marcela o macela. *In*: Martínez, A., Bernal, H.Y., Cáceres, A. (Eds.), **Fundamentos de Agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas**. SECAB, Santafé de Bogotá, 2000.

MAIA, J.T.L.S.; MARTINS, E.R.; COSTA, C.A.; FERRAZ, E.O.F.; ALVARENGA, I.C.A.; SOUZA JÚNIOR, I.T.; VALADARES, S.V. Influência do cultivo em consórcio na produção de fitomassa e óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e

hortelã (*Mentha x villosa* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.2, p.137-140, 2009.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php. Acesso em ago. 2015.

MARCO, C.A.; INNECCO, R.; MATTOS, S.H.; BORGES, N.S.S.; FILHO, S.M. Influência de espaçamento, altura e época de corte no rendimento da biomassa e óleo essencial na cultura de capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.). **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, 32-6, 2006.

MARQUES, F.C.; BARROS, I.B.I. Crescimento inicial de marcela (*Achyrocline satureioides*) em ambiente protegido. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.517-8, 2001.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chemistry**, v.113, 1370–6, 2009.

MARTINO, V.; FERRARO, G.E.; DEBENEDETTI, S.L.; COUSSIO, J.D. Determinación espectrofotométrica del contenido de ácidos cafeoilquínicos en especies argentinas de Compuestas usadas en medicina popular. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.8, p.3-9, 1989.

MARTINS, D.G.; SANTOS, E.R.; MACIEL, G.G.M.; DIV, M.B.S.; NASCIMENTO, S.C. Estudos toxicológicos, microbiológicos e in vitro de *Achyrocline satureioides*. X Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, São Paulo, Resumo 29, **Anais do Congresso**, p.719, 1988.

MASETTO, M.A.M.; DESCHAMPS, C.; MÓGOR, A.F.; BIZZO, H.R. Teor e composição do óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* L. em diferentes estádios de desenvolvimento floral e épocas de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p.413-421, 2011.

MAZZELLA, C.; RODRÍGUEZ, M.; VAIO, M.; GAIERO, P.; LÓPEZ-CARRO, B.; SANTINAQUE, F.F.; FOLLE, G.A.; GUERRA, M. Karyological features of *Achyrocline* (Asteraceae Gnaphalieae): Stable karyotypes, low DNA content variation and linkage of rRNA genes. **Genome Research**, v.128, 169–176, 2010.

MENEZES, J.R., A. Aspectos Agronômicos Básicos em Fitoterapia. In: Ferro, D. Fitoterapia: conceitos clínicos. São Paulo: **Atheneu**, p. 67-82, 2006.

MING, L.C. **Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br.-Verbenaceae**. In: Ming, L.C. (Coord.). Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica. Botucatu: UNESP, v.1, 165-92, 1998.

MING, L.C. Influência da adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial de *Lippia alba*. **Horticultura Brasileira**, vol.12, n.1, 49-52, 1994.

MMA (Ministério de Meio Ambiente). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**, Brasília, DF. 2011, 934p.

MONTANARI JR. CPQBA desenvolve 1º cultivar brasileiro de planta medicinal. *Jornal da UNICAMP*, ano XXIII, nº 430, 2009. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/maio2009/ju430_pag03.php#. Acessado em 2009.

MONTANARI, R.M. Phenotypical plasticity of the external morphology in *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britt & Wilson in response to level of luminosity and fertilization. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.3, 96-101, 2004.

MONTANARI JR, I. Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas. CPQBA-UNICAMP, Campinas, SP. 2002. Disponível em: <http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/producao.htm> >. Acesso em 25 jul 2016.

MONTEIRO, J.M.; DE ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L.; DE AMORIM, E.L.C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.

MOTA, E.P.M.; SOARES, T.S.; VIEIRA, M.C. Crescimento da espécie medicinal tansagem (*Plantago major* L.) em função da adubação fosfatada e nitrogenada. **Ciência Agrotécnica**, v.32, n.6, p.1748-1753, 2008.

MOTA, F.M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana in vitro de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. - Asteraceae (“macela”, “marcela”) sobre agentes bacterianos de interesse em alimentos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v.13, n.3, p.298-304, 2011a.

MOTA, J.H., VIEIRA, M.C.; ARAÚJO, C. Growth and yield of lettuce and marcela (*Achyrocline satureioides*) in single-cultivar and intercropping. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.33, n.2, p. 269-273, 2011b.

MUNARIN, E.E.O.; HEREDIA ZÁRATE, N.A.; VIEIRA, M.C.; ROSA, Y.B.C.J.; RODRIGUES, E.T. Spacing among plants and soil covering with poultry litter in burdock (*Arctium lappa* L.) production. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.2, p.141-148, 2010.

NAGAPPAN, T.; RAMASAMY, P.; WAHID, M.E.A.; SEGARAN, T.C.; VAIRAPPAN, C.S. Biological activity of carbazole alkaloids and essential oil of *Murraya koenigii* against antibiotic resistant microbes and cancer cell lines. **Molecules**, v.16, 9651-64, 2011.

NEVES, D.P. **Estudo farmacológico do timol e Carvacrol sobre a contratilidade da aorta isolada de rato**. Dissertação (mestrado em ciências fisiológicas), Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, p.94. 2009.

NIRMAL, S.A.; CHAVAN, M.J.; TAMBE, V.D.; JADHAV, R.S.; GHOGARE, P.B.; BHALKE, R.D. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of

Wedelia trilobata leaves. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v.21, n.3, p.33-5, 2005.

NUNES, J.; TARACHUCKY, E.B.; PACKOWSKI, D.H.; SOARES, S.R.S.; DA SILVA, T.M. **Extração de corantes naturais da flor da marcela para uso em tingimentos de artigos têxteis de algodão**. Seminário de pesquisa, extensão e inovação do IFSC, 2013.

OHSHIMA, H.; YOSHIE, Y.; AURIOL, S.; GILIBERT, I. Antioxidant and pro-oxidant actions of flavonoids: effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxy nitrite and nitroxyl anion. **Free Radical Biology and Medicine**, v.25, n.9, p.1057–1065, 1998.

OLIVEIRA, M.A.S.; INNECCO, R. Produção de biomassa de inflorescências em função de espaçamentos e adubação orgânica com jumbu (*Acmella oleracea* – Asteraceae). **Essentia**, v.16, n.esp., p. 1-11, 2015.

OZÇELIK, B.; KARTAL, M.; ORHAN, I. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids and phenolic acids. **Pharmaceutical Biology**, v.49, pp. 396–402, 2011.

PANIZZA, S.; PEREIRA, E.B.C.; PEREIRA, A.V.; SILVA, D.B. **Plantas que curam: cheiro do mato**. 19. ed. São Paulo: IBRASA, 1998, 279 p.

PANK, F. **Adaptation of medicinal and aromatic plants to contemporary requirements by breeding: aims, methods, and trends**. III International Symposium of Breeding Research on medicinal and aromatic plants & II Latin American Symposium on the Production of medicinal and aromatic plants and condiments. Campinas-SP, 2006.

PARK, J.W.; WENDT, M.; HEO, G.J. Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. **Laboratory Animal Research**, v.32, n.2, p.87-90, 2016.

PEREIRA, E.B.C.; PEREIRA, A.V.; SILVA, D.B.; VIEIRA, R.F. Seedling growth of mamacadeira (*Brosimum gaudichaudii* Trec.) on six different substrates. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.especial, p.190-2, 2006.

PETENATTI, E.M.; NIEVAS, C.M.; PETENATTI, M.E.; DEL VITTO, L.A. Medicamentos Herbarios en el Centro-oeste Argentino, IV. “Marcelas” y “Vira-viras” en Muestras Comerciales. **Acta Farm. Bonaerense**, v.23, n.4, p.484-91, 2004.

PIÑOL, M.T.; PALAZÓN, J.; CUSIDÓ, R.M. **Introducción al metabolismo secundario**. In: Azcón-Bieto, J., Talón, M. (Eds.), Fundamentos de fisiología vegetal. Ediciones Universitat de Barcelona, McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid, p. 261–83, 2000.

PIRKER, H.; HASELMAIR, R.; KUHN, E.; SCHUNKO, C.; VOGL, C.R. Transformation of traditional knowledge of medicinal plants: the case of Tyroleans

(Austria) who migrated to Australia, Brazil and Peru. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, vol.8, n.44, 2012.

POPOVA, M.; BANKOVA, V.; BUTOYSKA, D.; PETKOV, V.; NIKOLOVA DAMYANOVA, B.; SABATINI, A.G.; MARCAZZAN, G.L.; BOGDANOV, S. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, vol. 15, 235-40. 2004.

PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M. IGNACIMUTHU, S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.6, n.39, 2006.

PREZOTTI, L.C.; GUARÇONI, A.M. **Guia de interpretação de análise de solo e foliar**. Incaper Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – Vitória, ES, 2013. 104p.

QUEIROZ, T.B.; MENDES, A.D.R.; SILVA, J.C.R.L.; FONSECA, F.S.A.; MARTINS, E.R. Teor e composição química do óleo essencial de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em função dos horários de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.356-362, 2016.

RADAELLI, V.; BALESTRIN, L.A.; LINARES, C.E.B.; DA SILVA, U.F.; BARIN, J.S.; FLORES, E.M.M.; GIACOMELLI, S.R. **Avaliação sazonal e atividade biológica dos constituintes voláteis das partes aéreas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.** In: Abstracts of the 32 Annual Meeting of Brazilian Society of Chemistry, Fortaleza, Brazil, 2009.

RAGGI, L. **Teor, composição química e atividade biológica de óleos voláteis de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski e *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. (Asteraceae).** Tese (Doutorado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, p.147, 2013.

RAM, M.; KUMAR, S. Yield improvement in the regenerated and transplanted mint *Mentha arvensis* by recycling the organic wastes and manures. **Bioresource Technology**, vol.59, 141-9, 1997.

REIS, M. S.; MARIOT, A. **Manejo de populações naturais de plantas medicinais em Santa Catarina.** In: Jornada catarinense de plantas medicinais, 1998, UNISUL – Universidade do Sul de Santa Catarina, p. 83-90, 1998.

REIS, M.S.; MARIOT, A.; STEENBOOCK, W. **Diversidade natural e aspectos agrônômicos de plantas medicinais.** In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 35-74.

RETTA, D.S.; LÓPEZ, P.G.; GATTUSO, M.A.; GATTUSO, S.J.; FILIP, R.; FERRARO, G.E.; BANDONI, A.L. Optimization and validation of the quantitative assay of flavonoids in *Achyrocline satureioides* and *A. flaccida*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.30, p.1360–1365, 2011.

RETTA, D.; DELLACASSA, R.; VILLAMIL, J.; SUÁREZ, S.A.; BANDONI, A.L. Marcela, a promising medicinal and aromatic plant from Latin America: A review. **Industrial Crops and Products**, vol. 38, 27– 38, 2012.

ROCHA, M.; FULGÊNCIO, S. F.; RABETTI, A. C.; NICOLAU, M.; POLI, A.; SIMÕES, C. M.; RIBEIRO DO VALE, R. M. Effects of hydroalcoholic extracts of *Portulaca pilosa* and *Achyrocline satureioides* on urinary sodium and potassium excretion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 43, n. 3, p. 179-183, 1994.

ROJAS DE ARIAS, A.; FERRO, E.; INCHAUSTI, A.; ASCURRA, M.; ACOSTA, N.; RODRIGUEZ, E.; FOURNET, A. Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v.45, p.3541, 1995.

RUMSEY, D. **Statistics II for Dummies**. Hoboken, New Jersey (EUA): Wiley Publishing Inc., p.392, 2009.

SABINI, M.C.; CARIDDI, L.N.; ESCOBAR, F.M.; MAÑAS, F.; COMINI, L.; IGLESIAS, D.; LARRAURI, M.; MONTOYA, S.N.; SERENO, J.; CONTIGIANI, M.S.; CANTERO, J.J.; SABINI, L.I. Potent inhibition of *Western Equine Encephalitis virus* by a fraction rich in flavonoids and phenolic acids obtained from *Achyrocline satureioides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n.5, p.571–578, 2016.

SABINI, M.C.; CARIDDI, L.N.; ESCOBAR, F.M.; MAÑAS, F.; COMINI, L.; REINOSO, E.; SUTIL, S.B.; ACOSTA, A.C.; NÚÑEZ MONTOYA, S.; CONTIGIANI, M.S.; ZANON, S.M.; SABINI, L.I. Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity and apoptotic induction of an aqueous extract of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Food and chemical toxicology**, vol.60, 463-70, 2013.

SABINI, M.C.; CARIDDI, L.N.; ESCOBARA, F.M.; BACHETTI, R.A.; SUTIL, S.B.; CONTIGIANI, M.S.; ZANON, S.M.; SABINI, L.I. Evaluation of cytogenotoxic effects of cold aqueous extract from *Achyrocline satureioides* by *Allium cepa* L.test. **Natural product communications**, v.6, n. 7, 995-8, 2011.

SAGGESE, D. **Medical herb of Argentina**. 10th ed. Rosario: Antognazzi & Co., 1959.189 p.

SANTOS, K.F.R.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S.; OLIVEIRA, M.G.A. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacological Research**, v.4, n.6, p.493-6, 1999.

SANTOS, M.F.; MENDONÇA, M.C.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; DANTAS, I.B.; SILVA-MANN, R.; BLANK, A.F. Esterco bovino e biofertilizante no cultivo de erva-cidreira-verdadeira (*Melissa officinalis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, 355-9, 2009.

SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários**. 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. 403-434, 2007.

SARTÓRIO, M.L.; TRINDADE, C.; RESENDE, P.; MACHADO, J.R. **Cultivo Orgânico de Plantas Medicinais**. Viçosa, Aprenda Fácil, 260p., 2000.

SCHMIDT, F.B.; MARQUES, L.M.; MAYWORM, M.A.S. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.10, n.2, p.1-5, 2008.

SCHWOB, I.; BESSIERE, J.M.; MASOTTI, V.; VIANO, J. Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochemical systematics and ecology**, v. 32, p.735-45, 2004.

SEIDEMANN, J. **World Spice Plants Economic Usage, Botany, Taxonomy**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, ISBN: 978-3-642-06088-5, 2005, 592p.

SIERRA, L.J.; MARTÍNEZ, J.R.; STASHENKO, E.E. **Chemical characterization of *Achyrocline satureioides* (Asteraceae) essential oils from Colombia by GC-MS**. Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, Rio de Janeiro, Brasil, 2015.

SILVA, F.G.; OLIVEIRA, C.B.A.; PINTO, J.E.B.P.; NASCIMENTO, V.E.; SANTOS, S.C.; SERAPHIN, J.C.; FERRI, P.H. Seasonal variability in the essential oils of wild and cultivated *Baccharis trimera*, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18, p.990-7, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; ANICET, C.; NORA, K.; LANGELOH, A. Estudo da atividade antiespasmódica da *Achyrocline satureioides* (LAM.) D.C. Compositae (marcela) e de seus flavonoides sobre jejuno de rata in vitro. VIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Manaus, **Anais do Congresso**, p.45, 1984.

SIMÕES, C.M.O.; RECH, N.; LAPA, A.J. Investigação farmacológica do extrato aquoso de folhas/ caule de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Compositae (marcela). **Caderno de Farmácia**, v.2, p.37-54, 1986.

SIMÕES, C.M.O. Antiinflammatory action of *Achyrocline satureioides* extracts applied topically. **Fitoterapia**, vol. 59, p.419-21, 1988.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, p.468-495, 2003.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. DE; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R.. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. Universidade UFRGS, 5 ed. p.45-74, 2007.

SINGH, R.; SHUSHNI, M.A.M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, v.8, n.3, p. 322-328, 2015.

SINGLETON, V.L.; ROSSI Jr, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, 144-58, 1965.

SONAGLIO, D.; SCHAPOVAL, E.S.E.; FARRA, D.P.; FRATINI, M. Verificação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Achyrocline satureioides*. XII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Curitiba, **Anais** do Congresso p.295, 1992.

SONAGLIO, D.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V. L. Padronização de extratos hidroalcoólicos de *Achyrocline satureioides* (Lam) DC. **Caderno de Farmácia**, v.2, n.1, p.55-74, 1986.

SOUSA, C.M.; SILVA, H.R.E.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, p.351-355, 2007.

SOUZA, M.R.M.I.; PEREIRA, R.G.F.; FONSECA, M.C.M.I. Comercialização de plantas medicinais no contexto da cadeia produtiva em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 819 p., 2009.

TORRES, P.G.V. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: uma abordagem prática para o dia-a-dia**. Porto Alegre, Editora Rígel, p.144, 2005.

TOURSARKISSIAN M. **Plantas Medicinales de la Argentina**. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur, p.55, 1980.

UCHIMA, A.S.; DUARTE, P.C. M.; MAGALHÃES, M.P.; FIGUEIRA, M.G.; JÚNIOR, M.L.; QUEIROGA, C.L. Avaliação do potencial antimicrobiano de *Achyrocline* sp. contra *Bacillus subtilis*. 22ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, **Anais** do Congresso, v.2, 1999.

VALADARES, S.V.; HONÓRIO, I.C.G.; JÚNIOR, C.F.C.; VALADARES, R.V.; BARBOSA, C.K.R.; MARTINS, E.R.; FERNANDES, L.A. Adubação orgânica de calêndula (*Calendula officinalis* L.) produzida sobre grama batatais. **Revista Biotemas**, v.23, n. 3, p. 21-24, 2010.

VEIGA, Jr., V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.18, nº 2, 308-13, 2008.

VENDRUSCOLO, G.S.; RATES, S.M.K.; MENTZ, L.A. Dados químicos e farmacológicos sobre plantas utilizadas como medicinais pela Comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, p.360-72, 2005.

VIEIRA, M.C.; RAMOS, M.B.M.; HEREDIA, Z.N.A.; LUCIANO, A.T.; GONÇALVES, W.V.; RODRIGUES, W.B.; TABALDI, L.A.; DE CARVALHO, T.N.; SOARES, L.F.; DE SIQUEIRA, J.M. Adubação fosfatada associada à cama de frango e sua influência na produtividade e no teor de flavonoides da Marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) em duas épocas de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n. 2, 2015.

VIEIRA, M. C.; HEREDIA ZÁRATE, N.A.; DAL CASTEL, D.; MORAES, T.C.; CAPUANO JUNIOR, J.C. **Crescimento e produção de *Achyrocline satureioides* em função de espaçamentos e arranjos de plantas.** In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS: NATUREZA CIÊNCIA E COMUNIDADE, 5., 2001, Botucatu. Resumos... Botucatu: Unesp, 2001. v.1, p.73.

XIAO, P.G. **The Chinese approach to medicinal plants – their utilization and conservation.** p.305-313. In: Akerele, O., Heywood, V. and Synge, H. (eds.). The conservation of medicinal plants. Cambridge University Press, Cambridge, 1991.

WAGNER, M.; GURNI, A.; SORLINO, D.M. **Cultivos productores de compuestos medicinales.** In: de la Fuente, E.B., Gil, A., Jiménez, P.I., Kantolic, A.G., López Pereira, M. **Cultivos industriales.** Facultad de Agronomía – UBA, Buenos Aires, 549–78, 2006.

WANDERER, M.; BARROS, I.B.I. Efeito do espaçamento de plantas sobre o rendimento de biomassa de duas cultivares de melissa. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.1, 2007.

WECHSLER, F. S. Fatoriais fixos desbalanceados: uma análise mal compreendida. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v.33, n.3, p.231-262, 1998.

YAMANE, L.T.; DE PAULA, E.; JORGE, M.P.; FREITAS-BLANCO, V.S.; MONTANARI JUNIOR, I.; FIGUEIRA, G.M.; ANHOLETO, L.A.; OLIVEIRA, P.R.; RODRIGUES, R.A.F. *Acmella oleracea* and *Achyrocline satureioides* as sources of natural products in topical wound care. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v.16, p.9, 2016.

ZAYACHKIVSKA, O.S.; KONTUREK, S.J.; DROZDOWICZ, D.; KONTUREK, P.C.; BRZOZOWSKI, T.; GHEGOTSKY, M.R. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, supl. 1, p.219-31, 2005.