

DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

**ECOGEOGRAFIA E DIVERSIDADE QUÍMICA DE POPULAÇÕES DE
Lychnophora pinaster MART**

Botucatu

2020

DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

**ECOGEOGRAFIA E DIVERSIDADE QUÍMICA DE POPULAÇÕES DE
Lychnophora pinaster MART**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Horticultura).

Orientadora: Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques

Coorientador: Dr. Lin Chau Ming

Botucatu

2020

S237e	<p>Santos, Dayane Graziella Pereira De Oliveira Dos Ecogeografia e diversidade química de populações de <i>Lychnophora pinaster</i> Mart / Dayane Graziella Pereira De Oliveira Dos Santos. -- Botucatu, 2021</p> <p>73 p. : tabs., fotos, mapas</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientadora: Marcia Ortiz Mayo Marques Coorientadora: Lin Chau Ming</p> <p>1. Plantas medicinais. 2. Compostos bioativos. 3. Diversidade de populações. 4. Campos rupestres. 5. Ecogeografia. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ECOGEOGRAFIA E DIVERSIDADE QUÍMICA DE POPULAÇÕES DE *Lychnophora pinaster* MART.

AUTORA: DAYANE GRAZIELLA PEREIRA DE OLIVEIRA DOS SANTOS

ORIENTADORA: MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

COORDENADOR: LIN CHAU MING

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

Marcia Ortiz Mayo Marques

Dr.^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agronômico de Campinas

Marcia Ortiz Mayo Marques

Pesquisadora Dr.^a SANDRA MARIA PEREIRA DA SILVA

Polo Regional do Vale do Paraíba / Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio - APTA

Marcia Ortiz Mayo Marques

Prof.^a Dr.^a MARIA APARECIDA RIBEIRO VIEIRA

Pós-Doutoranda - Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Marcia Ortiz Mayo Marques

Prof.^a Dr.^a JORDANY APARECIDA DE OLIVEIRA GOMES

Pós-Doutoranda - Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agronômico de Campinas

Marcia Ortiz Mayo Marques

Prof. Dr. MARCELO TELASCREÁ

Engenharia Química - Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas / Universidade do Sagrado Coração

Botucatu, 20 de outubro de 2020

À meu esposo Douglas e minha filha Manuela,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao meu querido esposo Douglas, minha filha Manuela, meus pais (Pereira e Nilda) e sogros pelo apoio incondicional.

À Prof. Dra Marcia Ortiz Mayo Marques, pela orientação, ensinamentos e paciência.

Ao meu coorientador Lin Chau Ming, pelo apoio e ensinamentos.

À Prof. Dra Alexandra Sawaya, pelo apoio e ensinamentos.

Aos meus amigos e parceiros Ana Paula Marques, Júlio César Rodrigues Lopes Silva e Jordany Aparecida de Oliveira Gomes, que contribuíram para o desenvolvimento e finalização deste trabalho, especialmente ao Júlio César Rodrigues Lopes Silva pelo auxílio nas análises estatísticas. Sou grata por todos os momentos de alegria, conselhos e incentivos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro (Processo nº 2017 / 24927-7).

Ao CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro (nº 309957 / 2015-0, nº 309585/2019-8).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento (edital capes procad/Processo nº 2013, edital capes pgpse/ Processo nº 2016).

Ao Instituto Agrônomo (IAC) pelo apoio e estrutura.

À Universidade Estadual Universidade Estadual Campinas (Unicamp) pelo apoio e estrutura.

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrônomicas (FCA) pelo conceituado curso e a oportunidade de realizar meu trabalho.

RESUMO

Um dos centros de diversidade vegetal e endemismo no Brasil é a vegetação de Campos Rupestres. *Lychnophora pinaster*, conhecida como arnica-mineira, é uma espécie endêmica dos Campos Rupestres, em risco de extinção e usada na medicina popular para traumatismos, como anti-inflamatório e cicatrizante. Este estudo teve por objetivo caracterizar os constituintes fenólicos e a ecogeografia de 11 populações de *L. pinaster* coletadas nas mesorregiões Norte, Jequitinhonha, Metropolitana de Belo Horizonte e Campos das Vertentes no estado de Minas Gerais, Brasil. A vitexina e o ácido clorogênico são os constituintes em maior concentração nas populações. O perfil dos constituintes fenólicos nas populações variou em função da origem geográfica. *L. pinaster* ocorre em locais de alta altitude (700 m e 1498 m), precipitações anuais de até 1455 mm, em solos ferruginosos, baixa fertilidade e de textura predominantemente franca, podendo ser considerada uma espécie tolerante a solos ácidos e com pouca disponibilidade de nutrientes. Apresenta variações morfométricas e nutricional foliar entre populações, com maiores índices nas de ocorrência nas mesorregiões Norte e do Jequitinhonha. O ambiente de ocorrência da *L. pinaster* no estado Minas Gerais é diverso contribuindo para a diversidade química das populações, assim como dos aspectos morfológicos nas diferentes regiões.

Palavras-chave: Arnica-mineira. Asteraceae. Ácido clorogênico. Flavonóides. Plantas medicinais. Solo. Caracterização ambiental.

ABSTRACT

One of the hotspots of plant diversity and endemism in Brazil is the vegetation of Rupestrian Fields. *Lychnophora pinaster*, known as arnica-mineira, is endemic to Rupestrian Fields, at risk of extinction and used in folk medicine for trauma, as anti-inflammatory and healing agents. This study aimed to characterize the phenolic constituents and the ecogeography of 11 populations of *L. pinaster* collected in the North, Jequitinhonha, Metropolitan of Belo Horizonte and Campos das Vertentes mesoregions in the State of Minas Gerais, Brazil. Vitexin and chlorogenic acid are the major constituents in concentration in populations. The profile of phenolic constituents in populations varied according to geographic origin. *L. pinaster* occurs in sites at high altitude (700 m and 1,498 m), annual rainfall of up to 1,455 mm, in ferruginous soils, with low fertility and predominantly loamy in texture, and can be considered a species tolerant to acidic soils, with little availability of nutrients. It presents morphometric and leaf nutritional variations among populations, with higher rates in those occurring in the North and Jequitinhonha mesoregions. The environment of occurrence of *L. pinaster* in the state of Minas Gerais is diverse, contributing to the chemical diversity of the populations, as well as the morphological aspects in the different regions.

Keywords: Arnica-mineira. Asteraceae. Chlorogenic acid. Flavonoids. Medicinal plants. Soil.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	18
2.1	Objetivo específico	18
3	REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1	<i>Lychnophora pinaster</i>	19
3.2	Ecogeografia de populações de <i>Lychnophora pinaster</i>	21
3.3	Composição química da <i>Lychnophora pinaster</i>	25
4	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	Amostragem	30
4.2	Análise morfométrica e nutricional da folha.....	32
4.3	Análise química do Solo	33
4.4	Obtenção dos extratos etanólicos.....	34
4.5	Análise cromatográfica do extrato da <i>L. pinaster</i>	35
4.6	Análise Estatística.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Análise ecogeográfica das regiões de coleta	38
5.2	Atributos do solo das regiões ecogeográficas de ocorrência <i>L. pinaster</i> ..	42
5.3	Análise nutricional das folhas de <i>Lychnophora pinaster</i>	48
5.4	Caracterização dos constituintes fenólicos dos Extratos de <i>L. pinaster</i> ...	52
5.5	Correlação dos dados.....	60
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
7	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países megadiversos do mundo e é o país mais rico em espécies (FORZZA et al. 2012). Isso se deve à presença de diversos centros de diversidade vegetal com uma infinidade de fatores ambientais (DAVIS et al. 1997, Oliveira-Filho & Fontes 2000), mas a diversidade é resultado da soma de processos históricos ao longo do tempo, da interação entre processos evolutivos com fatores ambientais (WIENS et al. 2006, ANTONELLI et al. 2019). Um desses centros de diversidade vegetal é a vegetação de Campos Rupestres, que foi elevada a uma biorregião formal em nível de província (COLLI-SILVA et al. 2019), como Cerrado, Caatinga e Pampa. Essa formalização é um reconhecimento de sua alta importância biológica para a biota sul-americana, devido a sua alta biodiversidade e endemismo (GIULIETTI et al. 2000, ECHTERNACHT et al. 2011, COLLI-SILVA et al. 2019). Ocupando apenas 0,74% da superfície terrestre do território nacional, Campos Rupestres possui 9.125 espécies e 1.748 endêmicas (ARAUJO, 2017 ; COLLI-SILVA et al. 2019).

Campos Rupestres é uma vegetação propensa ao fogo (ALVES, 2011), composta principalmente por pastagens ou pradarias intercaladas com pastagens com solos rochosos (SILVEIRA et al. 2015 ; MUCINA, 2017). Esta vegetação ocorre de 700 a 2.033 metros de altitude e é considerada uma vegetação zonal, que é limitada pelos tipos de solos, quartzítico, arenito ou ironstone (ALVES ; KOBECK , 2010 ; SILVEIRA et al. 2015). Campos Rupestres é uma vegetação ameaçada de extinção devido a atividades antrópicas (FERNANDES et al. 2014 ; POUGY et al. 2015 ; VERDI et al. 2015). O clima dos Campos Rupestres consiste de invernos secos e verões chuvosos, solos diversificados e pobre em nutrientes (SILVEIRA et al. 2015 ; OLIVEIRA et al. 2015).

Asteraceae é a família de plantas mais diversa em Campos Rupestres, com 993 táxons, dos quais 208 são endêmicos (BFG, 2015 ; ARAUJO, 2017). Um gênero endêmico e típico de Campos Rupestres é *Lychnophora* Mart. com 39 espécies (SEMIR et al. 2011, 2014, 2020), com algumas espécies ameaçadas de extinção. Trata-se de uma espécie endêmica dos *Campos Rupestres* do estado de Minas Gerais, popularmente conhecida como arnica e arnica-mineira, e em risco de extinção (CNCflora, 2019). *Lychnophora pinaster* Mart. [sinônimos: *Lychnophora affinis*

Gardner, *Lychnophora trichocarpha* (Spreng.) Spreng.] em decorrência da degradação de seu habitat por atividades de mineração, expansão urbana, queimadas e uso indiscriminado com propósito medicinal (SANTOS et.al. 2008; CNFlora 2019).

As partes aéreas são amplamente usadas na medicina popular sob forma de extrato hidroalcolico (uso tópico), em casos de contusões, inchaços, hematomas e traumatismos (SILVEIRA et al. 2005, RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

Estudos descritos na literatura com *L. pinaster*, conferem à planta potencial tripanocida, ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, anti-inflamatória (SILVEIRA et al. 2005; ABREU et al. 2011; ABREU et al., 2013; MULLER et al. 2019). Das substâncias relacionadas as propriedades biológicas da espécie destacam-se: 15-deoxi-goiazensolido, ácido cafeico, ácido isoclorogênico, vitexina, isovitexina e ácido *E*-lichnofórico, com ação tripanocida (SILVEIRA et al. 2005); 15-deoxi-goiazensolido, como antibacteriano (KELES et al. 2011); α -amirina, quercetina, estigmasterol, sitosterol, friedelina, ácido clorogênico, ácido cinâmico, ácido cafeico, rutina e lupeol como anti-inflamatórios (ABREU et al. 2013; MULLER et al. 2019).

A composição química das plantas é característica da espécie. A produção de metabólitos especializados (também denominado de secundário) nas plantas é controlada geneticamente e epigeneticamente (TRAPP; CROTEAU, 2001), assim como, por fatores ambientais podem-se destacar a luz (intensidade e fotoperíodo), a latitude, a temperatura (mínima, máxima e média), o solo (atributos químicos e físicos). Em resposta aos fatores abióticos as plantas sofrem ajustes no metabolismo primário e especializado, principalmente para evitar, tolerar ou até mesmo resistir aos estresses ambientais (SOUZA; LUTTGE 2015). Os fatores ambientais como sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura, altitude, solo, entre outros, apresentam correlações entre si e não atuam isoladamente, podendo influir em conjunto no metabolismo especializado e no desenvolvimento foliar e/ou surgimento de novos órgãos das plantas (LOPES et al. 2007).

Populações de *L. pinaster* ocorrem na região sudeste da Serra do Espinhaço (Serra do Caraça, Ouro Preto, Serra de Ouro Branco, Carrancas, São João del-Rei, Serra da Moeda, Serra do Rola Moça, Curral e Lavras) e na região intermediária da Serra do Cipó e alguns pontos do Planalto de Diamantina (SEMIR, 2011), regiões com condições edafoclimáticas distintas.

A ocorrência de quimiotipos em várias espécies de plantas sugere que as mesmas tenham se adaptado a condições ecológicas ou de domesticação distintas.

Diante da significativa alteração da composição química dos óleos essenciais nas diferentes regiões de ocorrência de *L. pinaster* (ISOBE, 2012; SILVA, 2013; SILVA, 2016; MARQUES, 2020) há de se considerar que as substâncias não voláteis, dentre estas as relacionadas com as propriedades biológicas da espécie, podem estar sendo alteradas em resposta a interação dos genótipos com os diferentes ambientes dos locais de ocorrência na espécie no estado de Minas Gerais.

Os estudos envolvendo a caracterização química dos constituintes não voláteis de *L. pinaster* são restritos aos municípios de Moeda e Itabirito, pertencentes a região Metropolitana de Belo Horizonte. Não há, até o momento, estudos envolvendo as características ecogeográficas das regiões de ocorrência de *L. pinaster*, cuja informação é relevante para o entendimento da adaptação da espécie quanto aos fatores edáficos, climáticos (temperatura e precipitação) e geográficos, cujas informações podem auxiliar na formulação de estratégias de conservação da espécie.

2 OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo geral caracterizar os constituintes fenólicos de populações da *L. pinaster* e as condições ecogeográficas quanto aos aspectos climáticos (temperatura, precipitação, altitude) dos ambientes de ocorrência da espécie.

2.1 Objetivo específico

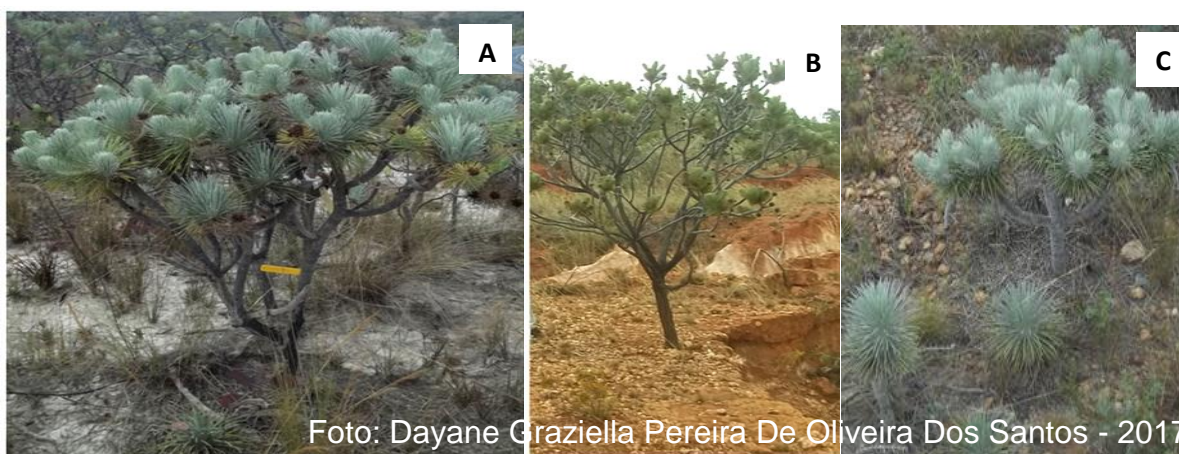
- Efetuar as análises morfométrica e química foliar das populações de *L. pinaster*
- Caracterizar os atributos físico-químicos dos solos dos ambientes de ocorrência de *L. pinaster*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Lychnophora pinaster*

Nas áreas de ocorrência das espécies de *L. pinaster* existem diferentes gêneros inter-relacionados com este táxon. A especialização de caracteres anatômicos garante sua sobrevivência em ambientes que podem ser considerados desfavoráveis (LUQUE et al., 1999) o que dificulta a separação e a identificação taxonômica de espécies do gênero, a exemplo das espécies *L. pinaster* Mart. (arnica-mineira) e *Lychnophora ericoides* Mart. (arnica-da-serra), as quais são bastante polimórficas, sendo consideradas espécies muito próximas, motivo pelo qual a separação das duas espécies é difícil e problemática (SEMIR et al., 2011). É uma espécie perenifólia com comportamento fenológico sazonal (SILVA, 1998), com plantas que variam de subarbusto ereto, bastante ramificado, a arbustos ericóides, com altura de 0,4 m a 2,4 podendo chegar até 3,6 metros, com morfologia foliar muito variável (SEMIR et al. 2011) (Figura 1). A adaptação da *L. pinaster* em condições adversas pode ser observada pela anatomia das suas folhas, possuem nervura média achatada na superfície abaxial, disposição imbricada das folhas e redução da superfície foliar (SEMIR,1991). Possui folhas concentradas na porção terminal dos ramos; folhas alongadas e finas com textura aveludada; flores em forma de capítulo, reunindo entre 20-30 flores de coloração arroxeada (Figura 2).

Figura 1- Indivíduos de *Lychnophora pinaster*. Cidades: (A) Diamantina 0,8 m (B) Olhos D' Água 2,10 m ;(C) NLSC 0,3 m – Minas Gerais



Conforme Semir (1991), os frutos são tipo aquênios, com 2-3 cm de comprimento e contém muitas sementes pequenas, encontram-se em subcapítulos de capítulos, apresentando papus internos e externos como estrutura de dispersão (Figura 2). A frutificação da arnica pode ser separada em três fases distintas: após antese e simultaneamente à senescência das flores, aquênios com papus internos presentes e aquênios com papus internos ausentes já em dispersão (SILVA, 1994). Devido às variações ambientais e à dificuldade de mensuração, em dias, para a sucessão de eventos relacionados às fases fenológicas, como florescimento e frutificação, a determinação da maturidade fisiológica e do ponto de colheita ideal para as sementes de arnica também pode ser dificultada, (SEMIR, 1991; SEMIR et al., 2011).

Figura 2 - Aspecto geral da *Lychnophora pinaster* Mart. (Floração)



É possível observar plantas de *L. pinaster* em áreas montanhosas de solo pedregoso e vegetação baixa e rala, cujos diversos processos erosivos promoveram a formação de solos arenosos, ácidos e com baixa capacidade de retenção de água (SEMIR, 2011).

Suas folhas são bastante usadas na medicina popular, sob forma de extrato hidroalcolólico em casos de contusões, inchaços, hematomas, traumatismo e varizes (uso tópico) (SILVEIRA et al. 2005).

3.2 Ecogeografia de populações de *Lychnophora pinaster*

A ecogeografia prevê um planejamento ambiental para as áreas de estudo, investigando a adaptação das espécies vegetais quanto aos fatores geográficos, edáficos e climático, estes são alguns componentes do meio que influenciam, de maneira decisiva, o desenvolvimento da vegetação. Esses fatores podem-se considerar como promotores de microclima pelo qual a vegetação está exposta. A estrutura da planta e seus mecanismos de defesa são as ferramentas que delimitam a sobrevivência da espécie em seu *habitat* (ISOBE, 2012).

Os limites fisiológicos de cada espécie e a sua resposta ecológica à competição condicionam a sua presença e desenvolvimento no ambiente (KEDDY, 2000). Respostas funcionais em plantas são mais evidentes nas folhas, o órgão vegetal considerado como uma unidade de alto nível de plasticidade e adequação às diferentes condições ambientais as quais as plantas estão submetidas (SCHLICHTING, 1986; GRATANI et al. 2006; PÉREZ-HARGUINDEGUY et al. 2013), permitindo boas inferências ecológicas sobre o crescimento e a sobrevivência das plantas. A descrição dos ambientes de espécies vegetais de interesse é muito importante para desenvolver mecanismos para a conservação dos recursos genéticos vegetais (LEBEDA et al. 2012). Portanto, estudar fatores ecogeográficos é um dos primeiros passos da pesquisa que contribuem para o entendimento da dinâmica populacional das espécies nativas.

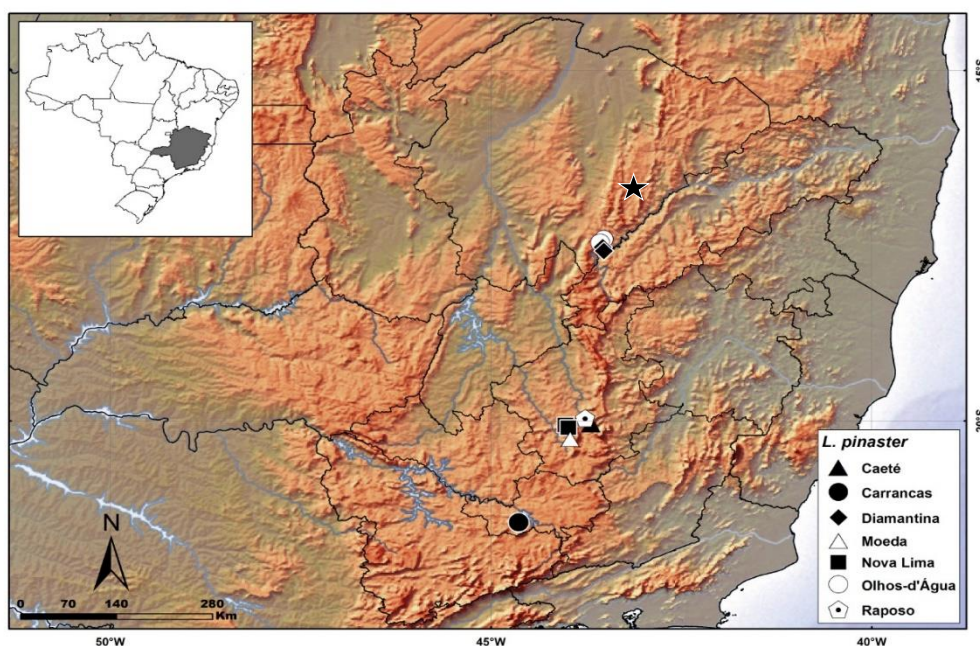
As diferentes fitofisionomias do Cerrado respondem às características ecogeográficas distintas, compostas de matas ciliares e com algumas ilhas de capão, sua presença é de forma isolada nas regiões mais elevadas na Serra do Espinhaço com origem de solos predominantemente quartzíticos (RIZZINI, 1979). As áreas possuem afloramento rochosos (RIBEIRO & WALTER, 2008), caracterizado como Neossolos Litólicos, cujas características são solos rasos, ácidos e deficientes em nutrientes e pouco desenvolvidos, estes solos apresentam pouca disponibilidade de água, devido à pouca profundidade e capacidade reduzida de retenção do solo (RIBEIRO; WALTER, 2007; HABER, 2008), uma vez que o local e os fatores ecológicos determinam a dinâmica das populações naturais, onde cada ambiente possui sua própria ecologia (SOUZA et al. 2013). Isso porque a combinação de fatores bióticos (organismos autótrofos e os organismos heterótrofos) e abióticos (radiação solar, temperatura, luz, umidade, ventos, nutrientes presentes nas águas e nos solos)

sobre seus indivíduos atuais e ancestrais pode afetar a estrutura de uma população quanto ao arranjo espacial e estrutura genética de seus componentes (HUTCHINGS, 1997).

Na Serra do Espinhaço - MG, local de ocorrência da *L. pinaster* na vegetação além das florestas estacionais decíduas mineira encontra-se o Cerrado, a Mata Atlântica e os Campos Rupestres (ECHTERNACHT et al. 2011).

A porção da Serra do Espinhaço que ocupa o Estado de Minas Gerais é caracterizada geomorfologicamente como Meridional, é constituída por um conjunto de terras altas (Figura 3), com forma de bumerangue de direção geral norte-sul e convexidade orientada para oeste (SAADI, 1995). As altitudes variam entre cerca de 750 e 1670 metros (RIBEIRO E FIGUEIRA, 2011). Ferri (1980) em seus estudos dividiu a vegetação de altitude em “Campos Rupestres”. O trecho da Cadeia da Serra do Espinhaço que compreende o estado de Minas Gerais é composto por diversas Serras entre elas estão os locais selecionado para este estudo (Figura 4), Serra da Moeda (município de Moeda), Serra da Calçada, Serra do Rola Moça (Brumadinho e Nova Lima), Serra da Gandarela (Caeté e Raposos) e a Serra de Carrancas (Carrancas), são áreas remanescente de cerrado, matas ciliares e campos ferruginosos.

Figura 3 - Mapa de relevo do estado de Minas Gerais. Cidades visitadas para coleta, estado de Minas de Gerais –Brasil

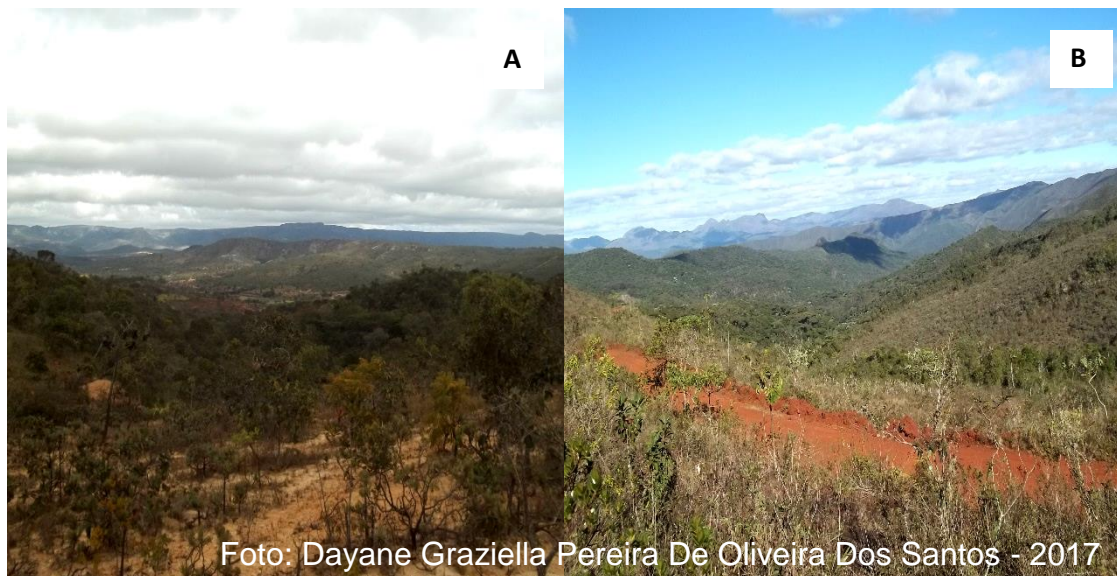


Fonte: IBGE (2019, p. 68).

A Serra da Calçada, situada a cerca de 20 km de Belo Horizonte localiza-se à margem direita da BR/040, sentido Rio de Janeiro, estendendo-se por cerca de 8 km entre os municípios de Nova Lima e Brumadinho. Divide as bacias dos rios Paraopeba e das Velhas, importantes mananciais que abastecem a Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), sua extremidade sul encontra-se parcialmente no Parque Estadual da Serra do Rola-Moça) (AB'SABER, 1977). A denominação de Serra da Calçada deve-se à formação especial de seus solos, compostos basicamente por óxidos de ferro hidratado e cimentado em consequência do intemperismo a que foram submetidos. A Serra do Rola Moça trata-se de um campo ferruginoso, encontra-se numa região de transição entre os domínios morfoclimáticos de Cerrados e de Floresta Tropical Atlântica senso Ab'Saber (1977) abrigando diversas fitofisionomias, como Cerrado *sensu strictu*, campo sujo, Floresta Estacional Semidecidual, florestas ciliares e, nos topos das serras, a aproximadamente 1.200-1.500 m de altitude, os campos rupestres ferruginosos, desenvolvendo-se sobre canga. A Serra da Gandarela está inserida no Quadrilátero Ferrífero e na porção sul da Cadeia do Espinhaço, a 40 km de Belo Horizonte/MG. E por último a Serras de Carrancas, está não encontra-se inserida na Cadeia do Espinhaço, localizada ao norte, tem cerca de 25 km de extensão, altitude máxima de 1.378m na qual as temperaturas médias mais baixas dadas pela altitude dificultam a decomposição total da matéria orgânica, formando solos ácidos nos quais o húmus transloca pelos materiais arenosos decorrentes da alteração do quartzito (MARQUES NETO, 2012), rocha muito resistente ao ataque químico e que não dá margem à formação de solos profundos, fator que, somado a morfodinâmica intensa vigente, faz por diminuir as coberturas de superfície (MARQUES NETO, 2012).

Os diferentes tipos de solos colaboram para manutenção da diversidade dessas áreas, um exemplo a distribuição da vegetação geográfica atual dos campos rupestres composta por plantas herbáceo-arbustivas, predominantemente esclerofilas e perenifólias, que têm uma flora típica, composta em parte por espécies autóctones, elegidas pelas condições do clima e solos (RIBEIRO et al. 1998). Abrigando plantas de diversos portes, desde pequenas árvores até ervas; como por exemplo, as pertencentes à família Asteraceae (PEREIRA, 1994; SAFFORD, 1999) considerada a família de maior sucesso em diferentes habitats (Figura 4).

Figura 4 - Diferentes fitofisionomias em Minas Gerais. (A) Grão Mogol – Região Norte- MG; (B) Caeté – Região Metropolitana de Belo Horizonte- MG



O desenvolvimento das plantas depende da maior parte dos íons disponíveis no solo. Normalmente os nutrientes são classificados de acordo a quantidade exigida pelas plantas, sendo os macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e os micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo e Ni). Estes nutrientes são considerados essenciais para o desenvolvimento da planta, ou seja, participam diretamente no metabolismo. Mengel e Kirkby (2001) propôs um novo agrupamento dos nutrientes para as plantas, sendo o primeiro grupo (C, O, H, N e S) considerado os maiores constituintes dos compostos orgânicos. O segundo grupo (P e B) estes podem esterificar grupamentos OH e participar no metabolismo energético da planta. Os íons (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} e Cl^-) participam na regulação osmótica, sinalização celular e o balanceamento das cargas, os metais seriam o quarto e último grupo (Fe, Cu, Zn, Mo e Ni), estes são absorvido na forma de quelatos e posteriormente incorporados à enzimas, participam do transporte de elétrons pela troca de valência (KERBAUY, 2008). Em regiões tropicais o fósforo é um dos macroelementos mais estudados, sua disponibilidade é limitada pelo teor de óxidos de ferro, de alumínio e tipos de argila. Dentre os mecanismos fisiológicos já avaliados em outras espécies, tem-se a fosfatase ácida, que é a enzima responsável pela desfosforilação de moléculas orgânicas no citoplasma celular, disponibilizando o P para novos processos metabólicos (ALMEIDA, 2006). Através de estudos observou-se a presença de fungos micorrízicos no solo, em associação com as plantas possibilita a adaptação ao solo e aumentam a eficiência de utilização e

reciclagem de nutrientes, como por exemplo o fósforo (P) (ALMEIDA, 2006). Souza (2003) reportou a ocorrência da espécie micorrízica *Scutelospora heterogama* nas raízes da *L. pinaster*.

3.3 Composição química da *Lychnophora pinaster*

A *Lychnophora pinaster* Mart. popularmente conhecida como “arnica mineira” (SEMIR, 1991) é empregada pela população local, na forma de infusões alcoólicas, como cicatrizante, contra dor e processo inflamatório na forma tópica. Estudos descritos na literatura com *L. pinaster*, conferem à planta potencial tripanocida, ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, anti-inflamatória (SILVEIRA et al. 2005; ABREU et al. 2011; ABREU et al. 2013; MULLER et al. 2019).

Das substâncias relacionadas as propriedades biológicas da espécie destacam-se: 15-deoxi-goiazensolido, ácido cafeico, ácido isoclorogênico, vitexina, isovitexina e ácido *E*-lichnofórico, com ação tripanocida (SILVEIRA et al., 2005); 15-deoxi-goiazensolido, como antibacteriano (KELES et al. 2011); α -amirina, quercetina, estigmasterol, sitosterol, friedelina, ácido clorogênico, ácido cinâmico, ácido cafeico, rutina e lupeol como anti-inflamatórios (ABREU et al. 2013; MULLER et al. 2019).

Reis et al. (2010) e Resende (2013) identificaram o (*E*) – cinamato de metila, substância pertencente a classe dos fenilpropanóides, como o constituinte majoritário (62,1% e 93%, respectivamente) nos óleos essenciais de *L. pinaster* de ocorrência na mesorregião dos Campos das Vertentes.

Populações de *L. pinaster* ocorrem na região sudeste da Serra do Espinhaço (Serra do Caraça, Ouro Preto, Serra de Ouro Branco, Carrancas, São João Del-Rei, Serra da Moeda, Serra do Rola Moça, Curral e Lavras), assim como na região intermediária da Serra do Cipó e alguns pontos do Planalto de Diamantina (SEMIR et al. 2011). Diante da ampla ocorrência da espécie e das diferentes condições edafoclimáticas destas regiões há possibilidade de que as substâncias relacionadas as propriedades biológicas possam ser alterados, fato que afetará as suas propriedades terapêuticas. Apesar da produção de metabólitos especializados (também denominado de secundário) serem controladas geneticamente e epigeneticamente (TRAPP; CROTEAU, 2001), os componentes ambientais influenciam na quantidade, qualidade e concentração destes. Em resposta aos fatores

abióticos as plantas sofrem ajustes no metabolismo primário e especializado, principalmente para evitar, tolerar ou até mesmo resistir aos estresses ambientais (SOUZA; LUTTGE 2015). Os fatores ambientais como sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura, altitude, solo, entre outros, apresentam correlações entre si e não atuam isoladamente, podendo influir em conjunto no metabolismo especializado e no desenvolvimento foliar e/ou surgimento de novos órgãos das plantas (LOPES et al. 2007). Diante da ampla abrangência de *L. pinaster* no estado de Minas Gerais, Marques et al. (2020) avaliaram a composição química dos óleos essenciais de seis populações de *L. pinaster* coletadas nas mesorregiões Norte (municípios: Diamantina, Olhos D'Água), Vale do Jequitinhonha (Grão Mogol) e Metropolitana de Belo Horizonte (Caeté, Nova Lima, Moeda). Independente das regiões de ocorrência das populações de *L. pinaster* os óleos essenciais apresentaram os sesquiterpenos como a classe predominante e ausência do (*E*) – cinamato de metila (fenilpropanóide), identificado como a substância mais abundante nos óleos essenciais da região do Campos das Vertentes (REIS et al., 2010).

Na medicina popular, *Lychnophora pinaster* Mart. é uma planta medicinal com amplo espectro farmacológico, tradicionalmente utilizando ramos, folhas e flores na forma de infusão, extrato alcoólico, cataplasma ou pomada. Ela é usada como analgésico, antirreumática, anti-inflamatório, anestésico, cicatrizante, para traumatismos, contusões e picadas de insetos (CERQUEIRA et al. 1987; RODRIGUES; CARVALHO, 2001; SAÚDE et al. 2002; SILVEIRA et al. 2005; GUZZO et al. 2008; REIS et al. 2010). Estudos descritos na literatura demonstram as atividades antitumoral (MERTEN et al., 2006), antimicrobiana (BORELLA et al. 1998; SAÚDE et al. 2002), anti-pirética e analgésica (FERRAZ FILHA et al. 2012), antioxidante e anticonvulsivante (TALEB-CONTINI et al. 2008), antinociceptivo (BORSATO et al. 2000) e tripanocida (BORELLA et al. 1998; GRAEL et al. 2005).

Silveira et al. (2005 b) em um estudo de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono-13 com o extrato da parte aérea de *L. pinaster* verificaram a presença do ácido *E*-lichnophórico e a lactona sesquiterpênica 15- desoxigoiazensolido. Abreu et al. (2011) observaram a ação antibacteriana ocasionada pela presença do triterpeno α -amirina, isolado de frações apolares dos extratos das folhas e caule de *L. pinaster*, contra *Staphylococcus aureus*. Dentre os estudos etnofarmacológicos atribuídos ao uso da *Lychnophora sp.* destaca-se a busca de novas

alternativas para o tratamento contra a forma tripomastigota de *Tripanossoma cruzi*. Oliveira et al (1996) observaram ação tripanocida in vitro do ácido lychnofórico obtido do extrato de *L. pinaster*, de forma que a substância inibiu em 50% o crescimento inicial dos protozoários tripomastigotas. A atividade tripanocida de *L. pinaster* tem sido atribuída à flavonóides, lactonas sesquiterpênicas e derivado de ácidos cafeoilquínicos isolados a partir de extratos alcoólicos das folhas e raízes (TAKEARA et al., 2003; SANTOS et al., 2005). Ferreira (2010) avaliou a atividade anti-inflamatória e analgésica do extrato de *L. pinaster* coletada em campos rupestres de Nova Lima (MG) e constatou a presença de fenilpropanóides, flavonoides, antraquinonas, terpenoides e saponinas. A atividade anti-inflamatória do extrato da espécie também foi registrada por Pinheiro (2010), onde preparados de emulgel contendo extrato de *L. pinaster* a 2% e 5% apresentaram maior atividade anti-inflamatória do que o medicamento Cataflam®. A autora sugere que a formulação de 2% de concentração poderia ser produzida em escala industrial, pelo baixo custo e eficiência.

De acordo com os dados de literatura, os princípios ativos dos extratos de *L. pinaster* são 15-deoxi goiazensolido (m/z 344), ácido cafeico (m/z 180), ácido isoclorogênico (m/z 354), vitexina (m/z 432), isovitexina (m/z 432), ácido *E*-lichnofórico (254), α - amirina (m/z 426), quercetina (m/z 302), lupeol (m/z 426), estigmasterol (m/z 412), sitosterol (m/z 414) e friedelina (m/z 426) (CHIARI et al. 1991; DUARTE et al. 1993; SILVEIRA et al. 2005a; ALCÂNTARA et al. 2005; OLIVEIRA et al. 1996; SILVEIRA et al. 2005a; KELES et al. 2011; ABREU et al. 2011; ABREU et al. 2013). Foram comprovadas as atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do extrato etanólico da parte aérea da espécie (GUZZO et al. 2008). Posteriormente, atividade anti-inflamatória dos extratos e de compostos isolados dos extratos de *L. pinaster* (ABREU et al. 2013). Dos princípios ativos tripanocida (15-deoxi-goiazensolido, ácido cafeico, ácido isoclorogênico, vitexina, isovitexina, ácido *E*-lichnofórico), antibacteriano (15-deoxi-goiazensolido), anti-inflamatório (α -amirina, quercetina, estigmasterol, sitosterol, friedelina), analgésico e antipirético (friedelina) descritos na literatura para *L. pinaster* (CHIARI et al. 1991; DUARTE et al. 1993; SILVEIRA et al. 2005a; ALCÂNTARA et al. 2005; SILVEIRA et al. 2005; ABREU et al. 2011; ABREU et al. 2013) e monitorados pelo trabalho mais recente do nosso grupo de pesquisa, Silva (2016) nos extratos etanólicos das duas populações de *L. pinaster* do sul (Carrancas) e do sudeste de Minas Gerais (Itabirito), somente a quercetina e

friedelina, foram identificados em comum nos extratos das populações estudadas. Testes de toxicidade são elaborados com os objetivos de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES; FORBES, 1994) apontando para uma possível ação tóxica seletiva dos compostos com potencial atividade farmacológica. Desta forma, até o presente momento, as principais atividades biológicas de *L. pinaster* podem ser atribuídas aos metabólitos especializados (Tabela 1).

Tabela 1 - Substâncias identificadas nos extratos de *Lychnophora pinaster* cujas atividades biológicas são descritas em literatura

Substância	Classe	Fórmula Molecular	Massa molecular (Da)	Extrato	Parte da Planta	Atividade Biológica	Referência
15-deoxi-goiazensolido	LS	C ₁₉ H ₂₀ O ₆	344	Etanólico	parte aérea	tripanocida; antibacteriana	Duarte et al. (1993) Chiari et al. (1991) Keles et al. (2011)
Ácido cafeico	FE	C ₉ H ₈ O ₄	180	Aquoso	parte aérea	Tripanocida	Silveira et al. (2005a)
Ácido isoclorogênico	FE	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354				
Vitexina	FLA	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432				
Isovitexina	FLA	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432				
<i>E</i> -ácido lichnofórico	ST	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	254	Hexânico	parte aérea	Tripanocida	Oliveira et al. (1996) Alcântara et al. (2005)
α-amirina	TRI	C ₃₀ H ₅₀ O	426	hexânico /aquoso/ etanólico	parte aérea/ folhas	Antibacteriana anti-inflamatória	Abreu et al. (2011) Abreu et al. (2013)
Quercetina	FOL	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302				
Lupeol	TRI	C ₃₀ H ₅₀ O	426				
Estigmasterol	EST	C ₂₉ H ₄₈ O	412				
Sitosterol	EST	C ₂₉ H ₅₀ O	414				
Friedelina	TRI	C ₃₀ H ₅₀ O	426	Aquoso		anti-inflamatória	Silveira et al. (2005a)

LS= lactona sesquiterpênica; FE= fenilpropanóide; FLA= flavona; ST= sesquiterpeno; TRI= triterpeno; FOL= flavonol; EST= esteroide.

Fonte: Silva, P. S. (2016, p. 72)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

A coleta do material vegetal de *L. pinaster* foi previamente autorizada pelo Ministério do Meio Ambiente (ICMBio nº: 22772-6; SisGen/MMA: A01F803).

Para a localização das populações naturais de *L. pinaster* foram adotadas as seguintes estratégias:

- a) Consulta aos herbários do Instituto Agrônômico (IAC), Universidade Estadual de Campinas (UEC), Universidade Federal de Uberlândia (HUFU) e Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), de acordo com THIERS (2020), e levantamento bibliográfico (teses, artigos científicos, etc.).
- b) Levantamento junto a pesquisadores de Minas Gerais e/ou que trabalharam, com o Cerrado Mineiro. Os principais pesquisadores que colaboraram com a indicação possível da presença da espécie foi o Prof. Dr. Ernane Ronie Martins – UFMG e o Prof. Dr. João Semir- UNICAMP - SP.
- c) Consulta a unidades de conservação: foi realizado um levantamento de Uc's nas localidades próximo a relato da presença *L. pinaster*. Posteriormente foi feito o pedido de autorização de visita e coleta dos materiais pertinente a pesquisa ao órgão competente do estado Minas Gerias, Instituto Estadual de Floresta de Minas Gerais (IEF- MG) sob nº 006/2017.

Após a seleção das áreas potenciais para o estudo foi realizada duas expedições: 08/07/2017 a 15/07/2017 nas mesorregiões Norte e Jequitinhonha, e 23/07/2017 a 29/07/2017 na mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte e Campo das Vertentes no Estado de Minas Gerais, Brasil. Com exceção dos Campos das Vertentes, as demais localidades estão localizadas nos três distritos florísticos dos campos rupestres da parte setentrional da cadeia do espinhaço. Na parte norte temos o distrito de Grão Mogol, em Diamantina e até perto da Serra do Cipó temos o distrito do Platô de Diamantina, e próximo a Belo Horizonte temos o distrito do quadrilátero ferrífero (COLLI-SILVA et al. 2019).

Foram realizadas duas coletas das populações de *L. pinaster* no município de Olhos D'Água (OD e ODMa); uma no município de Grão Mogol (GM) e duas no

município de Diamantina (DI e DIMa) localizadas na mesorregião norte (Figura 5), com exceção da população DIMa a qual encontra-se no Vale do Jequitinhonha; uma população em Moeda (SM); Caeté (CTRA); Raposo (RPS); duas em Nova Lima (SRM, NLSC); e uma em Carrancas (CC) na mesorregião dos Campos das Vertentes.

Figura 5 - Coleta dos indivíduos da *L. pinaster*. (A) Município de Grão Mogol; (B) Município Diamantina



Para cada população de *L. pinaster* foi amostrado ramos reprodutivos, com folhas, inflorescências, e flores ou frutos para a confecção das exsicatas. Duas amostras por população foram utilizadas para o preparo das exsicatas e estas incorporadas no Herbário UEC e IAC. A identificação botânica foi efetuada pelo Prof. Dr. João Semir do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e Prof. Dr. Marcelo Monge do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Para cada população selecionada foram coletadas informações sobre latitude, longitude e altitude, com equipamento *Global Position System* (GPS) Garmin 60 CSX. Ademais, observamos características do ambiente, como tipo de vegetação, a precipitação média anual e a temperatura média anual, utilizando cartas temáticas disponibilizadas pelo IBGE (2020). Adicionalmente, foi coletado solos para cada uma das populações amostradas. A partir dos dados da posição geográfica coletados nos sítios de ocorrência, efetuou-se a confecção de mapa de ocorrência das populações estudadas de *L. pinaster*. Os dados espaciais foram processados no ARCMAP (2018) (Sistema de Processamento de Imagens Geográficas), versão 10.6.

Para o estudo dos constituintes fenólicos foram amostradas as partes aéreas de 11 populações de *L. pinaster*, sendo dez indivíduos por população distribuídas no

estado de Minas Gerais, nas cidades de Olhos D'Água (OD e ODMa); Diamantina (DI e DIMa); Moeda (SM); Caeté (CTRA); Raposo (RPS); Nova Lima (SRM); Nova Lima (NLSC); Carrancas (CC); Grão Mogol (GM). As plantas foram marcadas com etiquetas plásticas, e anotada a coordenada geográfica para cada indivíduo (altitude, latitude e longitude) por meio de GPS (Global Positioning System) (e-trex, Garmin®). As plantas foram armazenadas, individualmente, em sacos plásticos etiquetados, até o transporte ao laboratório de Produtos Naturais do Centro de Recursos Genéticos do Instituto Agrônomo, Campinas –SP. No laboratório as folhas de cada um dos indivíduos foram separadas dos ramos manualmente, e estas liofilizadas e acondicionadas em sacos plásticos e mantidas a -80 °C até o momento do preparo dos extratos.

O preparo dos extratos e análise dos constituintes fenólicos de *L. pinaster* foram realizados no Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) em colaboração com a Profa. Dra. Alexandra Christine Helena Frankland Sawaya.

4.2 Análise morfométrica e nutricional da folha

Foram coletados dados morfométricos de três indivíduos por população de *L. pinaster* totalizando 33 indivíduos avaliados nas 11 populações naturais estudada. Durante as coletas realizadas a campo foram tomadas de cada indivíduo: altura da planta (determinada em centímetros, adotando-se, como critério, a distância entre o colo da planta e a extremidade do broto terminal do ramo principal); número de ramos e comprimento dos ramos. Ainda em campo foi selecionada a 5ª folha a partir da base do ramo de três indivíduos de cada população e estas transportadas ao laboratório de Produtos Naturais do Centro de Recursos Genéticos do Instituto Agrônomo, Campinas –SP, onde foi realizada a medida do comprimento e a largura do limbo das folhas através do paquímetro digital, e as estimativas de área foliar, esta última medida pelo software Image J (RASBAND, 1997). Para calcular a massa específica das folhas (massa seca/área foliar), as amostras de folhas foram desidratadas em estufa de circulação forçada de ar (65°C), até peso constante, a partir disso foi feita a exploração dos dados, como análises de estatística descritiva.

Para a realização da análise nutricional das folhas foi separado um *pool* de 10 gramas de folhas secas dos 11 indivíduos da *L. pinaster* e em seguida as mesmas pulverizadas em moinho (Figura 6). As amostras foram encaminhadas para o

laboratório do Departamento de Recursos Ambientais da Universidade Estadual Paulista - UNESP, campus Botucatu onde a determinação mineral seguiu metodologia de MALAVOLTA et al. (1997).

Figura 6 - (A) Análise morfométrica das folhas de *L. pinaster*; (B) Pulverização das folhas em moinho



Foto: Dayane Graziella Pereira De Oliveira Dos Santos - 2017

4.3 Análise química do Solo

As amostras de solos foram coletados na camada 0-20 cm, aproximadamente, sendo realizadas cinco tradagens por área para formar amostra composta (BRASIL, 2002). Já no laboratório de fitoquímica (IAC) as amostras foram submetidas à fragmentação manual, a separação das frações foi feita por peneiramento nas peneiras de malha de 20 mm, seguida de secagem em estufa a 40 °C (Figura 7). As amostras de solo foram encaminhadas para o laboratório do Departamento de Recursos Ambientais da Universidade Estadual Paulista - UNESP, campus Botucatu para a realização da análise química. A determinação de fertilidade do solo seguiu a metodologia de RAIJ et al. (2001) e estes classificados conforme o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SANTOS et al., 2006).

Figura 7- Diferentes solos peneirados das regiões de coletas da *L. pinaster*, laboratório de Produtos Naturais do Centro de Recursos Genéticos do Instituto Agrônomo, Campinas –SP.



4.4 Obtenção dos extratos etanólicos

Os extratos foram preparados pelo método de maceração com etanol (Synth P.A. 99,5%) como solvente. Afim de otimizar o processo de extração foram realizados pré-testes a partir de 60 mg de material vegetal (mistura de indivíduos por população), triturado em nitrogênio líquido, e 100%, 80% e 70 % de etanol (Synth P.A. 99,5%) em tubo eppendorf de 2 mL. A solução extrativa foi mantida em banho ultrassom por 20 minutos, centrifugada por 2 minutos, posteriormente filtrada em papel filtro e acondicionada em vials de 2 mL (Figura 8). As soluções foram analisadas por cromatografia de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas e definido o uso da solução hidroetanólica a 70% no preparo dos extratos. No total foram preparados 110 extratos, sendo dez por população de *L. pinaster*.

Figura 8 - (A) Identificação e separação das folhas, (B) liofilização, (C) preparo dos extratos



4.5 Análise cromatográfica do extrato da *L. pinaster*

A análise cromatográfica foi realizada em equipamento UHPLC Acquity acoplado ao espectrômetro de massas TQD Acquity (Micromass-Waters Manchester, England), com fonte de ionização electrospray (ESI) em modo negativo e coluna coluna C₁₈ BEH Waters Acquity (2,1 mm x 50 mm x 1,7 µm).

As eluições foram conduzidas a uma vazão de 200 µL.min⁻¹, fase móvel A - água purificada (Milli-Q) com 0,1% de ácido fórmico e fase B - metanol (grau cromatográfico) de acordo com o sistema de gradiente mostrado na Tabela 2. Alíquotas de 10 µL de cada amostra foram injetadas em duplicata.

Tabela 2 - Gradiente utilizado na análise do extrato etanólico de *L. pinaster* por UHPLC-MS. Fase móvel A- água purificada (Milli-Q) com 0.1 % de ácido fórmico e fase móvel B - metanol

Tempo (min)	% A (H ₂ O)	% B (MeOH)
Inicial	80	20
7	40	60
8	0	100
8.5	0	100
8.6	80	20
10	80	20

As condições do espectrômetro de massas para todos os analitos foram: ionização por eletrospray em modo negativo sob as seguintes condições: voltagem do capilar 3kV, temperatura da fonte 150°C e temperatura de dessolvatação 300°C.

O modo de íon selecionado (SIM) foi usado para identificação e quantificação dos seguintes compostos: m/z 353 – ácido clorogênico; m/z 163 – ácido *p*-cumárico; m/z 431 – vitexina e iso-vitexina; m/z 609 – rutina e m/z 301 – quercetina.

Padrões comerciais de ácido clorogênico (Sigma-Aldrich, $\geq 95\%$), ácido *p*-cumárico (Sigma-Aldrich, 98%), quercetina (Sigma-Aldrich, 98%), vitexina (Sigma-Aldrich, 95%), isovitexina (Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$), rutina (Sigma-Aldrich, 95%) foram utilizados para a identificação e quantificação das substâncias. As quantificações das foram feitas a partir da construção de curvas de calibração pelo método de calibração externa a partir de solução estoque dos padrões comerciais das substâncias (1 mg/mL), seguida de diluições sucessivas para concentrações de 10; 100; 1,000; 5.000; 10.000 e 50.000 ng.mL⁻¹. Os resultados foram expressos por ng/g de folha seca. No total foram analisados 110 extratos, sendo dez por população de *L. pinaster*.

4.6 Análise Estatística

Os dados morfométricos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scotty-knott a 5% de significância utilizando o software estatístico Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2019). Dados dos nutrientes foliares foram normalizados por soma e auto escalados por causa dos teores terem grandezas muito diferentes. Os atributos do solo e os dados de composição química foram submetidos as análises multivariadas de componentes principais (PCA) e agrupamentos hierárquicos (HCA) por meio do plataforma *online* Metabonalyt (XIA et al., 2015). Os dados foram pré-processados sendo os atributos do solo normalizados por soma e autoescalados devido a grandes diferenças nas concentrações. As concentrações dos compostos orgânicos foram tratadas sem normalização ou escalamento. Para construção do HCA foi utilizada a distância euclidiana. Os dados foram submetidos ao modelo de correlação de Pearson para obtenção da magnitude e sentido de associações entre as variáveis estudadas, (MUKAKA, 2012). A significância das

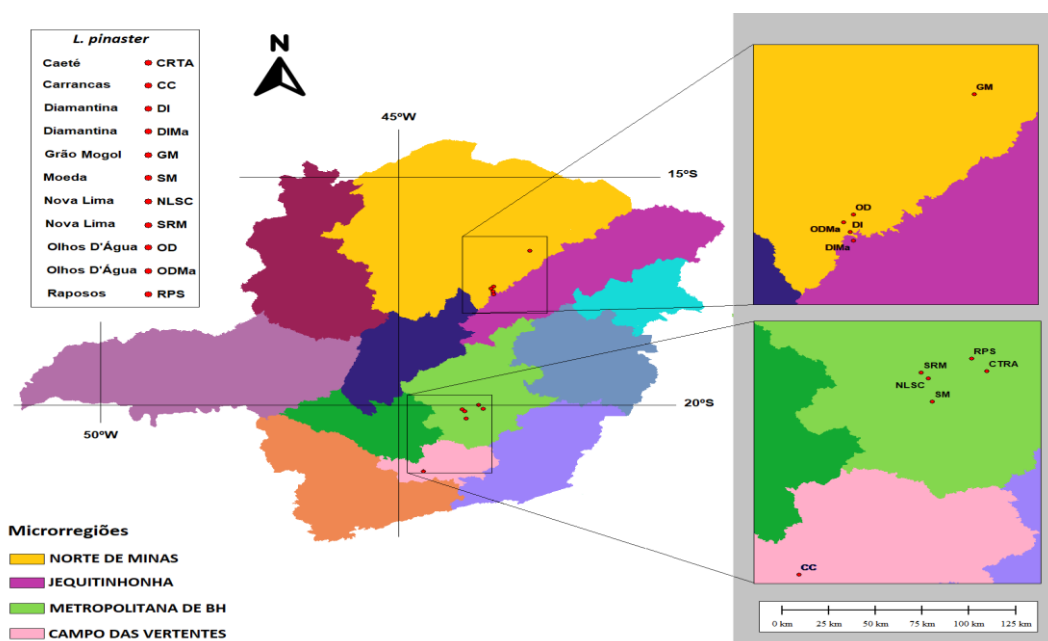
correlações foi avaliada a 5% de probabilidade, tendo-se adotado o teste t, descrito por Steel & Torrie (1980).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise ecogeográfica das regiões de coleta

Das 11 populações amostradas 36% estão localizadas na mesorregião Norte (município de Diamantina: DI, ODMa; Olhos D' Água: OD; e Grão Mogol: GM) e 9.5% no Jequitinhonha (Diamantina: DIMa) desenvolvendo-se sobre solos quartzídicos. As populações da mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte representam 45% do total coletado, onde as populações amostradas nos municípios de Caeté (CTRA), Raposos (RPS) e Nova Lima (NLSC, SRM), ocorrem em campo rupestre ferruginoso, com desenvolvimento sobre canga, enquanto que a população da Serra da Moeda (SM) em solos quartzídicos. A mesorregião de Campos das Vertentes (município de Carrancas: CC), representando 9.5% das populações, se encontra em área classificada como complexo rupestre de altitude, com solo de origem quartzítica (COURA, 2006) (Figura 9).

Figura 9 - Mapa com as localidades de coleta evidenciando as mesorregiões do Estado de Minas Gerais, Brasil.



Fonte: IBGE (2019, p. 68).

Como demonstrado na Tabela 3, a altitude dos locais de coleta variou de 700 m a 1580 m.

Tabela 3 - Localização e caracterização das regiões de ocorrência de populações naturais de *Lychnophora pinaster*, Minas Gerais, Brasil

População	Município	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Precipitação (mm)	*T. M (C°)		Exsicata (Código)
						Max.	Min.	
GM	Grão Mogol	16°55'39.5"S	042°89'17.1"W	859	969	29.0	11.2	UEC 208038
OD	Olhos D' Água	17°40'39.9"S	043°57'15.1"W	704	1387	27.3	15.0	UEC 208032
DI	Diamantina	18°14'54.9"S	046°36'11.5"W	819	1498	24.0	15.0	UEC 208027
ODMa	Olhos D' Água	17°40'37.7"S	043°57'01" W	700	1387	27,3	15.0	UEC 208037
DIMa	Diamantina	18°14'56.2"S	046°36'17.2"W	796	1498	24.0	15,0	UEC 208026
CTRA	Caeté	19°52'51.6"S	043°40'11.2"W	1497	1456	27.0	16.0	UEC 208036
SM	Moeda	20°19'58.6"S	044°03'10.8"W	1366	1345	27.2	14.5	UEC 208030
NLSC	Nova Lima	19°59'09.8"S	043°58'59.7"W	1450	1320	27.0	14.0	UEC 208028
SRM	Nova Lima	19°59'08.8"S	044°01'18.8"W	1498	1320	27.0	14.0	UEC 208029
RPS	Raposos	19°96'39.2"S	043°80'47.4"W	969	1377	29.5	15.2	UEC 208031
CC	Carrancas	21°28'11.6"S	044°38'07.6"W	1307	1580	25.0	12.5	UEC 208033

Mesorregião Norte: município de Olhos D'Água (OD e ODMa), Diamantina (DI) Grão Mogol (GM); Jequitinhonha: município de Diamantina (DIMa); Metropolitana de Belo Horizonte: município de Moeda (SM), Caeté (CTRA), Raposo (RPS), Nova Lima (SRM, NLSC); Campos das Vertentes: município de Carrancas (CC).
* Temperatura Média.

As populações das mesorregiões Norte (GM, DI, ODMa, OD) e do Jetiquinhonha (DIMa) se encontram em área de menor altitude (700 a 859 m) que as das mesorregiões de Campos das Vertentes (CC: 1307 m) e Metropolitana de Belo Horizonte (NLSC, SRM, RPS, CTRA, SM: 1366 a 1497 m). A menor altitude observada foi para a população ODMa (700 m) coletada município de Olhos D' Água e maior para SRM (1498 m) de ocorrência no município de Nova Lima (Tabela 3).

A precipitação média anual nas mesorregiões de coleta de *L. pinaster* variou de 969 mm (mesorregião Norte, população GM, município de Grão Mogol) até 1.580 mm (Campos das Vertentes, população CC, município de Carrancas). A temperatura média anual variou entre a mínima de 11,2°C (mesorregião Norte, população GM, município de Grão Mogol) e a máxima de 29,5°C (Metropolitana de Belo Horizonte, população RPS, município de Raposos). As espécies encontradas são típicas de áreas de fitofisionomia de Campos Rupestres e Canga (COURA, 2006).

Os ambientes de ocorrência da *L. pinaster* sofrem grandes pressões antropogênicas, tais como queimadas e extrativismo, além da expansão urbana (CNFlora 2019). Este último evento foi observado na ocasião da expedição de coleta para a população OD do município de Olhos D'água, onde a espécie estava localizada em sítio próximo de residências e estradas. Durante a expedição de coleta foi observado que as populações do município de Diamantina (DIMa e DI) apresentavam sinais de queimadas, não sendo observado nos indivíduos o processo fisiológico de rebrota.

De acordo com a tabela 4, a área foliar e o peso foliar dos indivíduos localizados em Grão Mogol (GM), região mais ao norte, é estatisticamente superior aos demais. O comprimento de ramos foi superior nos sítios de coleta Grão Mogol (GM), Diamantina (DI, DIMa), Caeté (CTRA) e Carrancas (CC). A variável número de ramos apresentou diferença significativa, tendo valores superiores nos sítios de coleta Grão Mogol (GM) e Serra da Moeda (SM). Foram encontrados indivíduos de *L. pinaster* com maior altura de plantas nas localidades de Grão Mogol (GM), Raposos (RPS), Olhos D'água (ODMa), Diamantina (DIMa), Serra da Moeda (SM) e Carrancas (CC) estatisticamente superiores aos demais. Já nas populações NLSC e SRM na localidade de Nova Lima observou-se indivíduos, significativamente, com menor porte. Diniz et al. (2017) em estudo da estrutura da população de *L. pinaster* da região sul de Minas Gerais, observou plantas de diferentes alturas e agrupamentos, onde os menores indivíduos eram os mais abundantes, evidenciando o potencial regenerativo

da planta e predominância de propagação vegetativa no grupo. Neste mesmo estudo, os autores concluíram que os fatores abióticos, como o fogo, devem ter sido os principais determinantes da estrutura populacional da espécie, que se mostrou abundante mesmo sob as condições pedoclimáticas severas a que são submetidas.

Tabela 4 - Análise morfométrica da *Lychnophora pinaster* em diferentes regiões

População	Área foliar (cm ²)	Peso foliar (mg)	Comprimento de ramos (cm)	Número de ramos	Altura planta (cm)
GM	2,29 a	55,00 a	64,17 a	79,60 a	107,40 a
OD	1,54 b	44,60 b	28,39 b	39,80 b	88,64 b
ODMa	1,53 b	14,00 c	33,67 b	38,00 b	146,40 a
DI	1,23 b	32,60 c	55,27 a	17,60 b	69,40 b
DIMa	0,76 c	11,20 c	55,27 a	26,60 b	146,60 a
RPS	1,53 b	40,00 b	33,67 b	38,00 b	126,40 a
SM	0,48 c	10,80 c	32,00 b	62,34 a	111,60 a
NLSC	0,29 d	10,00 c	38,80 b	23,40 b	33,40 c
SRM	0,27 d	10,60 c	37,27 b	27,20 b	40,80 c
CTRA	0,25 d	10,40 c	60,13 a	29,60 b	79,20 b
CC	0,17 d	10,20 c	87,87 a	27,40 b	112,80 a
*C.V%	31,75	40,95	30,43	22,79	19,51

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade. *C.V: coeficiente de variação.

Mesorregião Norte: município de Olhos D'Água (OD e ODMa), Diamantina (DI) Grão Mogol (GM); Jequitinhonha: município de Diamantina (DIMa); Metropolitana de Belo Horizonte: município de Moeda (SM), Caeté (CTRA), Raposo (RPS), Nova Lima (SRM, NLSC); Campos das Vertentes: município de Carrancas (CC).

A variação morfométrica presente nas populações ocorrentes nas diferentes regiões, permite observar que os indivíduos de *L. pinaster* da população de Grão Mogol (GM) são superiores em todas as características morfométrica avaliadas. Enquanto as populações de Nova Lima (NLSC e SRM) apresentam menores valores.

5.2 Atributos do solo das regiões ecogeográficas de ocorrência *Lychnophora pinaster*

Os campos rupestres sobre canga são um ambiente peculiar e frequente na região do Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. Sua vegetação, associada a afloramentos hematíticos, apresenta uma série de adaptações morfológicas e fisiológicas, contribuindo para um alto grau de endemismo (VIANA, 2007). A Serra da Calçada e a Serra do Rola Moça (Nova Lima) situa - se no Quadrilátero Ferrífero, consideram-se campos rupestres sobre canga a vegetação sobre solo hematítico (Figura 10-C), podendo ser sobre conglomerados maciços (canga couraçada sensu Rizzini (1979)) ou sobre solo pedregoso, que possibilita o estabelecimento massivo de vegetação graminóide (canga nodular sensu RIZZINI (1979)).

Em solos com cascalho e ou couraçados o sistema radicular das plantas depara com obstáculos para penetração (Figura 10- C e D).

Figura 10 - Diversidade de solos nas áreas de coleta em Minas Gerais. Solos: (A) arenoso - (DI) população Diamantina; (B) argiloso - (CTRA) Caeté; (C) canga encouraçada - (NLSC) Serra da Calçada; (D) pedregoso/ cascalho - (GM) Grão Mogol.



Assim o enraizamento dos indivíduos arbóreos ocorre principalmente nas frestas das rochas onde acumula maior volume de substrato devido o horizonte A (constituído, basicamente de rocha alterada e húmus) está assentado diretamente sobre a rocha ou sobre o horizonte C (camada mineral pouco ou parcialmente alterada) que é pouco espessado (HARLEY, 1995, EMBRAPA, 1999, RIBEIRO; WALTER, 2008; REATTO et al.,2008;) (Figura 11).

Figura 11 - *Lychnophora pinaster* Mart. (Raiz pivotante)



Foto: Dayane Graziella Pereira De Oliveira Dos Santos - 2017

O resultado da análise de solo dos sítios de coleta de *L. pinaster* é apresentado na tabela 5. Os solos, apresentaram predominantemente caráter ácido, com altos níveis de alumínio (Al^{3+}), baixa saturação por bases e pobres em matéria orgânica. Em relação aos nutrientes, observa-se como padrão baixos teores de macronutrientes como P, K, Mg e elevadas concentrações de micronutrientes como Fe e Zn. A textura dos solos é predominantemente franca, conhecida também como textura média, que possuem como característica boa drenagem e capacidade de retenção de água (BRADY; WEIL, 2013; CENTENO et al., 2017).

Tabela 5. Atributos físicos e químicos dos solos das populações de *Lychnophora pinaster*, Minas Gerais, Brasil

População	pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Análise Física
		g/dm ³	mg/dm ³	mmol/dm ³						mg/dm ³								
GM	3,8	33	1	10	32	0.9	9	1	11	43	25	4	0.23	0.2	124	0.4	0.1	Franco arenoso
OD	4.1	25	2	7	27	1.4	8	1	10	37	27	3	0.22	1.0	66	16.0	0.2	Franco
ODMa	4.0	26	2	17	60	0.9	8	2	11	71	15	3	0.22	0.6	178	3.3	0.2	franca
DI	4.2	19	2	9	29	0.8	12	2	14	43	33	6	0.20	0.2	58	0.4	0.1	franca
DIMa	4.0	16	2	9	25	0.7	6	1	7	32	22	4	0.21	0.3	68	0.3	0.1	Franco siltoso
SRM	3.6	66	14	17	216	1.8	21	4	27	243	11	25	0.74	0.5	332	9.0	3.7	franca
SM	4.1	49	12	4	106	2.9	31	6	40	145	27	12	0.56	0.6	204	51.2	5.6	franca
CTRA	6.0	49	5	0	26	1.1	60	31	91	117	78	11	0.26	0.4	74	39.3	1.4	Franco arenoso
NLSC	3.5	74	7	16	233	1.8	17	2	21	254	8	19	0.42	0.5	338	3.4	2.9	Franco argiloso
RPS	4.1	44	2	6	60	1.5	23	3	28	88	32	8	0.26	1.8	324	36.1	1.0	Franca
CC	4.2	26	1	7	28	1.9	14	3	19	48	41	6	0.26	0.4	119	3.1	0.4	Areia franca

Mesorregião Norte: município de Olhos D'Água (OD e ODMa), Diamantina (DI) Grão Mogol (GM); Jequitinhonha: município de Diamantina (DIMa); Metropolitana de Belo Horizonte: município de Moeda (SM), Caeté (CTRA), Raposo (RPS), Nova Lima (SRM, NLSC); Campos das Vertentes: município de Carrancas (CC). M.O.: Matéria orgânica; P resina: fósforo resina; Al³⁺: alumínio trocável; H+Al; Acidez potencial; k: Potássio; Ca: cálcio, Mg: magnésio; SB: Soma de bases; CTC: Capacidade de troca catiônica; V%: Saturação de bases; S: enxofre; B: boro; Cu: cobre; Fe: ferro; Zn: zinco.

A população CTRA pertencente à mesorregião metropolitana de Belo Horizonte, destacou-se das demais, devido aos valores de pH levemente ácido (6), ausência de alumínio (Al^{3+}) e saturação por bases acima de 60% (78%). Essas condições são ideais para absorção de nutrientes, conforme critérios usados na agronomia para plantas cultivadas (AQUINO, 2009). No entanto, em relação às plantas nativas, o padrão de resposta em função das condições físico-químicas do solo é diferente, sendo descrita adaptabilidade dessas espécies em solos com condições adversas e de baixa fertilidade (HARIDASAN, 2000). No caso de *L. pinaster*, Oliveira-Júnior et al. (2005) avaliando o efeito da calagem e adubação concluíram que trata-se de uma espécie com baixa exigência nutricional, exceto em relação aos micronutrientes zinco (Zn) e manganês (Mn), e destacam que embora não seja acumuladora, é tolerante ao alumínio (Al^{3+}).

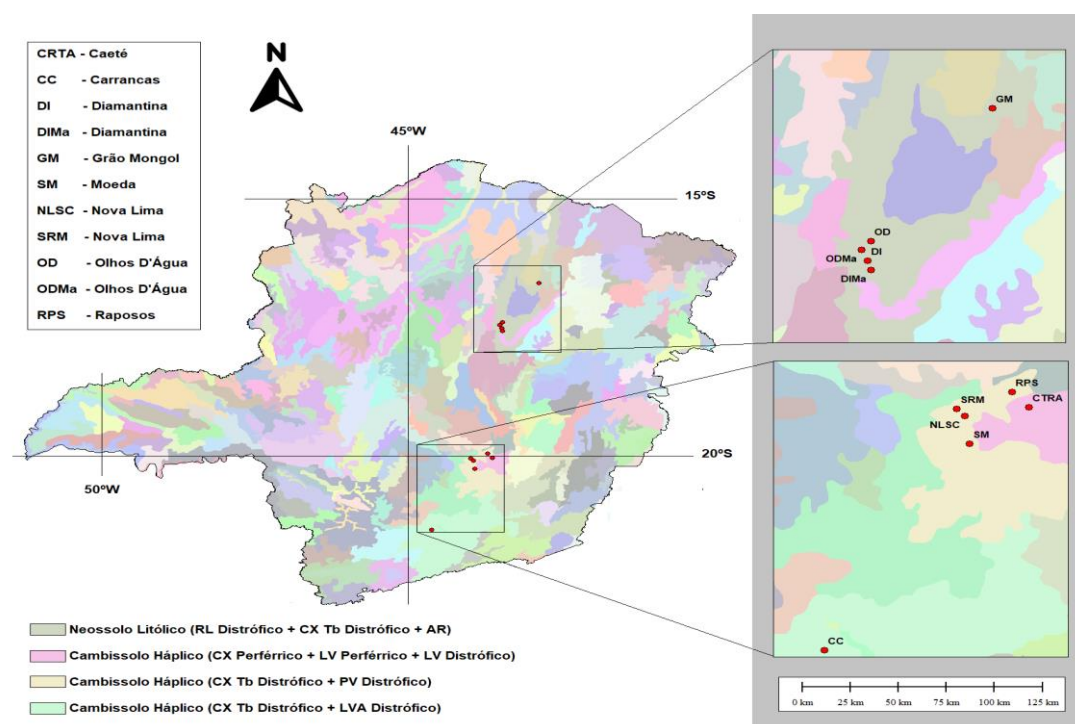
O Zn e Mn atuam na ativação de enzimas, além disso, o Zn é um dos precursores da biossíntese de auxina, hormônio vegetal promotor do alongamento celular, enquanto o Mn é importante precursor da biossíntese de clorofila, organela responsável pela fotossíntese dos vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2017). De acordo com a classificação de Raij et al. 2001, nos solos dos sítios de ocorrência de *L. pinaster*, o Zn foi encontrado em alta concentração ($> 1,2 \text{ mg/dm}^3$) nas populações de SM ($5,6 \text{ mg/dm}^3$), CTRA ($1,4 \text{ mg/dm}^3$), SRM ($3,7 \text{ mg/dm}^3$) e NLSC ($2,9 \text{ mg/dm}^3$) e em média concentração ($0,6 - 1,2 \text{ mg/dm}^3$) em RPS (1 mg/dm^3) todas localizadas na mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte. Baixas concentrações de Zn ($<0,5 \text{ mg/dm}^3$) foram observadas nas cinco populações do Norte (OD, ODMa, DI GM) e em DIMa pertencente a mesorregião do Jequitinhonha. Alta concentração de Mn ($> 5,0 \text{ mg/dm}^3$) foi observada apenas nas populações de CTRA ($39,3 \text{ mg.dm}^3$), OD (16 mg.dm^3) e SM ($51,2 \text{ mg.dm}^3$).

O alumínio Al^{3+} , presente em alta concentração ($> 5 \text{ mg.dm}^3$) em todas as populações, exceto SM (4 mg.dm^3) e CTRA (não detectado) é um elemento responsável pelo aumento da acidez do solo, e conseqüente indisponibilização de nutrientes como P, Ca, Mg e K. Além disso, mostra-se fitotóxico, com danos ao desenvolvimento radicular devido a alterações durante o processo de proliferação celular (BURNHAM et al., 2017, HORBOWIZ et al., 2011). No entanto, assim como outras plantas do cerrado, pode-se concluir que a arnica é tolerante a regiões com altas concentrações de alumínio, tendo em vista sua ocorrência nos solos avaliados neste estudo e resultados de literatura (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2005). Os

mecanismos que lhe conferem tal tolerância, segundo Mengel and Kirkby 2001, são de ordem genética e estão em consonância com Goodland and Ferri 1979 a respeito da adaptação das plantas às condições de solos de Cerrado.

Os solos das populações de *L. pinaster* foram classificados de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de solos (SANTOS et al., 2018), conforme demonstrado na Figura 12. As populações GM, OD, ODMa, DI, DIMa encontram-se sobre Neossolos Litólicos, que são solos rasos, normalmente encontrados em locais de relevos mais declivosos, e com baixos percentuais de fósforo, como observado no presente estudo, com o fósforo variando de 1 a 2 mg/dm³ para essas populações. Os solos das demais populações foram classificados em Cambissolos Hápicos, que apresentam fertilidade variável, relevo declivoso ou montanhoso, pequena profundidade e massa de pedras sobre o solo. Nas regiões onde essas populações ocorrem, algumas variações em relação a atividade da argila e presença de ferro são observadas, sendo elas assim divididas em Cambissolo Háptico PV Distrófico (NLSC, SM, SRM, RPS), Cambissolo Háptico Perférico (CTRA) e Cambissolo Háptico LVA Distrófico (CC) (SANTOS et al. 2018).

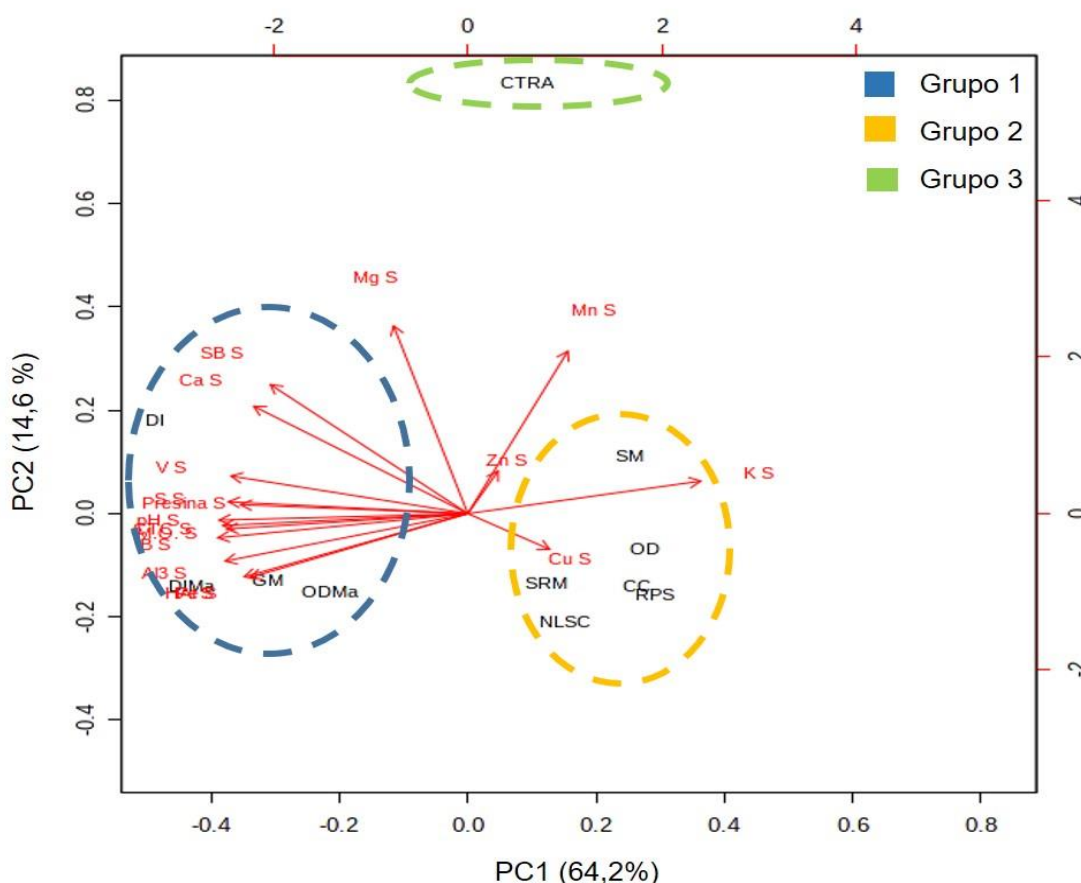
Figura 12. Mapa de classificação dos solos das áreas de ocorrência de *L. pinaster* no estado de Minas Gerais.



Fonte: IBGE (2019, p. 68).

A figura 13 apresenta a análise de componentes principais (PCA), obtida a partir da matriz de correlação dos atributos do solo. Por meio de duas componentes principais for possível explicar 78,8% da variação total dados. Isso permitiu identificar os atributos químico do solo mais relevantes e agrupar as populações de acordo com características similares. É possível observar a formação de três grupos, sendo o primeiro caracterizado pela maior proximidade das populações DI, DIMa, GM e ODMa que possuem alta correlação com os atributos V, Ca, SB, H+Al, CTC. O segundo (grupo 2) composto pelas populações SRM, NLSC, SM, CC, OD, RPS, assim agrupados em função do K e Zn. O grupo 3 representado apenas pela população CTRA destaca-se devido aos nutrientes Mn e Mg.

Figura 13 - Biplot da análise de componentes principais de atributos do solo dos sítios de ocorrência de *L. pinaster*



5.3 Análise nutricional das folhas de *Lychnophora pinaster*

Os nutrientes disponíveis para as plantas estão nas formas solúveis na solução do solo, e grande parte deles estão adsorvidos aos coloides, ou na fase mineral ou orgânica como elemento lentamente disponível (SENGIK, 2003). Para a diagnose da fertilidade de um solo é necessário conhecer: a disponibilidade de macro e micronutrientes, saber quem são os cátions e os ânions, a relação entre os nutrientes e as condições de acidez do meio.

A primeira medida, quando se pretende iniciar um estudo visando o cultivo de qualquer espécie vegetal está na análise de solo e sua exigência nutricional. No presente trabalho foi analisado a composição nutricional das folhas da *L. pinaster* nas diferentes regiões de ocorrência natural (Tabela 6).

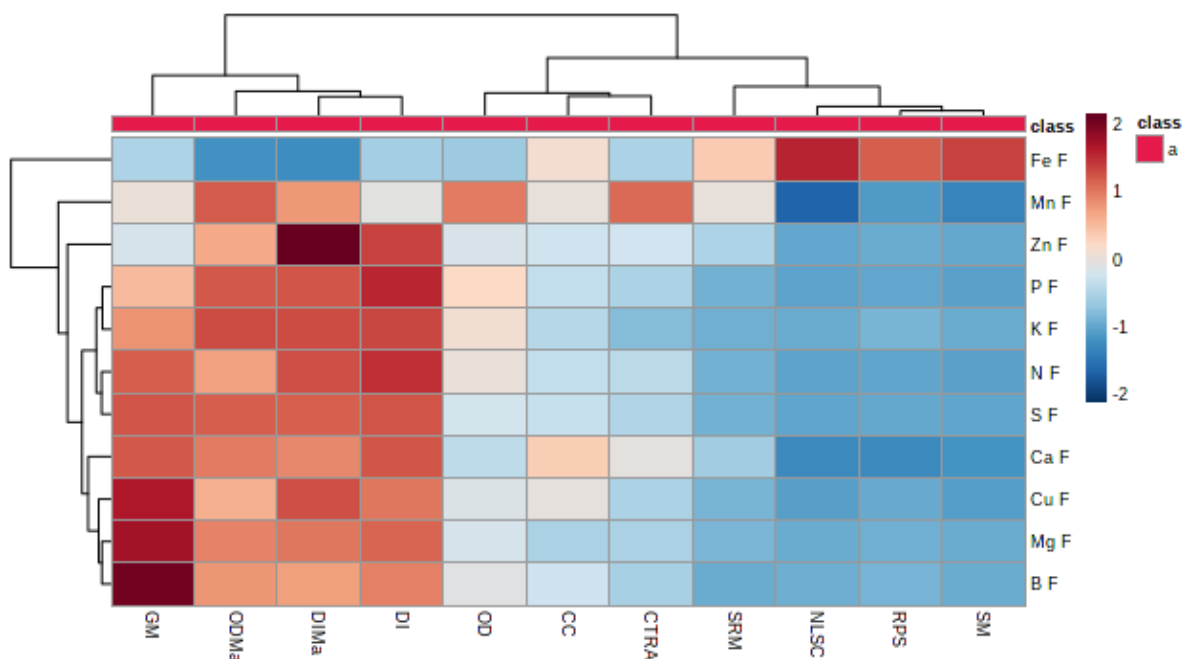
Tabela 6 – Nutrientes foliares das populações de *Lychnophora pinaster*, estado de Minas Gerais, Brasil

	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
		g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹			
GM	7	0,2	10	2	1,8	0,7	22	11	149	83	11
DI	9	0.4	14	2	1.5	0.7	15	9	152	84	29
DIMa	8	0.4	13	1	1.4	0.7	13	10	106	121	37
OD	10	0.5	16	2	1.5	0.7	18	11	377	332	30
ODMa	6	0.3	13	1	1.3	0.7	13	7	105	135	20
SM	10	0.4	5	6	1.7	0.9	15	13	7895	713	75
CTRA	10	0.4	4	4	1.4	0.8	14	11	626	541	44
NLSC	10	0.4	4	4	1.4	0.8	15	12	7236	286	62
RPS	10	0.4	12	3	1.6	0.8	18	17	5188	688	57
SRM	10	0.4	4	6	1.5	0.8	6	15	2479	990	92
CC	8	0.4	9	3	1.0	0.7	17	14	585	254	32

Mesorregião Norte: município de Olhos D'Água (OD e ODMa), Diamantina (DI) Grão Mogol (GM); Jequitinhonha: município de Diamantina (DIMa); Metropolitana de Belo Horizonte: município de Moeda (SM), Caeté (CTRA), Raposo (RPS), Nova Lima (SRM, NLSC); Campos das Vertentes: município de Carrancas (CC). K: potássio; Ca: cálcio, Mg: magnésio; S: enxofre; B: boro; Cu: cobre; Fe: ferro; Zn: zinco; Mn :manganês; N :nitrogênio; P: fósforo.

Afim de compreender a composição química de nutrientes das folhas da *L. pinaster* nas diferentes regiões de ocorrência da espécie os dados foram analisados por meio da HCA e gerado o heatmap (Figura 14). Devido os teores terem grandezas muito diferentes os dados foram normalizados por soma e auto escalados.

Figura 14 - Heatmap dos nutrientes foliares das populações de *L. pinaster* em diferentes regiões



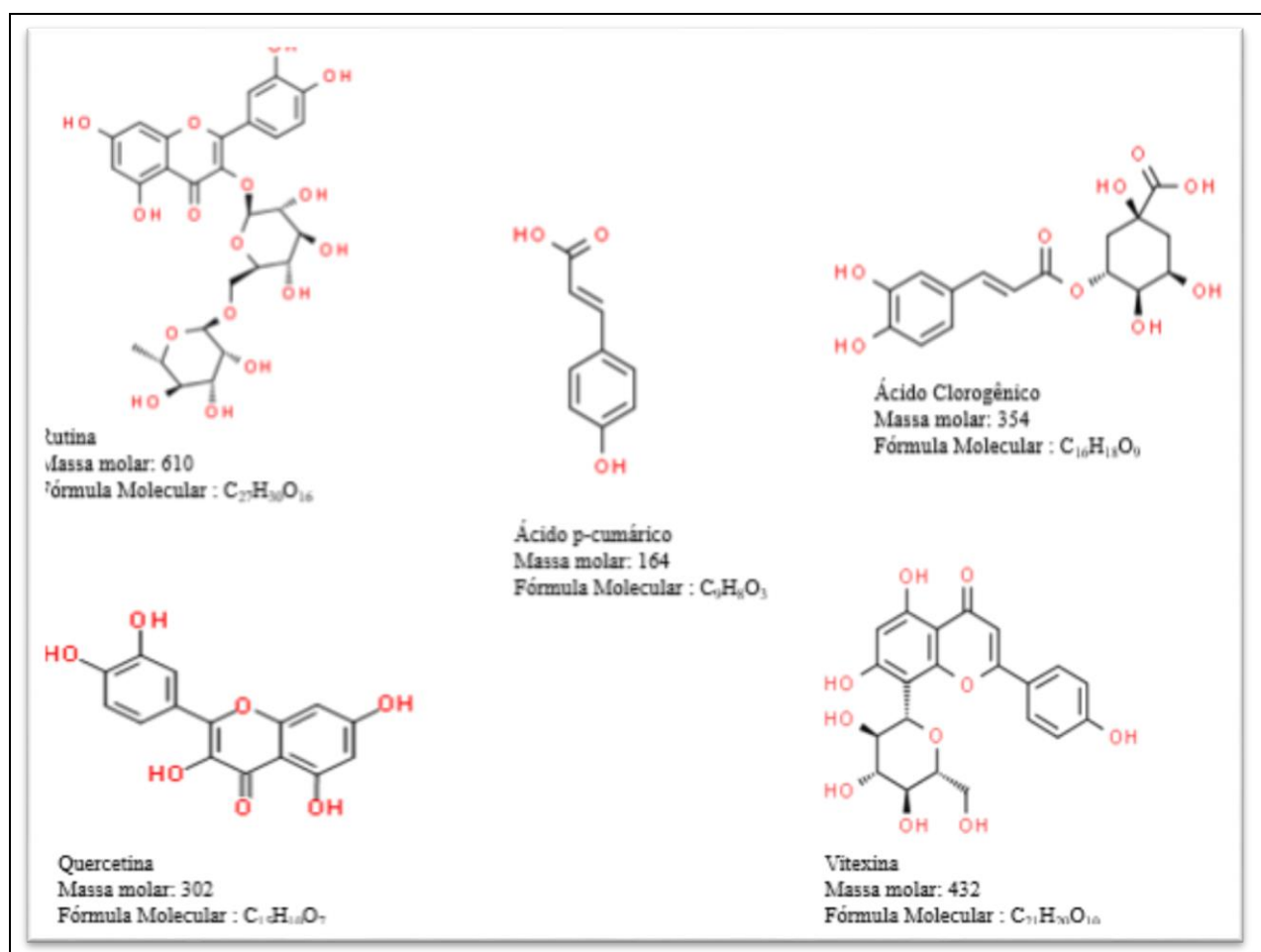
Através do heatmap é possível observar que várias amostras ainda estão agrupadas por região como GM, ODMa, DI e DIMa (região norte e Vale do Jequitinhonha, respectivamente) dentre os nutrientes observado apenas o teor Fe nas folhas se mostrou baixo em todas as populações desse grupo. Em contra partida o fósforo (P) se mostrou fortemente presente nas folhas. A associação com fungos micorrízicos podem também auxiliar na eficiência de utilização e reciclagem do (P) fósforo (ALMEIDA, 2006). De acordo com Smith (1993) a eficiência da transferência entre planta e fungo é um fator chave, determinante da resposta dos simbiontes em termos de eficiência de aquisição de nutrientes, crescimento e aptidão na complexa relação da planta com os microorganismos. Essencialmente, a eficiência micorrízica é a habilidade do fungo de aumentar a fotossíntese e o crescimento do hospedeiro, através de um melhor fornecimento de nutrientes, principalmente o fósforo.

Outro grupo regional é SM, RPS, NLSC e SRM (Região Metropolitana de Belo Horizonte) que apresentam altos teores de Fe no solo e pouco do resto nas folhas, salientando que o solo destas amostras apresentava bastante K e estas folhas apresentam pouco K. Mostrando que a composição inorgânica nas folhas não reflete o teor destes no solo. Finalmente, há um grupo intermediário (OD, CC e CTRA) cujos inorgânicos não se agrupam com a região. A composição de nutrientes na folha em CC e OD apresentou composição similar, embora de região diferente. CTRA apresentou alto teor de Mn no solo e na folha. A disponibilidade dos nutrientes sofre influência do pH do solo, o nitrogênio (N) e o potássio (K) é melhor aproveitado pela planta em solo com pH acima de 5,5 (MALAVOLTA, 1979). A disponibilidade máxima verifica-se na faixa de pH do solo entre 6 e 6,5.

5.4 Caracterização dos constituintes fenólicos dos Extratos de *Lychnophora pinaster*

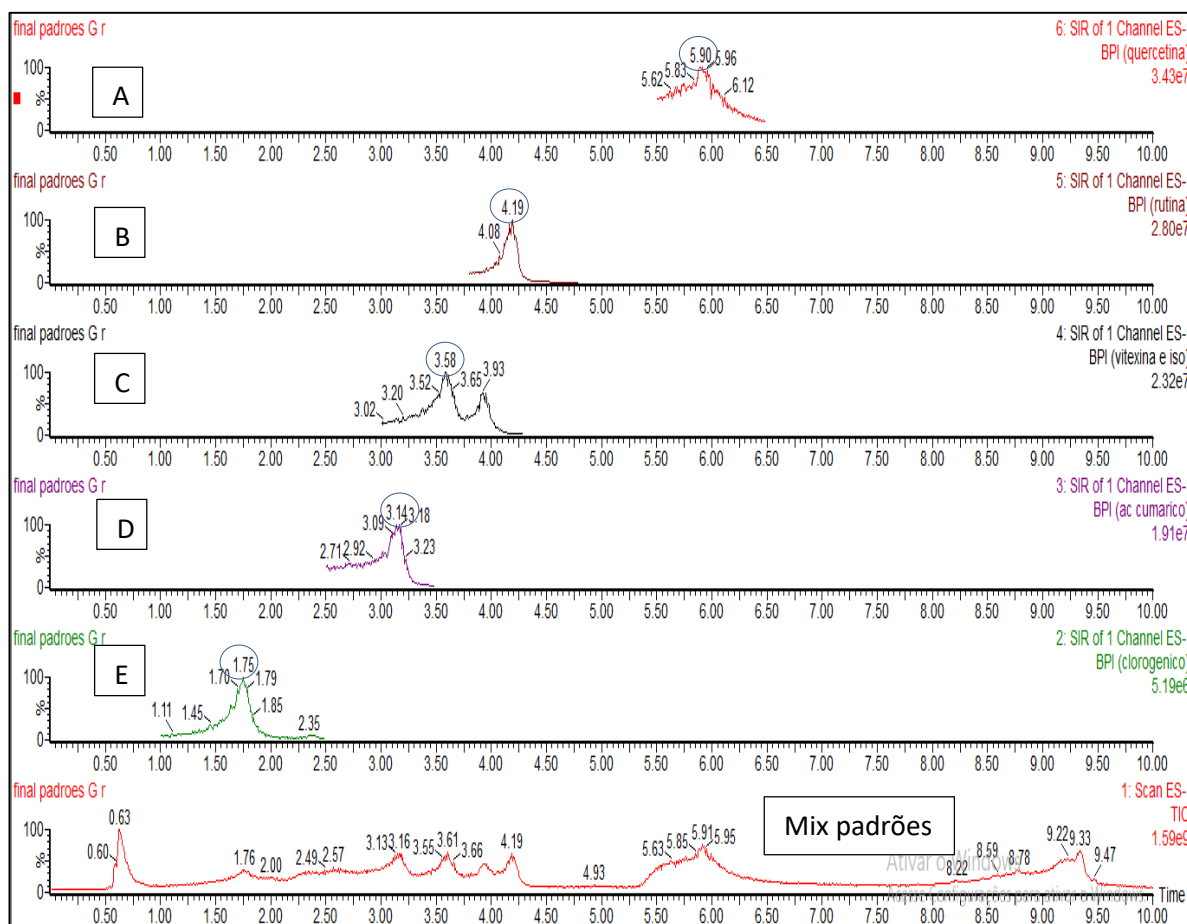
Nas amostras de *L. pinaster* foram encontradas ácido clorogênico, quercetina, vitexina, ácido *p*-cumárico e rutina (Figura 16). As suas estruturas químicas estão apresentadas na figura 15.

Figura 15 - Estruturas químicas dos compostos fenólicos identificados nos extratos das folhas de populações de *Lychnophora pinaster*, Minas Gerais, Brasil



Fonte: banco de dados de estruturas químicas ChemSpider.

Figura 16 - Cromatogramas obtidos por UHPLC-MS ionização por eletrospray em modo negativo dos padrões comerciais da (A) quercetina – m/z 302, tR 5.90 min; (B) rutina – m/z 610, tR 4.19 min; (C) vitexina – m/z 432, tR 3.58 min; (D) ácido p-cumárico – m/z 163, tR 3.14 min; (E) ácido clorogênico – m/z 353, tR 1.75 min



Na tabela 7 é possível verificar com detalhes os resultados do monitoramento dos constituintes fenólicos utilizando UHPLC-ESI-MS, onde são apresentadas a quantidade de íons detectados por população e o tempo de retenção (tR).

Tabela 7 - Dados adquiridos na análise dos extratos das populações de *L. pinaster* por UHPLC-ESI-MS/MS com ionização por eletrospray em modo negativo.

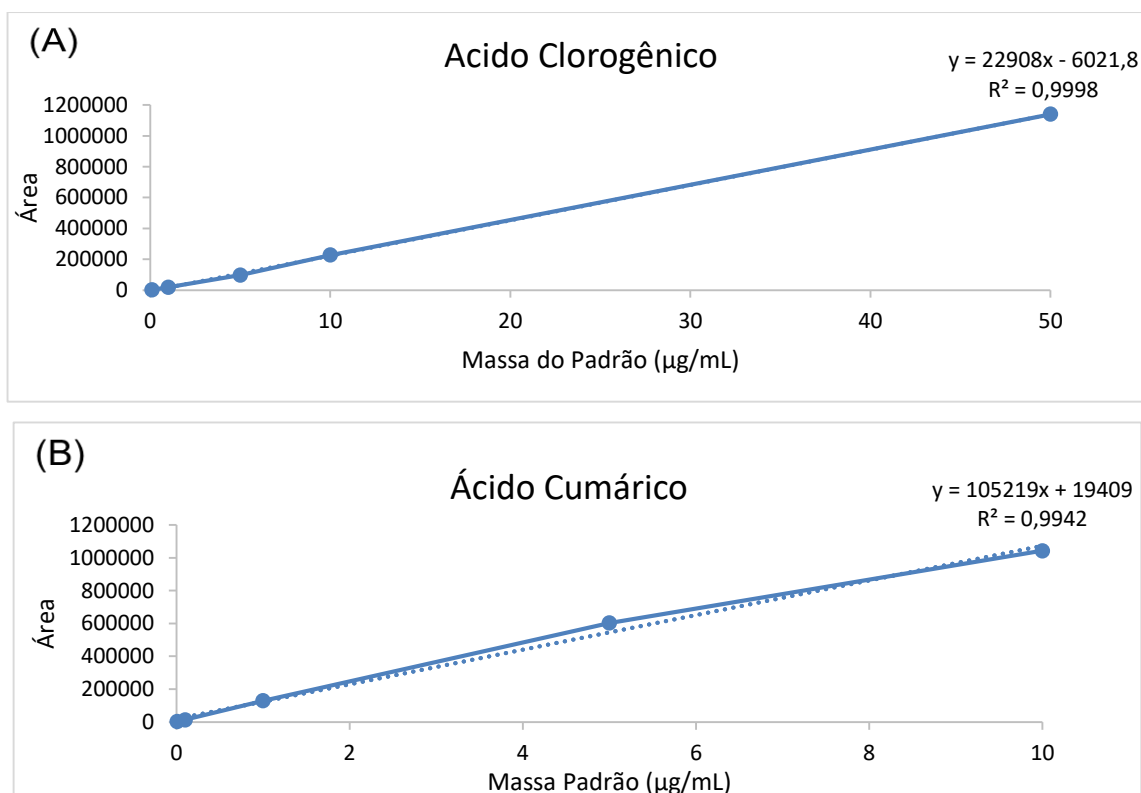
Identificação	tR (min)	ESI- [M - H] - m/z	Populações
Ácido clorogênico	1.75	353	CC (Carrancas), CTRA (Caeté), DI (Diamantina), DIMa (Diamantina), GM (Grão Mogol), NLSC (Serra da Calcada), ODMa (Olhos 'D Agua), OD (Olhos 'D Agua), RPS (Raposos), SM (Serra da moeda), SRM (Serra do Rola Moça)
Ácido <i>p</i> -cumárico	3.14	163	CC (Carrancas), CTRA (Caeté), DI (Diamantina), DIMa (Diamantina), GM (Grão Mogol), NLSC (Serra da Calcada), ODMa (Olhos 'D Agua), OD (Olhos 'D Agua), RPS (Raposos)
Vitexina	3.58	432	CC (Carrancas), CTRA (Caeté), DI (Diamantina), DIMa (Diamantina), GM (Grão Mogol), NLSC (Serra da Calcada), ODMa (Olhos 'D Agua), OD (Olhos 'D Agua), RPS (Raposos), SM (Serra da Moeda), SRM (Serra do Rola Moça)
Quercetina	5.90	302	CC (Carrancas), CTRA (Caeté), DI (Diamantina), DIMa (Diamantina), NLSC (Serra da Calcada), ODMa (Olhos 'D Agua), OD (Olhos 'D Agua), RPS (Raposos), SM (Serra da moeda), SRM (Serra do Rola Moça)
Rutina	4.19	610	DI (Diamantina), DIMa (Diamantina), NLSC (Serra da Calcada), OD51 (Olhos 'D Agua), OD (Olhos 'D Agua), SM (Serra da moeda), SRM (Serra do Rola Moça)

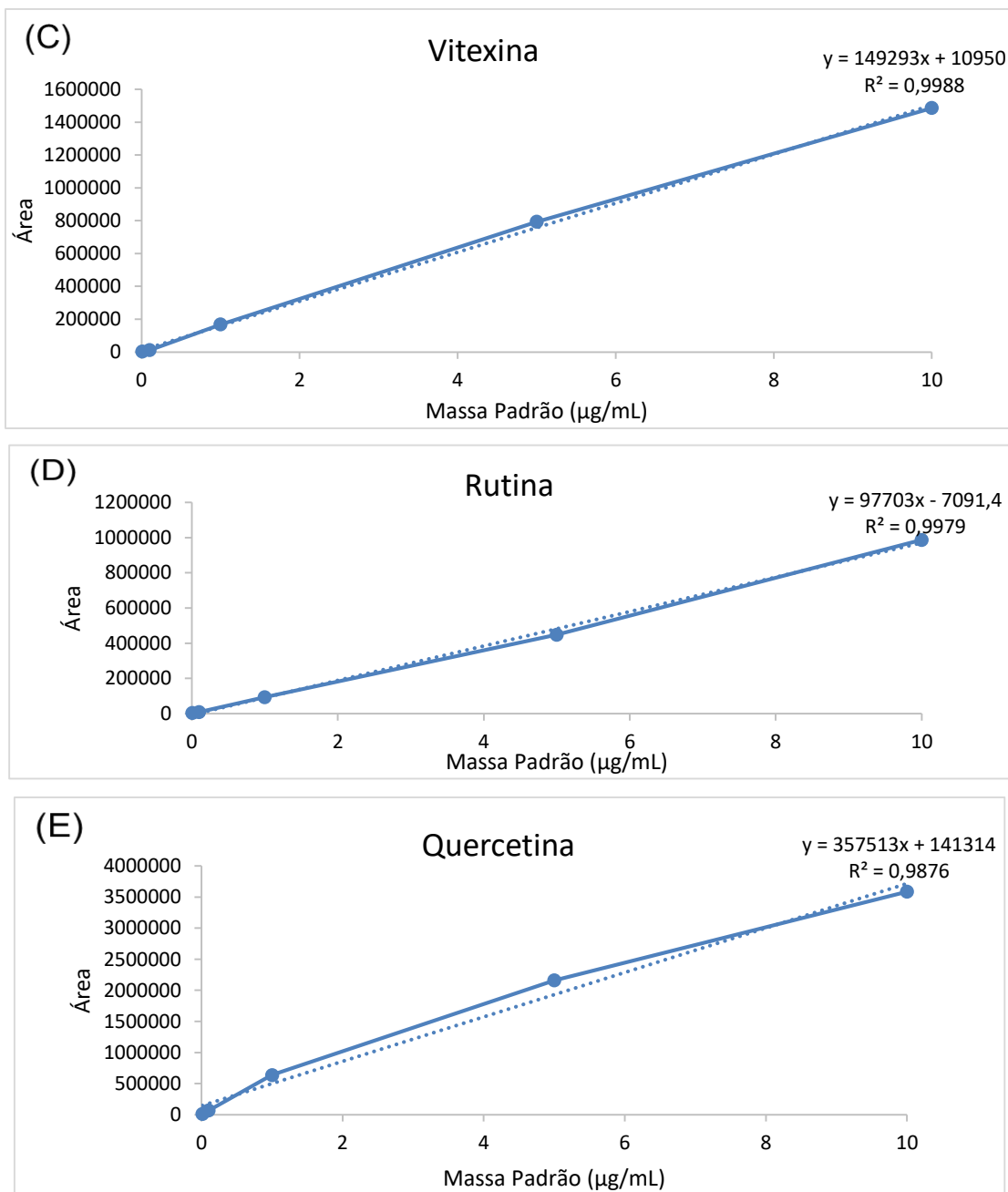
*= Íons monitorados nos extratos.

O ácido clorogênico (m/z 353, $tR=$ 1.75 min), foi identificado em todas as populações. Adicionalmente, o íon m/z 163 ($tR=$ \cong 3.14 min) foi identificado como o ácido *p*-cumárico por meio da comparação com padrão comercial, não sendo encontrado nos extratos das populações CTRA, SM e SRM. A rutina foi detectada no extrato das populações DIMa, DI, NLSC, ODMa, OD, SM e SRM.

As curvas de calibração utilizadas para a quantificação das substâncias estão demonstradas nos gráficos 17 A a 17E com coeficiente de correlação (r) > 0.9900 (Figura 17).

Figura 17 - Curva de calibração (μ g) dos padrões comerciais de ácido clorogênico (A), ácido *p*-cumárico (B), vitexina (C), rutina (D) e quercetina (E).





A concentração de quercetina, ácido *p*-cumárico, ácido clorogênico, vitexina e rutina estão apresentadas na tabela 8. Foi possível observar a presença da isovitexina (m/z 432) no tempo de retenção 4,01 min em várias amostras, no entanto o valor está abaixo do limite de quantificação.

Nas populações de *L. pinaster* das mesorregiões Norte, Metropolitana de Belo Horizonte e Campos da Vertentes do estado de Minas Gerais foram identificados os ácidos clorogênico e *p*-cumárico e os flavonoides, quercetina, vitexina e rutina (Tabela 8).

Tabela 8 - Constituintes fenólicos (ng/g) identificados nas folhas de populações de *Lychnophora pinaster*, estado de Minas Gerais, Brasil

População	ác. clorogênico	ác. <i>p</i> -cumárico	vitexina	rutina	quercetina
GM	417	1	1345	-	-
OD	553	5	1025	6	22
ODMa	60	32	1180	3	29
DI	187	17	829	21	16
DIMa	555	10	692	79	3
NLSC	224	2	49	65	41
CTRA	360	-	32	-	14
RPS	295	5	44	-	3
SM	361	-	163	4	25
SRM	324	-	34	40	20
CC	767	18	18	-	72

(-): substância não detectada.

Mesorregião Norte: município de Olhos D'Água (OD e ODMa), Diamantina (DI) Grão Mogol (GM); Jequitinhonha: município de Diamantina (DIMa); Metropolitana de Belo Horizonte: município de Moeda (SM), Caeté (CTRA), Raposo (RPS), Nova Lima (SRM, NLSC); Campos das Vertentes: município de Carrancas (CC).

Estudos prévios com as partes aéreas de *L. pinaster* de ocorrência na região Metropolitana de Belo Horizonte identificaram a presença do ácido clorogênico e rutina (MULLER et al., 2019), vitexina (SILVEIRA et al., 2005, MULLER et al., 2019) e quercetina (ABREU et al., 2013) e as atividades anti-inflamatória da quercetina (ABREU et al., 2013) anti-inflamatória e anti-hiperuricêmicas da rutina e ácido clorogênico (MULLER et al., 2019).

As populações das mesorregiões Norte (OD, ODMa, DI, GM) e de Jequitinhona (DIMa) apresentaram a maior concentração da vitexina (692 a 1345 ng/g folha) quando comparadas com a Metropolitana de Belo Horizonte (SRM, NLSC, SM, RPS, CTRA: 32 a 163 ng/g folha) e Campos das Vertentes (CC: 18 ng/g folha). A população de Grão Mogol (GM) apresentou maior concentração de vitexina (1345 ng/g folha) e a de Carrancas (CC) a menor (18 ng/g folha).

Dentre as populações, a ODMa (mesorregião Norte) apresentou a menor concentração de ácido clorogênico (60 ng/g folha) e a de Carrancas (CC), mesorregião dos Campos das Vertentes, a maior (767 ng/g folha).

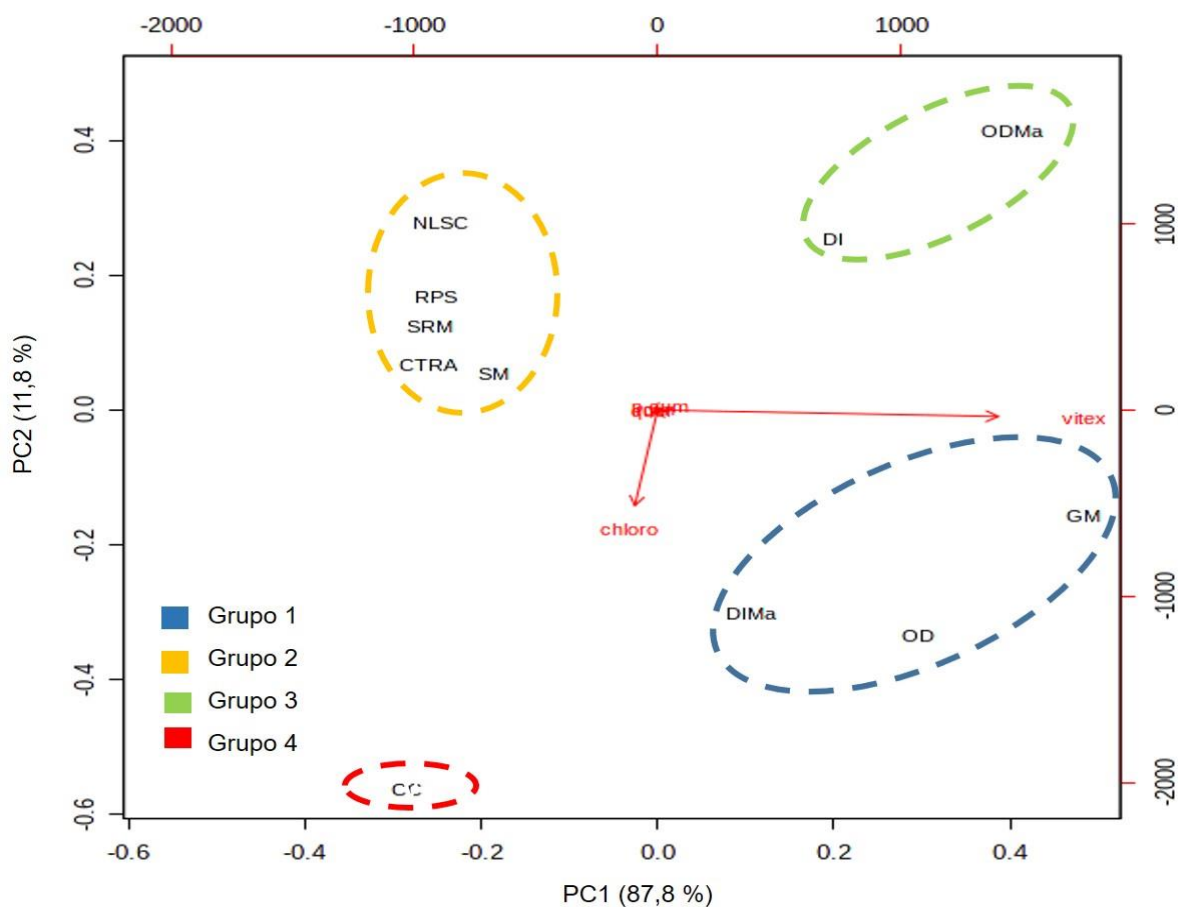
O ácido *p*-cumárico não foi detectado em três populações da mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte (SRM, CTRA, SM) com maior concentração na população ODMa (35 ng/g folha), mesorregião Norte, quando comparada com as

demais populações. A maior concentração de quercetina (72 ng/g folha) foi observada para a população CC (72 ng/g folha), mesorregião de Campos das Vertentes.

A rutina não foi detectada nas populações de Carrancas (CC), Raposos (RPS), Caeté (CTRA) e Grão Mogol (GM), sendo mais abundante na população de Diamantina (DIMa: 79 ng/ g folha), esta última pertencente a mesorregião do Jetiquinhonha.

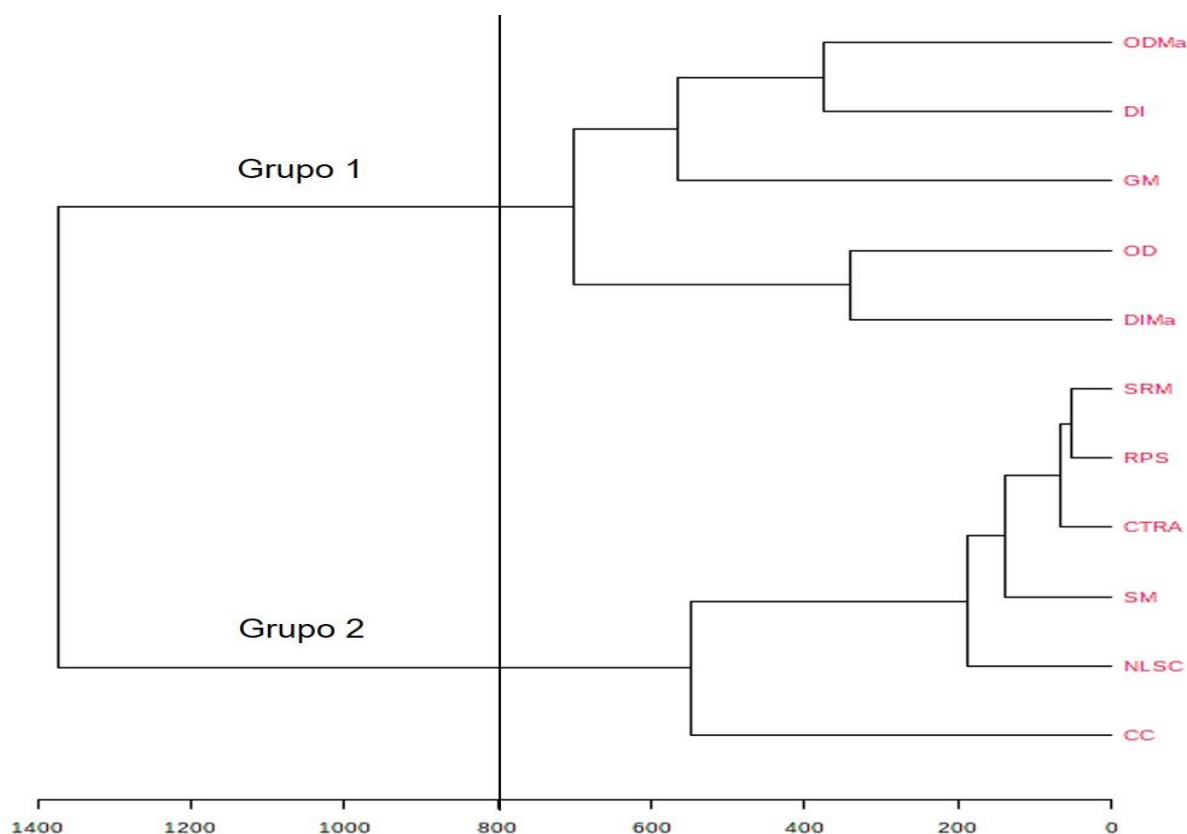
Na análise dos componentes principais (Figura 18) os dois primeiros componentes explicaram 99,6 % da variância total, com PC1 sendo responsável por descrever 87,8% e PC2 11,8%. As populações formaram quatro grupos, com o grupo 1 constituído pelas populações da mesorregião Norte (GM, OD) e do Jetiquinhonha (DIMa), grupo 2 da mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte (SRM, NLSC, SM, RPS, CTRA), grupo 3 da mesorregião Norte (ODMa e DI) e o grupo 4 pela população Campos das Vertentes (CC).

Figura 18 - Biplot da análise de componentes principais (PCA) dos compostos fenólicos da *L. pinaster*. Minas Gerais, Brasil



As substâncias responsáveis pelos agrupamentos foram a vitexina e o ácido clorogênico. Os grupos 1 e 3 são constituídos pelas populações com alta concentração de vitexina e os grupos 2 e 4 pelo ácido clorogênico. A maior abundância do ácido clorogênico nas populações do grupo 1 (417 a 555 ng/g folha) contribuiu para a sua separação do grupo 3 (60 e 186 ng/g folha), o mesmo sendo observado para os grupos 2 e 4, onde a população CC apresentou maior concentração da substância (767 ng/g folha). Análise de agrupamentos hierárquicos (Figura 19) as populações formaram dois grandes grupos, o grupo 1 formado pelas populações da mesorregião Norte (GM, OD, ODMa, DI) e do Jetiquinhonha (DIMa) e o grupo 2 pelas populações da mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte (SRM, NLSC, SM, RPS, CTRA) e Campos das Vertentes (CC). Observa-se a formação de subgrupos no grupo 1, um formado pelas populações ODMa, DI e GM e o outro por OD e DIMa, a última população pertencente a mesorregião do Jetiquinhonha e as demais do Norte.

Figura 19 - Análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) das 11 populações de *L. pinaster* de ocorrência nas mesorregiões Norte, Jetiquinhonha, Metropolitana de Belo Horizonte e Campos da Vertentes, Minas Gerais, Brasil



No grupo 2 observa-se a formação de um subgrupo formado pelas populações da região Metropolitana de Belo Horizonte (SRM, RPS, CTRA, SM, NLSC) e o segundo formado pela população do município de Carrancas (CC), de ocorrência na mesorregião dos Campos das Vertentes. Estes resultados demonstram que o perfil dos constituintes fenólicos nas populações variou em função da origem geográfica.

5.5 Correlação dos dados

Realizou-se a correlação de Pearson entre os teores dos compostos observado no extrato a *Lychnophora pinaster* e o de nutrientes de folhas e do solo (Tabela 9). Entre os nutrientes analisados na relação solo observou-se correlação negativa entre a matéria orgânica (MO) do solo e a vitexina ($R = -0,63$). A vitexina também teve uma correlação fraca com o potássio (K) ($R = -0,61$) e com o nitrogênio (N) ($R = -0,67$) encontrado nas folhas. De acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), uma correlação bem estabelecida é que menores quantidades de metabólitos fenólicos são produzidos em condições de fornecimento abundante de nitrogênio. O ácido *p*-cumárico também obteve uma relação negativa com o N foliar ($R = -0,72$). Essa fraca correlação é um indicativo de que a mineralização do N contido nas folhas pode estar interferindo no teor de vitexina e o ácido *p*-cumárico. Correlações positivas foram observadas entre os teores de Ca na folha ($R = 0,63$) e MO no solo ($R = 0,63$) em relação ao ácido *p*-cúmarico. Freitas et al. (2008) observaram que deficiências de nitrogênio, fósforo e potássio aumentaram os teores de vitexina nas folhas do maracujazeiro doce, mas as deficiências de cálcio e boro os reduziram, e que deficiências de magnésio e enxofre não alteraram os teores de vitexina.

Não se observou nenhuma correlação significativa entre os teores de nutrientes do solo e foliar com o ácido clorogênico e rutina.

Tabela 9 - Coeficiente de correlação simples de Person entre os compostos identificados no extrato da folha, os nutrientes do solo e foliares

	Ác. clorog.	Ác. p-cumárico	Vitexina	Rutina	Quercetina	Ph	M.O.	Presina	Al3+	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	N f	P f	K f	Ca f	Mg f	S f	B f	Cu f	Fe f	Mn f	Zn f				
Ác. clorogênico	1																																				
Ác. p-cumárico	-0,19	1																																			
Vitexina	-0,16	0,40	1																																		
Rutina	-0,02	-0,14	-0,14	1																																	
Quercetina	0,32	0,35	0,35	-0,08	1																																
Ph	0,03	-0,16	-0,16	-0,26	-0,01	1																															
M.O.	-0,22	0,63*	-0,63*	-0,07	-0,05	0,11	1																														
Presina	-0,10	-0,45	-0,42	0,04	-0,07	-0,12	0,75**	1																													
Al3+	-0,33	0,47	0,39	-0,03	-0,70*	-0,03	0,17		1																												
H+Al	-0,25	-0,29	-0,38	0,16	-0,01	-0,40	0,77**	0,87**	0,51	1																											
K	0,20	-0,38	-0,61*	-0,20	0,41	-0,13	0,56	0,63*	-0,25	0,49	1																										
Ca	-0,11	-0,48	-0,64*	-0,22	-0,03	0,82**	0,63*	0,36	-0,63*	0,10	0,31	1																									
Mg	-0,05	-0,31	-0,41	-0,25	-0,08	0,94**	0,40	0,17	-0,58	-0,10	0,0	0,93**	1																								
SB	-0,09	-0,44	-0,58	-0,24	-0,03	0,87**	0,58	0,31	-0,62*	0,05	0,23	0,99**	0,96**	1																							
CTC	-0,26	0,43	-0,56	0,05	-0,02	-0,03	0,91**	0,91**	0,23	0,93**	0,54	0,47	0,27	0,42	1																						
V%	0,17	-0,23	-0,38	-0,30	0,09	0,96**	0,10	-0,19	-0,81**	-0,46	-0,05	0,79**	0,87**	0,82**	-0,11	1																					
S	-0,13	-0,50	-0,60	0,13	-0,03	-0,02	0,87**	0,89**	0,19	0,90**	0,47	0,45	0,27	0,40	0,96**	-0,06	1																				
B	-0,06	-0,43	-0,47	0,08	-0,33	-0,27	0,79**	0,97*	0,28	0,95**	0,67*	0,25	0,03	0,20	0,93**	-0,30	0,92**	1																			
Cu	-0,23	-0,26	-0,39	0,13	0,06	-0,08	0,30	-0,14	-0,18	0,08	0,26	0,12	-0,11	0,05	0,09	-0,05	0,00	-0,04	1																		
Fe	-0,38	-0,27	-0,52	0,18	0,07	-0,37	0,71*	0,39	0,28	0,69**	0,44	0,12	-0,18	0,03	0,64*	-0,36	0,56	0,55	0,68*	1																	
Mn	-0,17	-0,56	-0,61	-0,14	-0,02	0,41	0,59	0,34	-0,64*	0,14	0,63	0,73*	0,48	0,67*	0,39	0,42	0,28	0,27	0,57	0,41	1																
Zn	-0,10	-0,49	0,51	-0,05	0,02	-0,07	0,73*	0,92**	-0,08	0,73*	0,83**	0,44	0,18	0,38	0,80**	-0,09	0,74*	0,87**	0,04	0,45	0,60*	1															
N foliar	0,05	-0,72*	-0,67*	0,11	-0,05	0,27	0,56	0,44	-0,50	0,31	0,51	0,55*	0,32	0,49	0,47	0,31	0,52	0,41	0,50	0,33	0,69*	0,50	1														
P foliar	0,27	-0,18	-0,47	0,20	0,25	0,20	0,04	0,16	-0,33	0,06	0,33	0,20	0,10	0,16	0,11	0,18	0,16	0,13	0,34	-0,02	0,33	0,17	0,72*	1													
K foliar	0,08	0,54	-0,70*	-0,13	-0,23	-0,28	-0,82**	-0,60*	0,22	-0,52	-0,52	-0,70*	-0,51	-0,66*	-0,72*	-0,31	-0,71**	-0,62**	-0,10	-0,50	-0,55	-0,65	-0,41	0,05	1												
Ca foliar	-0,04	0,63*	-0,73*	-0,02	0,18	0,07	0,88	0,84**	-0,18	0,73*	0,81**	0,60	0,31	0,53	0,86**	0,11	0,85**	0,85**	0,19	0,53	0,64*	0,89**	0,67*	0,24	-0,84**	1											
Mg foliar	-0,32	0,58	0,28	-0,10	-0,78**	-0,20	0,28	0,30	-0,06	0,20	0,08	0,04	-0,08	-0,02	0,18	-0,21	0,16	0,23	0,08	0,16	0,28	0,34	0,22	-0,30	-0,02	0,20	1										
S foliar	-0,23	-0,60	-0,68*	-0,02	-0,04	0,17	0,79**	0,69*	-0,36	0,53	0,76**	0,67*	0,37	0,59	0,70*	0,16	0,62**	0,65**	0,39	0,58	0,88**	0,88**	0,67*	0,21	-0,73*	0,86**	0,35	1									
B foliar	0,27	-0,04	0,38	-0,45	-0,08	0,05	-0,44	0,66*	-0,46	-0,72	-0,12	-0,18	-0,14	-0,17	-0,72*	0,21	-0,72*	-0,65*	0,11	-0,32	0,03	-0,44	-0,21	-0,29	0,39	-0,42	0,25	-0,27	1								
Cu foliar	0,32	-0,55	-0,72*	-0,09	0,09	-0,12	0,61*	0,36	-0,20	0,44	-0,61*	0,26	-0,0	0,19	0,47	0,03	0,52	0,50	0,47	0,62*	0,41	0,43	0,52	0,27	-0,38	0,60*	0,10	0,52	-0,02	1							
Fe foliar	-0,24	-0,47	-0,58	0,15	0,11	-0,14	0,56	0,39	-0,28	0,38	0,73**	0,32	-0,04	0,22	0,43	-0,08	0,33	0,43	0,67*	0,72*	0,80**	0,65*	0,56	0,20	-0,54	0,67	0,30	0,85**	-0,06	0,52	1						
Mn foliar	-0,06	-0,55	-0,68*	-0,10	-0,07	0,04	0,88**	0,81**	-0,03	0,78**	0,67*	0,53	0,29	0,47	0,89**	0,01	0,86**	0,84**	0,30	0,62*	0,57	0,79**	0,67*	0,35	-0,57	0,85**	0,22	0,77**	-0,51	0,73**	0,52	1					
Zn foliar	-0,13	-0,54	-0,76*	0,30	0,05	-0,09	0,81**	0,80**	0,0	0,81**	0,68**	0,42	0,12	0,34	0,86**	-0,11	0,85**	0,84**	0,38	0,71*	0,57	0,81**	0,71*	0,42	-0,67*	0,88**	0,14	0,82**	-0,64*	0,64*	0,70*	0,88**	1				

*, ** significativos a 5 e 1%, respectivamente.

Estudos realizados visando correlacionar a influência dos nutrientes sobre a produção de metabólitos especializados mostram uma correlação positiva com a proporção carbono/nutrientes, ou seja, em solos pobres em nutrientes, paralelamente à menor taxa de crescimento, geralmente se verifica maior produção de metabólitos especializados, particularmente derivados fenólicos (Gobbo-Neto e Lopes, 2007). Essa relação não foi observada no presente trabalho, quando plantas de menor porte foram comparadas com as de porte maior (Tabela 4). Embora os metabólitos especializados sejam controlados geneticamente, o ambiente de crescimento da planta pode influenciar na produção de seus compostos químicos de uso medicinal e na quantidade de material vegetal (Lapa, 2006). Assim, sabendo-se dos inúmeros fatores que podem levar a variação no teor de metabólitos especializados, fica claro a necessidade de estudos visando detectar as condições e épocas para cultivo e/ou coleta que conduzam a uma matéria-prima vegetal com concentrações desejáveis na *L. pinaster*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Lychnophora pinaster* é caracterizada por um notável endemismo e está distribuída em diferentes regiões do estado de Minas Gerais, destacando-se nas regiões Norte, Jequitinhonha, Região Metropolitana de Belo Horizonte e Vale das Vertentes. Esta pesquisa é a primeira contribuição quanto à caracterização ambiental, e química da *L. pinaster* proveniente de várias populações naturais de Minas Gerais. Os resultados desta pesquisa mostram informações básicas e essenciais para a execução de um plano de conservação das espécies e possivelmente um planejamento do sistema de cultivo/domesticação e o uso seguro na medicina popular. Nas folhas das populações da *L. pinaster* foram identificados os compostos quercetina, *p*-cumárico, rutina, vitexina e ácido clorogênico. As substâncias acima citadas são bioativos de valor econômico e podem contribuir para o desenvolvimento de fitomedicamentos. Portanto essa espécie merece estudos de manejo para conservar as populações nativas. Espera-se que esta pesquisa subsidie outros estudos de ensaios biológicos com a espécie, bem como, incentive pesquisas com outras espécies nativas, sempre visando o uso racional desses recursos e sua conservação.

7 CONCLUSÃO

Nos extratos etanólicos das folhas de *L. pinaster* foram identificados os ácidos clorogênico, ácido *p*-cumárico, quercetina, vitexina e rutina. As populações da mesorregião Norte e Jequitinhonha possuem maior concentração de vitexina e a dos Campos das Vertentes do ácido clorogênico. A espécie ocorre em locais de alta altitude (700m e 1498m), precipitações anuais de até 1455 mm, em solos ferruginosos, baixa fertilidade e de textura predominantemente franca. Apresenta variações morfométricas entre populações, com maiores índices para os indivíduos da população do município de Grão Mogol (mesorregião Norte) e menores valores para os das populações de Nova Lima (mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte). De modo geral, a *L. pinaster* apresentou maiores valores de nutrientes foliares na região região norte e Jequitinhonha, exceto o Fe. O ambiente de ocorrência da *L. pinaster* no estado Minas Gerais é diverso, contribuindo para a diversidade química das populações, assim como dos aspectos morfológicos nas diferentes regiões.

REFERÊNCIAS

- ABREU, V. G. C.; TAKAHASHI, J. A.; DUARTE, L. P.; PILÓ-VELOSO, D.; JÚNIOR, P. A. S.; ALVES, R. O.; ROMANHA, A. J.; ALCÂNTARA, A. F. C. Evaluation of the bactericidal and trypanocidal activities of triterpenes isolated from the leaves, stems, and flowers of *Lychnophora pinaster*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 4, p. 615- 621, 2011.
- ABREU, V. G. C.; CORREA, G. M.; SILVA, T. M.; FONTOURA, H. S.; CARA, D. C.; PILÓ-VELOSO, D.; ALCÂNTARA, A. F. C. Anti-inflammatory effects in muscle injury by transdermal application of gel with *Lychnophora pinaster* aerial parts using phonophoresis in rats. **BMC. Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 270, p. 2-8, 2013.
- AB'SABER, A. N. **Os domínios morfoclimáticos na América do Sul**. *Geomorfologia*, v.52, n.1, p.1-22, 1977.
- ALVES, R.J.V. & KOLBECK, J. 2010. Campo rupestre vegetation be floristically delimited based on vascular plant genera. **Plant Ecol** 207:p. 67-79.
- ALCÂNTARA, A. F. C.; SILVEIRA, D.; CHIARI, E.; OLIVEIRA, A. B.; GUIMARÃES, J. E.; RASLAN, D. S. Comparative analysis of the trypanocidal activity and chemical properties of E-*lychnophoric* acid and its derivatives using theoretical calculations. **Eclética Química**, v. 30, n. 3, p. 37-45, 2005.
- ALVES, R. J. V.; SILVA, N. G. **O fogo é sempre um vilão nos campos rupestres**. **Biodiversidade Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 120-127, 2011.
- ALMEIDA, C.I. M. **Germinação e efeito de doses de fósforo no crescimento inicial e atividade in vivo da fosfatase ácida em *Lychnophora ericoides* MART.** 2006. 70 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, 2006. Acesso em: <<http://hdl.handle.net/11449/93482>>.
- ANTONELLI, A., ZIZKA A., CARVALHO, F.A, SCHRAN, R. BACON, C.D., SILVESTRO, D. & CONDAMINE, F. 2018. **Amazonia is the primary source of neotropical Biodiversity**. *PNAS* 115: 23 p.
- ARAUJO, L.F. 2017. **Flora vascular dos campos Rupestres: Composição Florística, Esforço Amostral e Riqueza de Espécies**. Programa de Pós-graduação em Biologia vegetal. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- BORELLA JC, LOPES JLC, VICHNEWSKI W, CUNHA WR, Herz W 1998. Sesquiterpene lactones, triterpenes and flavones from *Lychnophora ericoides* and *Lychnophora pseudovillosissima*. **Biochem Syst Ecol** 26: 671-676.
- BORSATO MLC, Graef CFF, Souza GEP, Lopes NP. 2000. Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*. **Phytochemistry** 55: 809-813.

BFG (The Brazil Flora Group) 2015. Growing knowledge: An overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia** 66: p. 1085–1113.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. 2013. Elementos da natureza e propriedades dos solos. 3. ed. Porto Alegre: **Bookman**. 790p.

BRASIL. SECRETARIA DE APOIO RURAL E COOPERATIVISMO. 2002. **Amostragem e análise de solo: calagem, adubação, semente**. Brasília: MAPA/SARC. 34p.

BURNHAM, M.B.; CUMMING, J.R.; ADAMS, M.B.; PETERJOHN, W.T. 2017. Soluble soil aluminium alters the relative uptake of mineral nitrogen forms by six mature temperate broadleaf tree species: possible implications for watershed nitrate retention, n.185 **Oecol.** p.327-337.

CENTENO, L N et al. Textura do solo: conceitos e aplicações em solos arenosos. 2017. **Rev Bras de Eng e Sustent** 4: n. 1, p. 31-37.

CERQUEIRA, M. B. S.; SOUZA, J. T.; AMADO, J. R. R.; PEIXOTO, A. B. F. Ação analgésica do extrato bruto aquoso liofilizado do caule e folhas da *Lychnophora ericoides* Mart. (arnica). **Ciência e Cultura**, v. 39: 551-555, 1987.

CHIARI, E.; DUARTE, D. S.; RASLAN, D. S.; SAÚDE, D. A.; PERRY, K. S. P.; BOAVENTURA, M. A. D.; GRANDI, T. S. M.; STEHMANN, J. R.; ANJOS, A. M. G.; OLIVEIRA, A. B. In vitro screening of asteraceae plant species against *Trypanosoma cruzi*. **Phytotherapy Research**, v. 10, n. 7, p. 636–638, 1996.

CNCFlora. **Lychnophora pinaster in Lista Vermelha da flora brasileira**. Versão 2012. Centro Nacional de Conservação da Flora. Accessed from [http://cnclflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Lychnophora pinaster](http://cnclflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Lychnophora%20pinaster). Date of acces 14 July 2019.

COLLI-SILVA, M., VASCOCELLOS, T. N. & PIRANI, J.R. 2019. Outstanding plant endemismo levels strongly supports the recognition of campo rupestre provinces in mountaintops in eastern Brazil. **Journal of Biogeog** 46: p.1723-1733.

COURA, S. M. C. **Mapeamento de vegetação do estado de minas gerais utilizando dados modis**. 2006. Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Sensoriamento Remoto. São José dos Campos: INPE, 129p.

CPTEC/INPE. **Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos**. Accessed from <http://bancodedados.cptec.inpe.br/>. Date of access 15 August 2017.

DAVIS, S.D.; HEYWOOD, V.H.; HERRERA-MAC BRYDE, O.; VILLA-LOBOS, J. & HAMILTON, A.C. (eds). 1997. **Centers of plant diversity: a guide and strategy for their conservation 3 The Americas**. IUCN Public Unit, Cambridge. 552p.

DINIZ, E.S.; PAVANELLI, A.P. & SOARES JUNIOR, F.J. 2010. Estrutura populacional de *Lychnophora pinaster* Mart. em um trecho de Campo Rupestre no sul de Minas Gerais, Brasil. **Pesq Bot** 61: p. 191-204.

DUARTE, D. S.; RASLAN, D. S.; CHIARI, E.; OLIVEIRA, A. B. Trypanocidal activity of *Lychnophora pinaster* Mart. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**. p. 88-240, 1993.

EMBRAPA 1999. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Solos.

ECHTERNACHT, L.; TROVÓ M, OLIVEIRA C. T, PIRANI J. R, 2011. Areas of endemism in the Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil. **Flora** 206: p.782-791.

FERNANDES, G.W.; BARBOSA NPU, NEGREIROS D, PAGLIA AP. 2014. Challenges for the conservation of vanishing megadiverse rupestrian grasslands. **Nat Conserv** 12: p.162–165.

FERRAZ-FILHA, Z. S.; LOMBARDI, J. A.; GUZZO, L. S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) bioassay of extracts from *Lychnophoriopsis candelabrum* and different *Lychnophora* species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 358-361, 2012.

FERRI, M.G. 1980. **Vegetação brasileira**. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo.

FERREIRA, S. A. **Avaliação da toxicidade e das atividades analgésicas e antiinflamatória do extrato etanólicos de *Lychnophora pinaster* (ARNICA)**. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO. 2010.

FERREIRA, D. F. **SISVAR: A computer analysis to dixed effects split plot type designs**. 2019. **Rev Bras Biomet** 37: p 529-535.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice**. London: Chapman and Hall, 1994.

FORZZA, R.C.; BAUMGRASTZ, J.F.A.; BICUDO, C.E.M, et al. 2012. New Brazilian floristic list highlights conservation challenges. **Bio Science** 62: 39-45.

FURST, H.; RONNIE P.S.; FERNANDES, G. W.; GALUPPO, L. Z.; MACHADO, I. C.A.; VILLAR, P.; NEGREIROS D. 2017. Rebrotamento pós-fogo em arbusto ameaçado e microendêmico dos campos rupestres da Serra do Cipó, sudeste do Brasil. **Neotropic Bio and Conserv** 12: p.143-149.

FREITAS, M.S.M.; MONNERAT, P.H.; VIEIRA, I.J.C. (2008). Mineral deficiency in *Passiflora alata* Curtis: vitexin bioproduction. **Journal of Plant Nutrition**, v.31, n.10, p.1844-1854.

GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L.P.; WANDERLEY, M.G.L.; PIRANI, J.R. **Caracterização e endemismos nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço**. In: Cavalcanti, T.B.; Walter, B.M.T. (eds.). **Tópicos Atuais de Botânica**. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos. pp. 311-318. 2000.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova** 30: p. 374-381.

GOODLAND, R.; FERRI, M G; AMADO, E. 1979. **Ecologia do cerrado**. Livraria Itatiaia Editora. Belo Horizonte. 193p.

GRAEL, C.F.F.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, J.L.C. Chemical constituents of *Lychnophora pohlii* and trypanocidal activity of crude plant extracts and of isolated compounds. **Fitoterapia, Milano**, v. 76, p. 73-82, 2005.

GRATANI, L.; COVONE, F.; LARCHER, W. Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. **Trees**, Berlin, v.20, p.549-558, 2006.

GUZZO, L. S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A.; SILVA, A. C. A.; LOMBARDI, J. A.; GUIMARÃES, H. N.; GRABE-GUIMARÃES, A. Antinociceptive and antiinflammatory activities of ethanolic extracts of *Lychnophora* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 120–124, 2008.

HARLEY, R.M. 1995. Introduction. In Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Brazil. (B.L. Stannard ed.). **Royal Botanical Gardens**, Kew, p.1-78.

HARIDASAN, M. 2000. **Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado**. Revista Brasileira Fisiologia Vegetal 12: p.54-64.

HORBOWICZ, M.; KOWALCZYK, W.; GRZESIUK, A.; MITRUS, J. 2011. Uptake of aluminium and basic elements, and accumulation of anthocyanins in seedlings of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) as a result increased level of aluminium in nutrient solution. **Ecol Chem and Eng** 18: n. 4.

HUTCHINGS, M.J. 1997. The structure of plant populations. In Plant ecology (M.J. Crawley, ed.). **Blackwell Science**, Oxford, p.325-358

IBGE. **Mapa de Vegetação do Brasil**. Ministério do Planejamento e Orçamento, 1993.

IBGE. **Biomass e Sistema Costeiro-Marinho do Brasil**. 2019. Accessed from <https://www.ibge.gov.br/geociencias/cartas-e-mapas/informacoes-ambientais/15842-biomass.html?=&t=sobre>. Date of access 20 de june. 2020.

ISOBE, M. T. C. **Anatomia foliar e influência da sazonalidade no óleo essencial de populações de *Lychnophora pinaster* Mart.** 2012. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). **Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos**. Accessed from <http://bancodedados.cptec.inpe.br/>. Date of access 15 de august de 2017.

KELES, L. C.; MELO, N. I.; AGUIAR, G. de P.; WAKABAYASHI, K. A. L.; CARVALHO, C. E. de; CUNHA, W. R.; CROTTI, A. E. M. *Lychnophorinae*

(Asteraceae): a survey of its chemical constituents and biological activities. **Quimica Nova** 33: p.2245-2260. 2010.

LAPA, F.S. *Cordia curassavica* (JACQ.) ROEM. & SCHULT.: **Influência de fatores ambientais no crescimento e na produção de metabólitos**. (Dissertação Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, SC. 59 p., 2006.

LEBEDA, A.; DOLEZALOVÁ, I.; NOVOTNÁ, A. Wild and weedy *Lactuca* species, their distribution, ecogeography and ecobiology in USA and Canada. **Genetic Resource and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 59, n. 8, p. 1805-1822, Dec. 2012.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. 4. ed. São Paulo, Agronômica Ceres, 1979. 256p.

MALAVOLTA E; VITTI GC; OLIVEIRA SA. 1997. **Avaliação do estado nutricional das plantas—princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFOS. 210p

MARQUES, A. P. S. et al. 2020. Chemical diversity of essential oils from the Brazilian medicinal plant *Lychnophora pinaster* Mart from different environments. **Ind Crops and Prod.** 156:p.112856.

MARQUES NETO, Roberto. **As paisagens quartzíticas do planalto do alto rio grande: relações entre rocha-relevo-solo-vegetação na Serra de Carrancas (MG)**. CAMINHOS DE GEOGRAFIA - revista on line <<http://www.ig.ufu.br/revista/caminhos.html> >Uberlândia v. 13, n. 41 mar/2012 p. 263–281 Página 263.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. 2001. **Principles of plant nutrition**. 5th ed. Dordrecht: Kluwer Academic .849 p.

MUCINA, L. 2017. Vegetation of brazilian campos rupestres on siliceous substrates and their global analogues. **Flora**. 238: p.11-23.

MÜLLER, C. M. S.; COELHO, G. B.; ARAÚJO, M. C.P. M.; GUIMARAES, D. A. S. 2019. *Lychnophora pinaster* ethanolic extract and its chemical constituents ameliorate hyperuricemia and related inflammation. **Journal of Ethnopharm** 242: p. 112040.

MUKAKA, MM. et al. **A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research**. Malawi Med J. 2012 Sep; 24(3): 69–71.

OLIVEIRA, A. B.; SAÚDE D. A.; PERRY, K. S. P.; DUARTE, D. S.; RASLAN, D. S.; BOAVENTURA, M. A. D.; CHIARI, E. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. **Phytotherapy Research**, v. 10, n. 4, p. 292-295, 1996.

OLIVEIRA FILHO A.T. & FONTES, M.A.L. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotrop** 32:793-810.

OLIVEIRA JÚNIOR, A C; FAQUIN, V; PINTO, J E B P. 2006. Efeitos de calagem e adubação no crescimento e nutrição de arnica. **Hortic Bras** 24: p. 347-351.

OLIVEIRA RS, GALVAO HC, CAMPOS MCR, ELLER CB, PEARSE SJ, LAMBERS H. 2015. Mineral nutrition of Campos Rupestres plant species on contrasting nutrient-impooverished soil types. **New Phytol** 205: p. 1183–1194.

PARON, M. E. **Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em *Lychnophora ericoides* Mart (arnica da serra), efeitos da inoculação e estudos de propagação.** Jaboticabal: UNESP, 2002, 99p. (Tese doutorado em Microbiologia).

PEREIRA, M. C. A. **Estrutura das comunidades vegetais de afloramentos rochosos dos campos rupestres do Parque Nacional da Serra do Cipó, MG.** 1994. 163p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PINHEIRO, Paola Torres Silva Gandine. **Avaliação da atividade antiinflamatória de formulações de uso tópico contendo extratos de *Lychnophora pinaster* e *Symphytum officinale*.** 2010. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010.

PÉREZ-HARGUINDEGUY, N., D, S., GARNIER, E., LAVOREL, S. **Australian Journal of Botany** 61:167–234.

POUGY, N., VERDI, M. MARTINS, E., LOYOLA, R. MARTINELLI, G. 2015. **Plano de Ação para a Conservação da Flora Ameaçada de Extinção da serra do Espinhaço Meridional.** Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro – JBRJ & Centro Nacional de Conservação da Flora – CNCFlora. Rio de Janeiro. 101p.

KEDDY, P.A. **Wetland ecology principles and conservation.** 5.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 614p.

RAIJ, V. B. 2001. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** IAC.

RASBAND, W. S. **Image J: Image Processing and Analysis in Java.** 1997. Available from the U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Available in: <https://imagej.nih.gov/ij/>.

REATTO, A., CORREIA, J.R., SPERA, S.T. & MARTINS, S. 2008. **Solos do Bioma Cerrado: aspectos pedológicos.** In Cerrado: ecologia e flora (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Cerrados, Planaltina, p.108-149.

REIS, É.S.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; CORRÊA, R.M.; PAULA, J.R.; ANDRADE, S.T.; FERRI, P.H. 2010. Seasonal variation in essential oils of *Lychnophora pinaster* Mart. **Jour of Essent Oil Res** 22: p.147-149.

- RESENDE, J. M. V. 2013. **Óleo essencial de *Lychnophora pinaster* Mart.: caracterização química, atividade antibacteriana, antifúngica, antioxiante e hemolítica**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 116 p.
- RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. 2008. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. In Cerrado: **ecologia e flora** (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Cerrados, Planaltina. p.151-212.
- RIBEIRO, M. C.; FIGUEIRA, J. E. C. Uma abordagem histórica do fogo no Parque Nacional da Serra do Cipó, Minas Gerais – Brasil. **Revista Biodiversidade Brasileira** – Manejo do fogo em áreas protegidas, ICMBIO, n.2, 2011.
- RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil; aspectos sociológicos e florísticos**. São Paulo: HUCITEC/USP, 1979. 374p.
- RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio grande, Minas Gerais. **Ciênc Agrotéc** 25: p.102-23.
- SAADI, A. A Geomorfologia da Serra do Espinhaço em Minas Gerais e suas margens. **Geonomos, Revista de Geociências**, 1995. 3(1):41-63.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. 2018. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Embrapa Solos. Cap.19.
- SANTOS, M. D.; GOBBO-NETO, L.; ALBARELLA, L.; SOUZA, G. E. P.; LOPES, N. P. Analgesic activity of dicaffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da serra). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 545-549, 2005.
- SANTOS, R.D.; LEMOS, R.C.; SANTOS, H.G.; KER, J.C. & ANJOS, L.H.C. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. 5.ed. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. 92p.
- SAFFORD, H.D. Brazilian Páramos I: An introduction to the physical environment and vegetation of the campos de altitude. **Journal of Biogeography**, Amsterdam, V. 26, p. 693 - 712, 1999.
- SAÚDE, D. A.; BARRERO, A. F.; OLTRA, J. E.; RASLAN, D. F.; SILVA, E. A. Atividade antibacteriana de furanoelaniólidos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 7-10, 2002.
- SCHLICHTING, C. D. 1986. **The evolution of phenotypic plasticity in plants. Annual Review of Ecology and Systematics** 17: 667–693.
- SEMIR, J. 1991. **Revisão taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Compositae)**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. Tese de doutorado.

SEMIR, J.; MONGE, M.; REZENDE, A.M.; LOPES, N.P. 2011. **As arnicas endêmicas das serras do Brasil - uma visão sobre a biologia e a química das espécies de *Lychnophora* (Asteraceae)**, Ouro Preto: Ed UFOP. 212 p.

SEMIR, J. LOEUILLÉ, B. & MONGE, M. 2014. *Lychnophora granmogolensis* (Asteraceae, Vernonieae) species complex: two new species and comments on the identity of *L. granmogolensis*. **System Bot** 39: p. 988-996.

SEMIR, J. LOEUILLÉ, B. & MONGE, M 2020. ***Lychnophora*. in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Accessed from <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16171>. Date of access 11 jun. 2020.

SENGIK, E.S. **Os Macronutrientes e os Micronutrientes das Plantas**. 2003. Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/nutrientes-2003.pdf> . Acesso em: NOV. 2018.

SILVA S.M.P.DA. **Aspectos da fenologia e da reprodução sexuada da arnica (*Lychnophora pinaster* MART.) – Asteraceae**. 1994. 45 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, P. S. S. **Caracterização da composição química dos óleos essenciais de *Lychnophora pinaster* Mart. em função da sazonalidade**. 2013. 167 f. Dissertação de Mestrado (Agronomia: Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2013.

SILVA, P.S. S. **Caracterização da diversidade genética e composição química de *Lychnophora pinaster* MART**. Teses - Agronomia (Horticultura) - FCA, 2016.

SILVEIRA, D.; WAGNER, H.; CHIARI, E.; LOMBARDI, J. A.; ASSUNÇÃO, A. C.; OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S. Biological activity of the aqueous extract of *Lychnophora pinaster* Mart. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 294-297, 2005a.

SILVEIRA, D.; SOUZA FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S. Lychnophoric acid from *Lychnophora pinaster*: a complete and unequivocal assignment by NMR spectroscopy. **Eclética Química**, v. 30, n. 1, p. 37-41, 2005b.

SILVA, S.M.P. 1998. **Arnica de campos rupestres *Lychnophora pinaster* Mart. Asteraceae - aspectos da fenologia e da germinação de aquênios**. En: UNESP 2. Plantas medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica. São Paulo. p.1-18

SILVEIRA, D.; WAGNER, H.; CHIARI, E.; LOMBARDI, J. A.; ASSUNÇÃO, A. C.; OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S. 2005. Biological activity of the aqueous extract of *Lychnophora pinaster* Mart. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 15: p. 294-297.

SILVEIRA, F.A.O. et al. 2015. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. **Plant Soil** 403:129-152.

SOUZA, G. M.; LÜTTGE, U. 2015. **Stability as a Phenomenon Emergent from Plasticity–Complexity–Diversity in Eco-physiology**; in LÜTTGE, U.; BEYSCHLAG, W. (eds.), **Progress in Botany**, Progress in Botany 76, Springer Intern Publis Switz. p. 211-239.

SOUZA, A.V. **Propagação “in vitro” e aspectos anatômicos de arnica (*Lychnophora pinaster*) Mart. 2003**. 127p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SMITH, S.E. **Transport at the mycorrhizal interface**. **Mycorrhiza News**, v.5, n.1, p.1-4, 1993.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2 ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 631p.

TAIZ and Lincoln. 2017. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora.

TALEB-CONTINI SH, Santos WF, Mortari MR, Lopes NP, Lopes JLC 2008. Neuropharmacological effects in mice of *Lychnophora* species (Vernonieae, Asteraceae) and anticonvulsant activity of 4,5-di-O-[E]-caffeoylquinic acid isolated from the stem of *L. rupestris* and *L. staavioides*. **Basic Clin Pharmacol Toxicol** 102: 281.

TAKEARA R, Albuquerque S, Lopes NP, Lopes JLC 2003. Trypanocidal activity of *Lychnophora staavioides* Mart. (Vernonieae, Asteraceae). **Phytomedicine** 10: 490-493.

TRAPP, S. C.; CROTEAU, R. D.; 2001. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. **Genetics Society of America** 158: p. 811-832.

THIERS, B. 2020, continuously updated. **Index Herbarium**. Available at: <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>. Date of access 11 of June 2020.

VIANA, P.L. & LOMBARDI, J.A. 2007. Florística e caracterização dos campos rupestres sobre canga na serra da Calçada, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia** 58(1):159-177.

WIENS, J.J. GRAHAM, C.H., MOEN, D.S., SMITH, S.A. & REEDER, T.W. 2006. Evolutionary and Ecological Causes of the Latitudinal Diversity Gradient in Hylid Frogs: Treefrog Trees Unearth the Roots of High Tropical Diversity. **Americ Nat** 168: p.579-596.

XIA, J., SINELNIKOV, I., HAN, B. and WISHART DS. 2015. Metaboanalyst 3.0 – making metabolomics more meaningful. **Nucl Acids Res**:43. p. 251-257.