

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**FRANCIELE TORMES**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR DE CUMARINA E ANÁLISE  
FOLIAR DE PLANTAS DE GUACO (*Mikania glomerata* Sprengel)  
CULTIVADAS SOB DIFERENTES FONTES DE ADUBAÇÃO E  
LUMINOSIDADE**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**SANTA HELENA  
2019**

**FRANCIELE TORMES**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR DE CUMARINA E ANÁLISE  
FOLIAR DE PLANTAS DE GUACO (*Mikania glomerata* Sprengel)  
CULTIVADAS SOB DIFERENTES FONTES DE ADUBAÇÃO E  
LUMINOSIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Edicléia Aparecida Bonini e Silva

**SANTA HELENA  
2019**

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

FRANCIELE TORMES

### **PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR DE CUMARINA E ANÁLISE FOLIAR DE PLANTAS DE GUACO (*Mikania glomerata* Sprengel) CULTIVADAS SOB DIFERENTES FONTES DE ADUBAÇÃO E LUMINOSIDADE**

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 12 de novembro de 2019, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciado(a) em Ciências Biológicas, outorgado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A aluna Franciele Tormes foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

#### **BANCA EXAMINADORA:**

---

Profª. Dra. Ana Regina Dahlem Ziech  
UTFPR

---

Me. Liziane Kadine Antunes  
de Moraes Pires  
ITAIPU-Binacional

---

Profª. Dra. Edicléia Aparecida Bonini e Silva  
Orientadora - UTFPR

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

DEDICO

A Deus que sempre me deu forças para seguir;

A minha mãe que sempre me ajudou e me apoiou nessa trajetória;

Aos meus familiares e amigos que de alguma forma sempre me ajudaram.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me acompanhar em toda essa trajetória;

À minha família, por todo apoio, carinho e confiança;

Ao meu namorado por todo apoio e companheirismo durante todos esses anos;

À minha orientadora Profa. Dra. Edicléia Aparecida Bonini e Silva, pela orientação, paciência, disponibilidade e acompanhamento em toda caminhada acadêmica;

Ao meu colega de projeto Marco Aurélio Tonelotto, que sempre me auxiliou quando preciso;

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Santa Helena pelo apoio a pesquisa;

À ITAIPU Binacional, em especial a engenheira agrônoma Liziane Kadine Antunes de Moraes Pires pelo apoio na montagem da área experimental;

Aos professores que contribuíram de forma direta para que esse projeto fosse desenvolvido, Ana Regina Dahlem Ziech, Magnos Fernando Ziech, Rejane Barbosa de Oliveira, Jociani Ascari;

Aos meus colegas que auxiliaram no desenvolvimento desse experimento;

E por fim agradeço a todo corpo acadêmico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que de certa forma tem fundamental colaboração ao longo da minha formação.

## RESUMO

TORMES, Franciele. **Produção de biomassa, teor de cumarina e análise foliar de plantas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) cultivadas sob diferentes fontes de adubação e luminosidade**. 2019. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2019.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adubação e luminosidade na produção de biomassa, teor de cumarina e anatomia das folhas de *Mikania glomerata*, conhecida popularmente como guaco. As plantas foram cultivadas sob quatro fontes de adubação (testemunha, adubo químico, esterco bovino e cama de aviário), além das condições luminosas (pleno sol e sob sombrite 50%). As variáveis foram estabelecidas por matéria fresca das folhas (MFF), matéria fresca do caule (MFC), matéria seca das folhas (MSF) e matéria seca do caule (MSC). Na avaliação da MFF foi observado que as plantas cultivadas sob sombreamento tiveram maior acúmulo de biomassa do que aquelas cultivadas a pleno sol, independentemente da fonte e adubação utilizada. A análise da MSF indicou que plantas cultivadas em solo com adubo químico e sob sombreamento, apresentaram um melhor rendimento. Plantas cultivadas em solo com cama de aviário também tiveram um acréscimo no teor de MSF. A análise estatística dos dados de massa fresca e seca do caule não foi significativa. Para análise do teor de cumarina, aos 120 dias após o plantio (DAP) as folhas foram coletadas e levadas para extração e análise dos teores de cumarina. Após obtenção dos resultados, a dosagem de cumarina foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os dados foram submetidos à ANOVA e comparados com os testes adequados para cada variável estudada. Todas as plantas cultivadas sob alguma adubação apresentaram maior concentração de cumarina, em relação à testemunha. Quanto a luminosidade, as plantas cultivadas ao sol apresentaram um teor de cumarina menor do encontrado em plantas cultivadas sob sombrite 50%. Referente a anatomia e a contagem dos estômatos, os diferentes tratamentos aplicados não exerceram efeito sobre as variáveis analisadas, no entanto foi possível observar uma tendência para uma área foliar maior nas plantas que ficaram na sombra. Os resultados obtidos auxiliarão os produtores no manejo adequado do guaco, garantindo uma padronização da matéria prima e agregando valor à produção.

**Palavras chave:** Plantas medicinais. Guaco. Fitoterapia. Metabólitos secundários.

## ABSTRACT

TORMES, Franciele. **Biomass production, coumarin content and foliar analysis of Guaco plants (*Mikania glomerata* Sprengel) cultivated under different sources of fertilization and luminosity**. 2019. 33 F. Graduation Course (graduate Course in biological Sciences), coordination of the course in biological sciences, Federal Technological University of Paraná. Santa Helena, 2019.

The main objective of this work was to evaluate the effect of fertilization and luminosity on biomass production, coumarin content and anatomy of the leaves of *Mikania glomerata*, popularly known as guaco. The plants were cultivated under four sources of fertilizing (control, chemical fertilizer, cattle manure and poultry litter), in addition to the luminous conditions (full sun and under dark 50%). The variables were established by fresh matter of leaves (MFF), fresh stem matter (MFC), dry matter of leaves (MSF) and stem dry matter (MSC). In the evaluation of the MFF, it was observed that the plants cultivated under shading had higher biomass accumulation than those cultivated in full sunlight, independently of the source and fertilization used. The MSF analysis indicated that plants cultivated in soil with chemical fertilizer and under shading presented a better yield. Plants cultivated in soil with poultry litter also had an increase in the CONTENT of MSF. The statistical analysis of the data of fresh and dry mass of the stem was not significant. To analyze the content of coumarin, 120 days after planting (DAP) the leaves were collected and taken for extraction and analysis of the contents of coumarin. After obtaining the results, the dosage of coumarin was performed by high performance liquid chromatography (HPLC). The data were submitted to ANOVA and compared with the appropriate tests for each variable studied. All plants cultivated under some fertilization had a higher concentration of coumarin in relation to the control. As for the luminosity, the plants cultivated in the sun had a lower coumarin content than that found in plants cultivated under dark 50%. Regarding the anatomy and the stomata count, the different treatments applied did not exert effect on the analyzed variables, however it was possible to observe a tendency towards a larger leaf area in the plants that remained in the shade. The results obtained will assist the producers in the proper management of the guaco, guaranteeing a standardization of the raw material and adding value to the production.

**Keywords:** Medicinal plants. Guaco. Phytotherapy. Secondary metabolites.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Massa fresca (MF) e Massa seca (MS).....	23
Figura 2 - A. Área foliar. B. Comprimento do pecíolo.....	24
Figura 3 - A. Estômatos. B. Tricomas.....	24
Figura 4 - A. Quantidade de estômatos. B. Quantidade de tricomas.....	25
Figura 5 - Perfil cromatográfico.....	26
Figura 6 - Comparação dos teores de cumarina.....	28



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Análise físico-química dos adubos orgânicos.....	18
Tabela 2- Análise físico-química do solo.....	18
Tabela 3 - Massa fresca (MFF) (A) e Massa seca (MSF) (B).....	21
Tabela 4 - Teor de cumarina.....	26

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS**

AFE - Área foliar específica  
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  
DAP - Dias após plantio  
DBC - Delineamento de blocos casualizados  
CPQBA - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas  
MFC - Matéria fresca do caule  
MFF - Matéria fresca das folhas  
MSC - Matéria seca do caule  
MSF - Matéria seca das folhas  
NPK – Nitrogênio, fósforo, potássio  
RBSH - Refúgio Biológico de Santa Helena  
UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1	Objetivo geral.....	12
2.2	Objetivos específicos.....	12
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>13</b>
3.1	Descrição botânica e uso medicinal.....	13
3.2	Anatomia da planta.....	14
3.3	Cultivo do guaco .....	15
3.4	Princípio ativo (cumarina) .....	16
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>17</b>
4.1	Instalação do campo experimental .....	18
4.2	Adubação e sombreamento.....	18
4.3	Coleta e pesagens.....	19
4.4	Constituição química.....	19
4.5	Análises Morfológicas das folhas.....	20
<b>5</b>	<b>RESULTADOS DISCUSSÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>29</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>30</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são estudadas ao longo de séculos desde os primórdios da civilização devido ao poder curativo ou preventivo que muitas delas exercem na saúde humana. Esses estudos têm como principal objetivo investigar a ação de compostos químicos e seus princípios ativos. Essas diversas espécies de plantas tiveram uma das bases mais importantes para o surgimento da medicina, e os estudos referentes a isso podem auxiliar na caracterização das substâncias que dão origem aos princípios ativos que essas plantas possuem (CZELUSNIAK et al., 2012; SOUZA. et al., 2006).

Plantas do gênero *Mikania* são umas das mais utilizadas para fins terapêuticos e medicinais. Conhecida popularmente por guaco, sua utilização é amplamente difundida por conter substâncias com propriedades antiasmáticas, anti-inflamatórias (GASPARETTO et al; 2010), sendo oficializada na Farmacopeia Brasileira desde a 1ª edição.

No guaco, a substância majoritária é a cumarina, utilizada no controle de qualidade na produção de extratos, sendo definida como marcador químico em extratos alcoólicos da planta. As cumarinas estão entre as substâncias produzidas pelo metabolismo secundário vegetal. Pertencem à classe das lactonas e são consideradas o princípio ativo responsável no tratamento de enfermidades do trato respiratório, com efeito broncodilatador comprovado (CZELUSNIAK et al., 2012). Além da cumarina, a espécie apresenta uma diversidade de compostos químicos que também contribuem para sua atividade como medicamento.

Segundo Gobbo Neto e Lopes (2007), os fatores que mais influenciam na composição química final de um vegetal são nutrientes, disponibilidade hídrica, qualidade do solo, intensidade luminosa, pragas e doenças, presença de outras plantas, técnicas de cultivo e as características genéticas da população cultivada. A qualidade do produto é fortemente influenciada pelas técnicas de cultivo adotadas e pelas características genéticas da população cultivada. O manejo adequado garante a otimização do produto final, o que possibilita um medicamento derivado de plantas seja economicamente viável, sem que haja aumento nos custos de sua produção (FURLAN e GARCIA, 2013).

De acordo com Santos et al (2012) houve um aumento na procura de insumos oriundos de plantas medicinais, a maioria desses insumos provêm do extrativismo, o que pode acarretar um grande impacto ambiental e até mesmo extinção de espécies. A ampliação do cultivo dessas espécies representa uma alternativa na geração de economia para pequenos produtores, em especial, a adoção de técnicas alternativas de cultivo como a adubação orgânica, que além de ter baixo custo e ser de fácil acesso, auxilia a produção de metabólitos secundários produzidos pelas plantas.

Existem várias pesquisas que indicam o guaco como uma das plantas medicinais mais utilizadas pela população, porém os dados sobre seu fluxo de produção ainda são escassos e de pouco conhecimento para a produção em escala comercial, dificultando o aceite de agricultores nesse tipo de cultivo devido a carência de um material específico sobre qual a melhor forma de manejo e propagação da espécie.

Devido à falta de informação sobre o manejo adequado da espécie *Mikania spp*, buscou-se por meio deste trabalho estudar diferentes práticas de manejo para então aperfeiçoar o sistema de produção do guaco, com vistas à sustentabilidade da cadeia produtiva e adaptação á condições ambientais e tecnológicas dos principais núcleos de cultivo de plantas medicinais no Oeste do Paraná, para que o produto final possua qualidade para ser utilizado como matéria prima pelas indústrias de medicamentos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Estudar o desenvolvimento do Guaco (*Mikania glomerata Spreng.*) sob diferentes fontes de adubação e luminosidade, a fim de auxiliar no aperfeiçoamento do sistema de produção, com vistas à sustentabilidade da cadeia produtiva e adaptação às condições ambientais da região Oeste do Paraná.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar o desenvolvimento na produção de biomassa de plantas de guaco sob diferentes fontes de adubação e luminosidade;

Realizar estudo anatômico do mesofilo foliar;

Determinar o teor de cumarina presente nas folhas de plantas de *Mikania glomerata*;

Estabelecer uma recomendação de manejo do guaco quanto às condições de adubação e luminosidade.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Descrição botânica e uso medicinal

Guaco é uma planta da biodiversidade brasileira, pertencente à família Asteraceae, muito utilizada na medicina popular e é oficializada como planta medicinal desde 1929, na 1ª edição da Farmacopeia Brasileira, por ter potencial expectorante e broncodilatador o guaco é indicado para tratamento de doenças que acometem o trato respiratório, como asma, gripes e tosses (GASPARETTO et al., 2010).

O gênero *Mikania* possui aproximadamente 450 espécies. Existem duas espécies que são as mais conhecidas e utilizadas para fins terapêuticos, *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker. Estas espécies apresentam características muito semelhantes (OLIVEIRA et al., 1985), e compartilham o mesmo habitat, o que dificulta a distinção tanto no uso popular, como na produção de matéria prima para a produção de medicamentos. Por possuírem tantas semelhanças, muitas vezes são confundidas e até mesmo citadas de forma incorreta na literatura.

O cultivo e utilização do guaco como planta medicinal ocorre em todo território brasileiro, o guaco é uma planta nativa e pode ser encontrada em matas primárias e terrenos de aluvião (CZELUSNIAK et al, 2012).

As plantas medicinais que tem comprovada a sua eficiência terapêutica e toxicologia, dentre outros aspectos, estão aprovadas para serem utilizadas pela população em suas necessidades básicas de saúde, em função da facilidade de acesso, do baixo custo e da compatibilidade cultural (LORENZI e MATOS, 2002). Existem muitos estímulos através do SUS para que seja ampliada a utilização de plantas medicinais, além da recomendação do uso o SUS busca incentivar a exploração e a produção sustentada de plantas.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão que faz a regulamentação dos registros de fitoterápicos. As diretrizes para regulamentação surgiram para que estejam no mercado de fitoterápicos apenas produtos de qualidade

comprovada. Para tanto, vários aspectos fundamentais são verificados, como comprovação de atividades farmacológicas, avaliação da toxicidade das substâncias contidas na planta e concentração de princípios ativos produzidos, hoje em dia já existem cerca de 400 fitoterápicos registrados pela ANVISA, alguns são provenientes de plantas nativas, como por exemplo a espécie *Mikania glomerata* (ANVISA, 2008).

### 3.2 Anatomia da planta

De acordo com Castro et al, (2003) O fotoperíodo tem grande influência sobre a produção de biomassa de *Mikania glomerata*, em um estudo realizado por ele que avaliava o crescimento e anatomia foliar de plantas jovens de guaco, o fotoperíodo influenciou de forma positiva o crescimento, anatomia, número de folhas e produção de biomassa da planta, nesse estudo foi possível observar que em relação à razão da área folia (RAF), razão do peso das folhas (RPF) e área foliar específica (AFE), tiveram mais resultado sob fotoperíodos curtos. Já a menor área foliar específica (AFE) pode ser observada sob fotoperíodos mais longos um aumento da espessura foliar.

Espindola Junior et al. (2009) realizou um estudo referente a variação da anatomia foliar de *Mikania glomerata* sob diferentes condições de luminosidade, nesse estudo foi possível observar que houve uma maior densidade de estômatos e tricomas na face abaxial da lâmina foliar em tratamentos a pleno sol, já a espessura do colênquima foram maiores no tratamento com sombreamento.

Nos estudos de Souza et al. (2011) foi considerado que o teor de pigmentos fotossintéticos e número de cloroplastos em *Mikania laevigata*, cultivada a pleno sol apresenta um mecanismo de foto-inibição, que é um dano causado pelo excesso de luz.

Gama et al. (2017) realizou estudo com cafeeiros, nesse estudo foi possível observar que quando foi aumentada a adubação com NPK, houve então um aumento no número de estômatos na planta, a adubação possui nutrientes específicos que estão relacionados ao desenvolvimento da planta. A adubação com NPK então provocou uma mudança na anatomia foliar dos cafeeiros, sem afetar as suas trocas gasosas e sua produtividade.

### 3.3 Cultivo de guaco

As plantas do gênero *Mikania* são trepadeiras cultivadas convencionalmente em sistema tutorado por espaldeiras (LIMA et al., 2003).

Os fatores bióticos e abióticos podem interferir no desenvolvimento e na qualidade dos metabólitos produzidos nas plantas. A luminosidade é um exemplo de fator abiótico que tem grande influência no desenvolvimento das plantas interfere tanto no crescimento da planta através da fotossíntese, quanto na diferenciação durante a morfogênese (FURLAN e GARCIA, 2013).

Souza et al. (2011) realizou um trabalho de cultivo de guaco com malhas coloridas, nesse estudo foi possível observar que o guaco possui maior adaptação sob sombreamento, principalmente em plantas cultivadas com malha azul, e plantas cultivadas a pleno sol não tiveram uma boa produtividade.

Por muitos anos os fertilizantes orgânicos foram os mais empregados na agricultura e cultivo orgânico, por serem adubos decorrentes de origem animal ou vegetal, são chamados de adubos naturais (RAIJ, 2011). Por ser uma adubação natural, ela é considerada de fácil acesso o que reduz os gastos com adubação química, também é uma forma correta da destinação dos resíduos de excrementos animais, transformando-os em adubos orgânicos ricos em nutrientes para o solo e plantas cultivada, trazendo mais qualidade na produção das diversas culturas em que eles são empregados (LIMA, et al. 2015).

Nas plantas medicinais, que é recomendável o cultivo orgânico, a adubação orgânica tem um importante papel de fornecer nutrientes para as plantas, pois ela auxilia na estrutura física do solo, aumentando assim a retenção de água, diminui a perda por meio de erosões e favorece no controle de pragas e doenças (COSTA et al., 2008). O cultivo e adubação orgânica disponibilizam diversos nutrientes para o vegetal, beneficiam além da estrutura física, a estrutura química e biológica do solo (NORONHA, 2000). O cultivo e nutrição das plantas merece uma grande atenção, pois a falta ou excesso de nutrientes pode interferir na produção de biomassa e na quantidade de princípios ativos (MAPELI et al., 2005).

As plantas do gênero *Mikania* são trepadeiras cultivadas convencionalmente em sistema tutorado por espaldeiras (LIMA et al., 2003). Seu cultivo exige um bom sistema de condução, para que os resultados de produção sejam bons (TOFANELLI,



2011). O tutoramento adequado irá limitar o contato das plantas com o solo, sendo assim a ventilação será maior e conseqüentemente terá uma melhor distribuição de radiação ao longo do cultivo, tudo isso faz com que haja melhorias nas condições fisiológicas e fitossanitárias das mesmas (WANSER et al., 2009). De acordo com estudos realizados por Santos et al. (2012) o tutoramento das plantas é muito importante para a produção em larga escala de espécies de *Mikania*, tendo uma redução de 82% na produção de matéria vegetal em plantas sem tutoramento.

### 3.4 Constituição química

Os metabolitos secundários, são substâncias que representam uma interface química entre as plantas e o ambiente que elas vivem, essa interação com o ambiente, pode ocasionar modificações nas concentrações e quantidade desses metabólitos, até a época do ano interfere na produção dos metabólitos pois eles não são constantes o ano todo (GOBBO NETO; LOPES 2007).

No guaco, a substância majoritária é a cumarina, utilizada no controle de qualidade na produção de extratos, sendo definida como marcador químico em extratos alcoólicos da planta. As cumarinas estão entre as substâncias produzidas pelo metabolismo secundário vegetal. Pertencem à classe das lactonas do ácido o-hidroxi-cinâmico, sendo a cumarina o representante mais simples (1,2-benzopirona). São consideradas o princípio ativo responsável no tratamento de enfermidades do trato respiratório, com efeito broncodilatador comprovado (CZELUSNIAK et al., 2012). Além da cumarina, a espécie apresenta uma diversidade de compostos químicos que também contribuem para sua atividade como medicamento como os diterpenos (SANTOS, 2005).

As cumarinas são princípios ativos voláteis, encontrados em diferentes espécies de vegetais como guaco, emburana, cumuaru, canela, morango, cereja damasco, dentre outros. A cumarina possui um odor muito forte e característico de baunilha, além de ser utilizado na indústria farmacêutica ela também é utilizada como aromatizante de alimentos e produtos de limpeza (RODRIGUES, 2005).

As condições da produção com a utilização de técnicas apropriadas diminuem os fatores de risco no uso das plantas e dos fitoterápicos. Podem ocorrer reações adversas caso a planta seja identificada ou armazenada incorretamente, sendo assim

pode haver uma adulteração no princípio ativo da planta por meio de agentes químicos ou biológicos, causando riscos para quem consumi-los (SILVEIRA et al., 2008).

Silva et al. (2014) realizaram um trabalho que investiga o aumento no teor de cumarina nas folhas de guaco, submetidas a processos utilizados tradicionalmente para a secagem e conservação. As análises indicaram que além da adubação e luminosidade o processo de secagem e armazenamento também se torna importante no controle de qualidade do produto final, o estudo mostrou que plantas secas com etanol e em atmosfera acelerada tiveram maior índice de cumarina e menos degradação, já em plantas que as folhas são armazenadas, houve grande degradação da cumarina, sendo ainda mais evidentes em amostras secas sem etanol e atmosfera acelerada.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Instalação do campo experimental**

O presente experimento foi realizado no viveiro municipal de mudas florestais e medicinais, que está localizado no Refúgio Biológico de Santa Helena (RBSH) na região Oeste do Paraná e nas Coordenadas: 25° 26' 57" S 54° 33' 18" O. O material vegetal foi cedido pela CPQBA - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da UNICAMP em parceria com o horto de plantas medicinais da ITAIPU-Foz do Iguaçu.

As mudas foram produzidas a partir de estacas retiradas de uma única matriz a fim de preservar a identidade genética da espécie *Mikania glomerata* Sprengel. Para o plantio, foram abertas covas de 30 cm, com espaçamento de 50cm entre plantas apoiadas em espaldeiras com 3 fios, e de 2m entre linhas. Cada planta foi tutorada com estacas de bambu e a manutenção da umidade do solo ocorreu através irrigação diária de 10min pela manhã e nos dias mais quentes 10min a tarde por gotejamento. O delineamento experimental adotado foi em blocos inteiramente casualizados (DBC), no esquema fatorial, com 4 fontes de adubação e 2 condições de luminosidade sendo elas, testemunha pleno sol e 50% sombreamento, adubo bovino pleno sol e 50% sombreamento, cama de aviário pleno sol e 50% sombreamento e adubação química (NPK) pleno sol e 50% sombreamento.

## 4.2 Adubação e Sombreamento

A análise do solo foi realizada no início da instalação da área experimental, e partir dos resultados encontrados, realizou-se a padronização adequada da adubação a ser utilizada no experimento, foi realizada análise química dos adubos orgânicos (Tabela 01) e análise química do solo (Tabela 02).

Tabela 1: Análise química dos adubos orgânicos

Amostras	N (%)	P (%)	K (%)	pH
Cama de aviário	3,02	1,66	3,89	7,10
Esterco bovino	1,68	0,73	2,59	7,50

Fonte: Autoria própria (2018)

Tabela 2: Análise química do solo

Amostras	MO (gdm <sup>-3</sup> )	P(mgdm <sup>-3</sup> )	K(cmolcdm <sup>-3</sup> )	pH (CaCl <sub>2</sub> )	CTC
Solo	28,58	31,93	0,75	5,74	12,5

Fonte: Autoria própria (2018)

A espécie estudada foi submetida a uma combinação de quatro condições nutricionais e duas condições luminosas. As quatro condições nutricionais foram: testemunha (sem adubação); adubo químico; esterco bovino e cama de aviário. Os tratamentos de condições luminosas ocorreram a partir do bloqueio da radiação solar: pleno sol e cultivo sob tela de sombrite 50% de sombreamento. Após análise do solo e dos adubos orgânicos, calculou-se a quantidade de cada fonte de adubação, utilizando para padronização do fósforo P, seguindo a recomendação de Teixeira (2017) de 238 Kg ha<sup>-1</sup>. Desse modo, os tratamentos aplicados foram: testemunha (sem adubação); adubo químico 1:6:8 (2,38 Kg m<sup>2</sup>); cama de frango (1,45 Kg m<sup>2</sup>); esterco bovino (3,26 Kg m<sup>2</sup>). O experimento foi conduzido nos meses de Abril á Dezembro de 2018.

## 4.3 Coleta e Pesagem

Aos 8 meses após o plantio foi realizado o corte das plantas para avaliação da parte aérea. O material coletado foi pesado para a determinação das variáveis: matéria fresca das folhas (MFF) e matéria fresca do caule (MFC). Na determinação de matéria seca das folhas (MSF), de matéria seca do caule (MSC), a matéria-prima vegetal foi submetida à secagem, em estufa de circulação forçada a 50°C, até a

obtenção de massa constante. Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

#### 4.4 Teor de Cumarina

Para a determinação dos teores de cumarina (mg/g), quatro folhas dos segmentos apical, mediano e basal foram coletadas e após a retirada do pecíolo foram secas em estufa de circulação de ar, à temperatura de 60°C por 48 horas e armazenadas em freezer até o momento das análises químicas. A cumarina das folhas de guaco (1g) foi extraída com 10 ml de etanol: água (1:1) através de sonificação durante 30 minutos (CELEGHINI et al., 2001).

O teor de cumarina foi analisado em um único período com a mesma curva padrão para todos os tratamentos. As amostras foram feitas em duplicatas, com quatro repetições para cada tratamento. A dosagem de cumarina foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando como solvente fase móvel A: água ultrapura e fase móvel B: Acetonitrila.

#### 4.5 Análises Morfológicas das folhas

Foram realizadas análises morfológicas das folhas de guaco submetidas aos diferentes tratamentos, as folhas foram analisadas quanto à área foliar e quanto ao comprimento do pecíolo. Para a análise da área foliar, as folhas coletadas no terceiro nó abaixo da gema apical foram digitalizadas e os cálculos da área foliar e do comprimento do pecíolo foram realizados utilizando o software de análise de imagem ImageJ 1.52a. Os resultados foram expressos como Média  $\pm$  E.P.M e a diferença estatística entre as amostras dos diferentes tratamentos foi analisada por ANOVA two-way, seguida pelo teste de Bartlett, utilizando o software GraphPad Prism 5.0.

Outra variável analisada foi a quantificação de estômatos e tricomas foliares. Para a quantificação dos estômatos e dos tricomas foliares das folhas retiradas dos indivíduos submetidos aos diferentes tratamentos, foi utilizada a técnica de impressão em esmalte. A face abaxial das folhas foi pincelada com esmalte no terço médio inferior. Após duas horas, a película de esmalte foi retirada com o auxílio de uma pinça e colocada entre lâmina e lamínula para análise. As lâminas foram fotografadas com a objetiva de 10x e os estômatos e tricomas foram contados manualmente a partir das imagens impressas. Os resultados foram expressos como Média  $\pm$  E.P.M e a diferença

estatística entre as amostras dos diferentes tratamentos foi analisada por ANOVA two-way, seguida pelo teste de Bartlett, utilizando o software GraphPad Prism 5.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A biomassa vegetal é resultado da incorporação de carbono através da fotossíntese que é o único processo de importância biológica que pode armazenar energia. Dessa forma, grande parte dos recursos energéticos do planeta resulta da atividade fotossintética (TAIZ; ZEIGER 2017).

Na avaliação da matéria fresca da folha (MFF) foi possível observar, com exceção do tratamento com esterco bovino, que as plantas cultivadas sob sombrite tiveram um maior acúmulo de biomassa do que aquelas cultivadas a pleno sol, independentemente da fonte e adubação utilizada (Tabela 3). No cultivo a pleno sol as plantas que receberam adubo químico, cama de aviário e testemunha tiveram o menor acúmulo de massa fresca e as que foram adubadas com esterco bovino tiveram o melhor número nessa variável. Dentre as plantas cultivadas sob tela de sombrite 50%, houve uma inversão desse percentual. Os resultados indicaram que o esterco bovino e testemunha proporcionaram o menor índice de massa fresca nas folhas, enquanto o melhor acúmulo foi verificado nas folhas de plantas cultivadas em solo com adubação química e cama de aviário. O teor de matéria fresca é bastante variável a partir da colheita da planta, dependendo principalmente das condições de umidade relativa do ar, desde o local de amostragem até o local de pesagem, além do tempo gasto entre a coleta e pesagem.

Nos estudos de Teixeira (2017) constatou-se o melhor adubo orgânico para obtenção de nutrientes nas folhas de *Mikania glomerata* é a cama de aviário.

Tabela 3 – Médias da interação entre fontes de adubação e condições de luminosidade para massa fresca (MFF) (A) e Massa seca (MSF) (B) de folhas de plantas de *Mikania glomerata*.

### A

	Massa fresca das folhas (MFF) (Kg - m <sup>2</sup> )	
Fontes de adubação	Pleno sol	Sombrite 50%
Testemunha	4,451 b B	5,785 b A
Químico	3,195 b B	7,526 a A
Esterco bovino	6,662 a A	5,699 b B
Cama aviário	4,568 b B	6,844 a A

**B**

Massa seca das folhas (MSF) (Kg - m <sup>2</sup> )		
Fontes de adubação	Pleno sol	Sombrite 50%
Testemunha	0,425 b B	0,623 b A
Químico	0,370 b B	0,839 a A
Esterco bovino	0,602 a B	0,732 a A
Cama aviário	0,465 b B	0,756 a A

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, e pela mesma letra maiúscula, na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Autoria própria (2018)

Nos estudos de Teixeira (2017) constatou-se que a melhor fonte de adubação orgânica para obtenção de nutrientes nas folhas de *Mikania glomerata* é a cama de aviário.

A análise da matéria seca das folhas (MSF) de guaco (Tabela 3) indicou que plantas cultivadas em solo com adubo químico e sob sombreamento, apresentaram um melhor rendimento, com um acúmulo 127% maior do que plantas que também receberam adubo químico, mas foram cultivadas a pleno sol. Plantas cultivadas em solo com cama de aviário sob sombreamento também tiveram acréscimo na sua produtividade de aproximadamente 62,6% maior do que plantas que receberam a mesma adubação, mas foram cultivadas a pleno sol.

O rendimento entre biomassa fresca e seca das folhas de guaco sob diferentes fontes de adubação e sombreamento foi de testemunha 10,77%, químico 11,14%, esterco bovino 12,84% e cama de aviário 11,04%.

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com os de Lima Júnior (2005), que ao analisar o crescimento de *Cupania vernalis* Camb. sob diferentes níveis de sombreamento, relatou que o crescimento da parte aérea foi reduzido nas plantas cultivadas a pleno sol, em relação àquelas sob 30% e 50% de sombreamento.

Ao estudar o desenvolvimento de plantas de guaco Souza (2006) verificou que a massa seca da folha e do caule de *M. glomerata* foi incrementada em plantas cultivadas sob malha azul, sendo menor no tratamento sem o uso de malha, ou seja, a pleno sol.

A análise estatística dos dados de massa fresca e seca do caule não foi significativa. A figura 1 traz as médias encontradas em cada tratamento. É possível observar que as plantas sombreadas acumularam maiores quantidades de massa fresca em seus caules, em quase todos os tratamentos de adubação. Inclusive na testemunha, sem aplicação de nenhum adubo. Essa tendência não foi verificada nos resultados de massa seca do caule. A análise estatística dos dados de MFC e MSC não foi significativa.

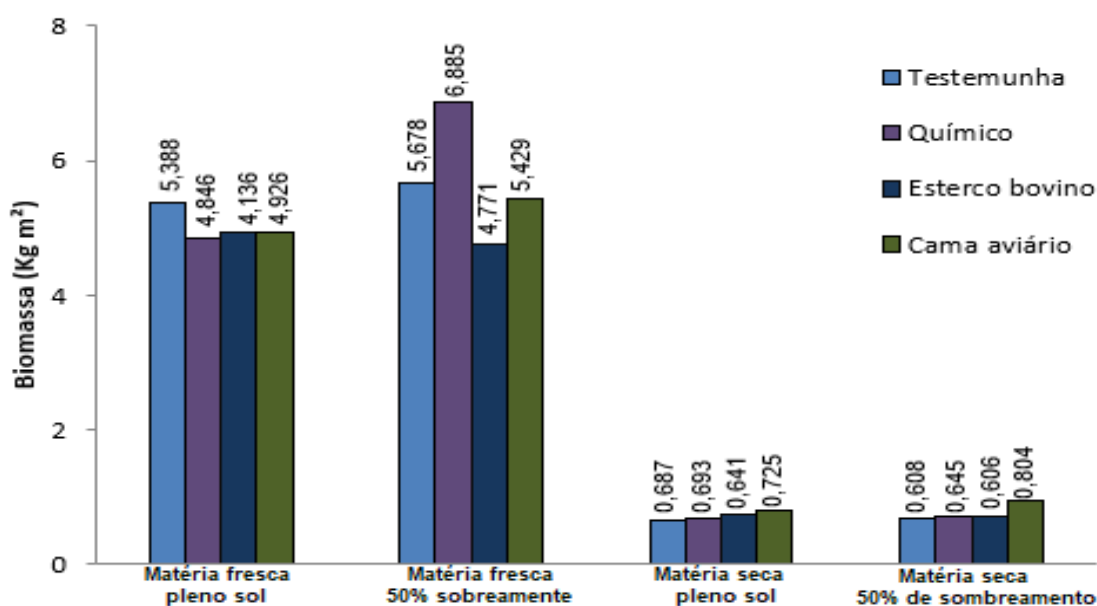


Figura 1 - Massa fresca (MF) e Massa seca (MS) de caules de plantas de *Mikania glomerata* Sprengel, sob diferentes fontes de luminosidade com 120 dias de idade. Fonte: Autoria própria (2018).

Souza (2006) constatou que plantas cultivadas a pleno sol, apresentaram menor produção de biomassa seca, provavelmente, em consequência de uma redução no processo fotossintético e, provavelmente, pela qualidade de luz, visto que foi verificada diferença entre as plantas cultivadas em condições de pleno sol e as cultivadas sob sombrite.

Thompson et al. (1992) sugeriram que plantas cultivadas sob baixa luminosidade reflete uma resposta a atributos que melhoram o ganho de carbono sobre irradiância reduzida, como aumento na área foliar, ou que reflita uma estratégia fotomorfogenética buscando luminosidade, através do aumento da altura das plantas por exemplo, e consequentemente de sua biomassa.

Referente a morfologia das folhas de guaco submetidas as diferentes fontes de adubação, não foram observadas diferenças estatísticas na área foliar das mesmas. Contudo, é possível observar uma tendência para uma área foliar maior nas plantas que ficaram na sombra (Figura 2).

Não foram observadas diferenças estatísticas no comprimento dos pecíolos das plantas submetidas aos diferentes tipos de tratamentos (Figura 2).

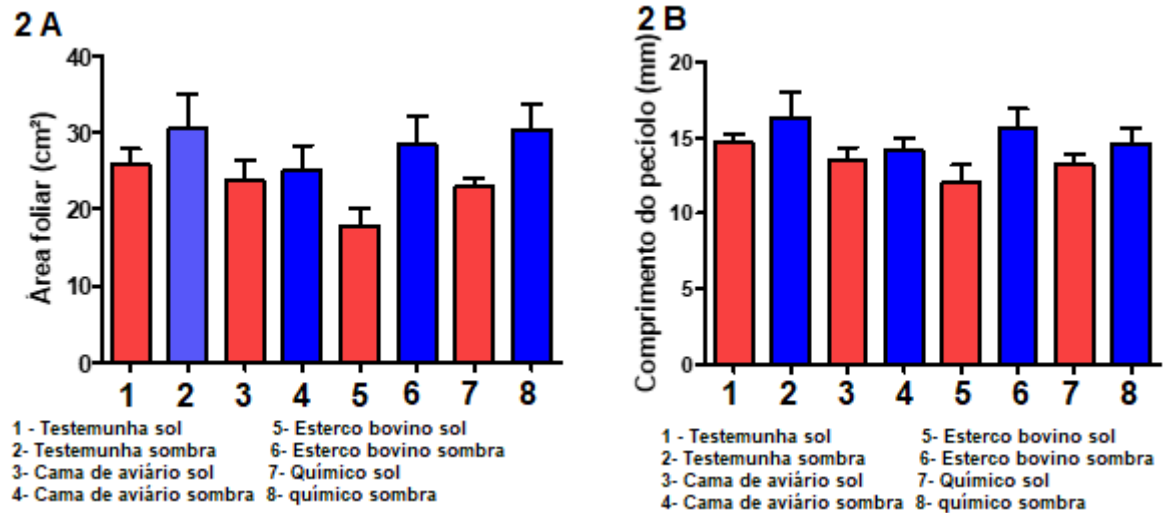


Figura 2. Análises morfológicas das folhas de guaco retiradas de indivíduos submetidos aos diferentes tratamentos. A. Área foliar. B. Comprimento do pecíolo. Os resultados expressos como Média  $\pm$  E.P.M. ANOVA, seguida pelo teste de Bartlett. \*P < 0,05.

Fonte: autoria própria 2018.

Já na análise de quantificação de estômatos e tricomas foliares, os estômatos observados foram do tipo anomocítico (Figura 3). Tricomas glandulares unisseriados e multisseriados foram observados em depressões epidérmicas. (Figura 3).

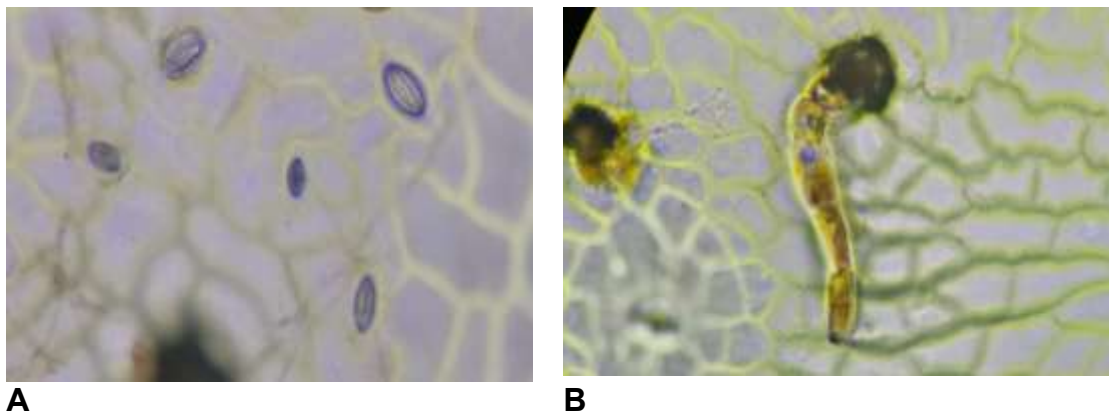


Figura 03. Estômatos e tricomas observados por impressão de esmalte nas folhas do guaco cultivados sob diferentes fontes de adubação e luminosidade. A. Estômatos. B. Tricomas. 400x.

Fonte: Autoria própria 2019.



Não foram observadas diferenças estatísticas significativas na contagem de estômatos e tricomas nas folhas dos indivíduos submetidos aos diferentes tipos de tratamento (Figura 4).

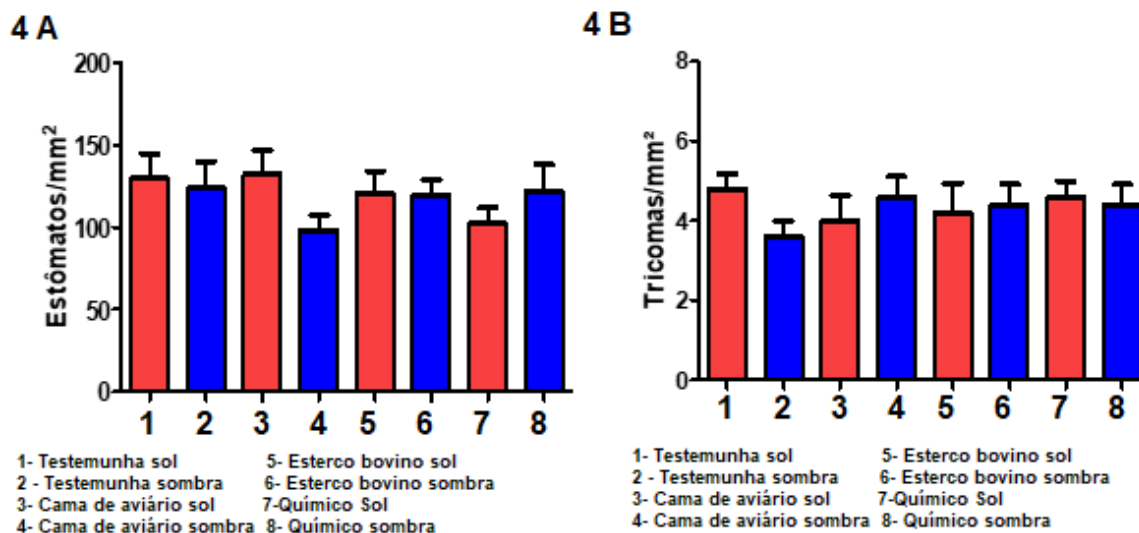


Figura 4. Quantificação de estômatos e tricomas nas folhas coletadas dos indivíduos submetidos aos diferentes tratamentos. A. Quantidade de estômatos por mm<sup>2</sup>. B. Quantidade de tricomas por mm<sup>2</sup>.  
 Fonte: Autoria própria 2019

Em um estudo realizado por Souza (2006) com malhas coloridas, observou-se que plantas cultivadas sobre malha azul, apresentaram uma densidade estomática maior quando comparadas aos demais tratamentos, isso indica que os espectros de onda na faixa azul podem estimular a produção estomática na face abaxial das folhas em plantas de guaco, e as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram valores inferiores das demais.

Já em estudos realizados por Espindola Junior et al. (2009) referente a anatomia do guaco, revelam que houve maior densidade de estômatos e tricomas na face abaxial da lâmina foliar em tratamentos a pleno sol, já a espessura do colênquima foram maiores no tratamento com sombreamento.

Em estudo com cafeeiros realizados por Gama et al. (2017) é possível identificar que quando houve um aumento na adubação com NPK, o número estômatos da planta aumentou, isso pode estar relacionado aos nutrientes fornecidos que são importantes para o desenvolvimento da planta, mesmo com essa mudança na anatomia da planta devido a adubação não houve prejuízo na sua produtividade.

O perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico de guaco foi semelhante para todas as amostras analisadas identificando a cumarina no tempo de retenção ( $t_r$ ) próximo a 3,84 minutos. A ausência de picos interferentes demonstrou a eficácia do método sendo a segurança dos resultados garantida através da linearidade da curva de calibração ( $r^2 = 0,9941$ ).

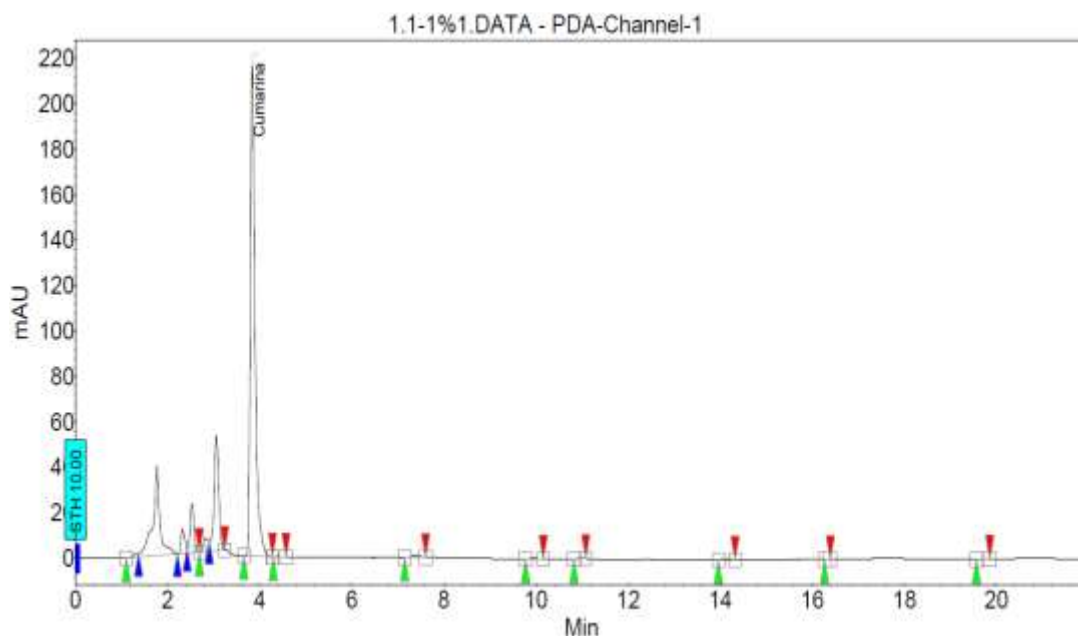


Figura 5. Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico de guaco empregando água: acetonitrila. O teor da cumarina foi identificado no min. 3,84. Fonte: Autoria própria (2018).

Os resultados referentes ao efeito das diferentes fontes de adubação sobre a concentração de cumarina estão apresentados na (Tabela 4).

Tabela 04. Teor de cumarina contido em 1,0 g de folhas secas de *M. glomerata* cultivadas sob diferentes fontes de adubação.

Fonte de adubação	Cumarina (mg/g)
Cama de aviário	4,489 a
Químico	3,504 b
Esterco Bovino	3,904 b
Testemunha	2,992 c

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autoria própria (2019).

A maior concentração de cumarina ( $4,489 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtida em plantas adubadas com cama de aviário, seguida por aquelas que receberam esterco bovino e químico como fonte de adubação  $3,904 \text{ mg g}^{-1}$  e  $3,504 \text{ mg g}^{-1}$  respectivamente. O teor de cumarina encontrado em plantas cultivadas sob adubação química também diferiu do controle, no entanto, teve uma redução de aproximadamente 22% em comparação

a adubação por cama de aviário e 11% menor do que a concentração encontrada nas plantas cultivadas em esterco bovino. Sabe-se que a matéria orgânica é uma importante fonte de nutrientes, principalmente nitrogênio, fósforo, enxofre e micronutrientes além de corretivo de elementos tóxicos, através da formação de complexo metal-húmus (OLIVEIRA FILHO et al., 1987) que favorecem o desenvolvimento e fisiologia das plantas.

As condições do processo de produção (cultivo, secagem, armazenamento, extração dos princípios ativos etc.) está relacionado com o teor de cumarina nas plantas. A síntese de cumarinas pode ser causada por estresse, por deficiência de nutrientes, por mensageiros químicos, como os hormônios vegetais (SANTOS, 2005). A nutrição do solo tem ação direta sobre a produção de metabólitos secundários e deve ser um fator prioritário no estudo de técnicas de manejo de espécies medicinais. A adubação com fósforo contribui para o aumento da concentração de alcaloides na beladona e de substâncias aromáticas no coentro e no funcho. A deficiência no solo reduz a concentração de cumarinas em chambá (TEIXEIRA, 2017).

Pereira et al. (1998) avaliaram a influência da fertilidade do solo sobre a biomassa e a concentração de cumarina: plantas (*M. glomerata*) cultivadas com húmus (fertilização orgânica) tiveram maiores concentrações de cumarina do que plantas tratadas com fertilizantes químicos. O cultivo de plantas medicinais requer preferencialmente, técnicas de manejo orgânico, sem a utilização de defensivos químicos, ou mesmo de adubação mineral. Os resultados obtidos no presente trabalho dão suporte para uma indicação de adubação oriunda de fonte natural, favorecendo a manutenção de cultivo em sistema de plantio orgânico.

Ao estudar os metabólitos produzidos por espécies de guaco cultivadas sob diferentes luminosidades Almeida (2015), verificou a ausência de cumarina em *M. glomerata* em todos os tratamentos de luminosidade feitos fora da casa de vegetação, sugerindo que esta espécie dificilmente apresentará concentrações de cumarina em níveis terapêuticos em cultivos fora de estufas. No entanto, em nosso estudo, a cumarina foi detectada em folhas de plantas cultivadas a pleno sol. O princípio ativo teve uma redução de 16,5% (figura 6) em relação daqueles encontrados em folhas de plantas cultivadas em sombrite 50%.

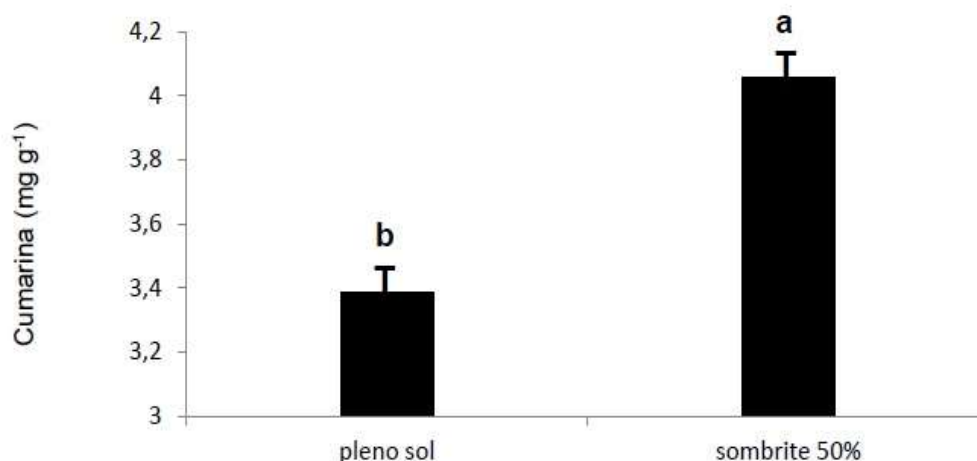


Figura 6 - Comparação dos teores de cumarina em extratos de folhas de *Mikania glomerata* cultivadas em pleno sol e sob sombrite 50%. Letras diferentes em cada coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

Fonte: autoria própria 2018

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

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio deste trabalho pode-se observar que as plantas cultivadas sob sombreamento tiveram um maior acúmulo de biomassa do que as cultivadas a pleno sol, tanto no índice matéria fresca como na matéria seca das folhas de guaco. O adubo químico se destacou resultando num maior percentual de biomassa do que as demais fontes de adubação, contudo os adubos orgânicos apresentaram uma pequena redução no acúmulo de biomassa, portanto, como em cultivos orgânicos a adubação química não é indicada, sugere-se o uso de fertilizantes orgânicos, provenientes de cama de aviário e esterco bovino, como fonte de nutrientes para o cultivo do guaco.

Os teores de cumarina contidos em folhas de guaco, com 120 DAP, foram maiores em plantas que receberam adubação. Dentre as fontes de adubação, o esterco bovino e cama de aviário foram os que resultaram numa melhor produção do princípio ativo (Tabela 04), resultando numa boa recomendação para o cultivo orgânico dessa espécie. Plantas cultivadas sob 50% de luminosidade também

apresentaram aumento nos teores de cumarina em suas folhas, indicando o uso de sombrite no cultivo.

Referente a morfologia e a contagem dos estômatos, os diferentes tratamentos aplicados não exerceram efeito sobre as variáveis analisadas, no entanto foi possível observar uma tendência para uma área foliar maior nas plantas que ficaram na sombra.

Os resultados desta pesquisa sugerem que o uso de cama de aviário e de malha de sombrite 50% são indicações adequadas para o cultivo de *Mikania glomerata*, cultivada como fonte de matéria prima na produção de medicamentos fitoterápicos.

Novos trabalhos devem ser realizados a fim de estabelecer um protocolo de cultivo completo que auxilie os produtores no manejo de plantas de guaco.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. L. de. **Metabólitos secundários de duas espécies de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultze) cultivadas sob condições variadas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Estadual de Campinas 2015. Disponível em; <[http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/315990/1/Almeida\\_ClaudiadeLazzari\\_M.pdf](http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/315990/1/Almeida_ClaudiadeLazzari_M.pdf)> acesso em: 26 set.2019.
- ANVISA. instrução normativa nº 5, de 11 de dezembro de 2008. **Determina a publicação da lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado.** Publicação DOU nº 354. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2008.
- CASTRO, E.M., et al. **Crescimento e anatomia, foliar de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) submetidas a diferentes fotoperíodos.** Ciência Agrotecnológica, 27(6):1293-1300, 2003.
- CELEGHINI, R.M.S., VILEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M. **Extração e análise quantitativa de HPLC de coumarina em extratos hidroalcoólicos de *Mikania glomerata* Spreng. ("guaco") leaves.** J. Braz. Chem. Soc. V.12, n.6., 706-709. 2001.
- COSTA, B.C.L. et al. **Tipos e doses de adubação orgânica no crescimento, no rendimento e na composição química do óleo essencial de elixir paregórico:** Universidade Federal de Santa Maria Santa Maria. Ciência Rural, vol. 38, núm. 8, nov. 2008, pp. 2173-2180.
- CZELUSNIAK, K. E. et al. **Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e Schultze Bip. ex Baker.** Universidade Estadual do Centro-Oeste, Campus Cedeteg, Departamento de Farmácia. Revista Brasileira Plantas Mediciniais, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.
- ESPINDOLA JUNIOR. A. **Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade.** Revista Brasil. Bot., V.32, n.4, p.749-758, out. Dez. 2009.
- FURLAN, M. R.; GARCIA, D. **A produção de plantas medicinais e a fitoterapia: passado, presente e futuro.** Editora RS Press, s/n, São Paulo, 2013.
- GAMA. T.C.P. da. et al. **Anatomia foliar e produtividade de cafeeiros, em diferentes níveis de adubação.** Coffee Science, Lavras, v. 12, n. 1, p. 42 - 48, jan./mar. 2017.
- GASPARETTO, J. C.; CAMPOS, F.R., BUDEL, J.M., PONTAROLO, R. ***Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: estudos agrônômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil.** Brazilian Journal of Pharmacognosy, n4, p 627-640, 2010.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** Quimica Nova, Vol. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

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

LIMA JUNIOR, E.C; ALVARENGA, A.A; CASTRO, E.M; VIEIRA, C.V; OLIVEIRA, H.M. 2005. **Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento.** *Ciência Rural*, 35: 1092-1097.

LIMA, V. B. et al. **A adubação orgânica e a sua relação com a agricultura e o meio ambiente:** V Encontro Científico e Simpósio de Educação Unisalesiano, Lins, São Paulo; 09 de outubro de 2015.

LORENZI, H., e MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odesa. Instituto Plantarum. 512p. 2002.

MAPELI N.C; et al. **Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo.** *Horticultura Brasileira*. 23: 32-37 2005.

NORONHA, M. A. S. **Níveis de água disponível e doses de esterco bovino sobre o rendimento e qualidade do feijão-vagem.** Areia: Universidade Federal da Paraíba, 2000. 76p. Dissertação Mestrado.

OLIVEIRA, F.; OGA, S.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Parâmetros físicos e químicos e efeito antiedema dos extratos fluídos de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e de guaco-do-mato (*Mikania laevigata* Schultz Bip ex Baker).** *Anais Farm. Quim.*, 25, 50-54, 1985.

OLIVEIRA FILHO; J.M.; CARVALHO, M.A.; GUEDES, G.A.A. **Matéria orgânica do solo.** *Informe agropecuário*. v. 13.n.147. p.22-24. 1987.

PEREIRA, A. M. S. et al. **Influence of Fertilizer on Coumarin Content and Biomass Production in *Mikania glomerata* Sprengel.** *Journal of Herbs, Spices, & Medicinal Plants*, v. 6, n. 1, p. 29-36, 1998.

PINTO, J.E.B.P. et al. **Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento.** *Horticultura Brasileira*, v.25, n.2, p.210-4, 2007.

RAIJ, B. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes.** Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2011. 420p.

RODRIGUES, F.R. **Extração da cumarina a partir das sementes da emburana (*Torresea cearensis*) utilizando dióxido de carbono supercrítico.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Estadual de Campinas, 2005 Disponível em: <[http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/267682/1/Rodrigues\\_RafaelladaFonseca\\_M.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/267682/1/Rodrigues_RafaelladaFonseca_M.pdf)> Acesso em: 25 set. 2019.

SANTOS, S.C. **Caracterização cromatográfica de extratos medicinais de guaco: *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker e *M. glomerata* Sprengel e ação de *M. 57 laevigata* na inflamação alérgica pulmonar.** 2005. 93p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -Universidade do Vale do Itajaí. Disponível em: <<http://siaibib01.univali.br/pdf/Sheila%20Cristina%20dos%20Santos.pdf>> Acesso em: 26 Set. 2019.

SANTOS J.C; et al. **Produtividade do guaco sob dois sistemas de cultivo.** Horticultura Brasileira 30: S6395-S6399. Horticult. bras., v. 30, n. 2, julho 2012.

SILVA. L. M. et al. **Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal.** Acta Bot. Bras. vol.19 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2005.

SILVA, M. G. da. **Secagem de folhas de guaco (*mikania laevigata* schultz bip. ex baker) com adição de etanol: efeito sobre o teor de cumarina.** Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, 2014, Disponível em:<[http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/266115/1/Silva\\_MateusGuimaraesda\\_M.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/266115/1/Silva_MateusGuimaraesda_M.pdf)> Acesso em: 25 set. 2019.

SILVEIRA, P. F. da; et al. **Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

SOUZA, G. S. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação.** 130f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) Programa de pós-graduação em Agronomia – Universidade Federal de Lavras – Lavras, 2006. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/handle/1/28?offset=60>> Acesso em: 26 Set. 2019.

SOUZA, G. S. **Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas.** DOI: 10.5433/1679-0359.201, Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1843-1854, 2011

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 6.ed; Porto Alegre: Artmed, 858p, 2017.

TEIXEIRA, D. A. **Produção de biomassa e teor de cumarina em duas espécies de Guaco (*mikania glomerata* sprengel e *mikania laevigata* schultz bip ex baker) em função da adubação orgânica.** Dissertação (Mestrado em Horticultura) Faculdade de Ciências agrônômicas da Unesp – Botucatu, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/150435?locale-attribute=en>. Acesso em: 16 outubro. 2019.

TOFANELLI, M. B. D; REZENDE, S. G. **Sistemas de condução na produção de folhas de ora-pro-nobis.** *Pesq. Agropec. Trop.* 41: 466-469, 2011.

THOMPSON, W.A; HUANG, L.K; KRIEDEMANN, P.E. **Resposta fotossintética à luz e nutrientes em árvores de floresta tropical tolerantes ao sol e tolerantes à**



**sombra**.II. Leaf gas exchange and component processes of photosynthesis.  
*Australian Journal of Plant Physiology*, 19: 19- 42, 1992.

WAMSER A. F.; MUELLER S.; BECKER W. F.; SANTOS J. P.; SUZUKI A.  
**Espaçamento entre plantas e cachos por haste no tutoramento vertical do  
tomateiro**. *Horticultura Brasileira* 27: 565-570; 2009.