

Identificação e avaliação de princípios ativos presentes na espécie *Platycodon grandiflorum* (Jacq) A. DC (Flor balão) de interesse medicinal e fitoterápico e proposta de sistema de produção

Nádia Waleska Valentim Pereira

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental – Área de concentração: Ciências da Engenharia Ambiental

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA ENGENHARIA
AMBIENTAL

NÁDIA WALESKA VALENTIM PEREIRA

Identificação e avaliação de princípios ativos presentes na espécie *Platycodon grandiflorum* (Jacq) A. DC (Flor Balão) de interesse medicinal e fitoterápico e proposta de sistema de produção

São Carlos

2023

NÁDIA WALESKA VALENTIM PEREIRA

Identificação e avaliação de princípios ativos presentes na espécie *Platycodon grandiflorum*
(Jacq) A. DC (Flor Balão) de interesse medicinal e fitoterápico
e proposta de sistema de produção

**Tese apresentada à Escola de Engenharia de
São Carlos, Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para a obtenção de Título
de Doutor em Ciências da Engenharia
Ambiental.**

Área de Concentração: Ciências da Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Silvio Crestana

VERSÃO ORIGINAL

São Carlos

2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues
Fontes da EESC/USP

P436i Pereira, Nádia Waleska Valentim

 Identificação e avaliação de princípios ativos presentes na espécie *Platycodon gransiflorum* (Jacq) A. DC (Flor Balão) de interesse medicinal e fitoterápico e proposta de sistema de produção / Nádia Waleska Valentim Pereira; orientador Silvio Crestana. -- São Carlos, 2023.

 Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2023.

 1. Metabolômica. 2. RMN H¹. 3. *Platycodon grandiflorum*. 4. Clima tropical. 5. Medicina tradicional chinesa. 6. Fitoterápico. I. Título.

Elaborado por Elena Luzia Palloni Gonçalves – CRB 8/4464

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Licenciada **NÁDIA WALESKA VALENTIM PEREIRA.**

Título da tese: "Identificação e avaliação de princípios ativos presentes na espécie *Platycodon grandiflorum* (Jacq) A. DC (Flor Balão) de interesse medicinal e fitoterápico e proposta de sistema de produção".

Data da defesa: 08/11/2023.

Comissão Julgadora

Resultado

Dr. **Silvio Crestana** (Orientador) APROVADA
(Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA)

Profa. Dra. **Eny Maria Vieira** APROVADA
(Instituto de Química de São Carlos – IQSC/USP)

Dr. **Luiz Alberto Colnago** APROVADA
(Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA)

Profa. Dra. **Pollana Cristina Spricigo** APROVADA
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP)

Dr. **André Wan Wen Tsai** APROVADA
(Hospital Alemão Oswaldo Cruz)

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

Prof. Titular **Marcelo Zaiat**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Carlos De Marqui Junior**

AGRADECIMENTOS

Desafio tão grande quanto escrever esta Tese, foi mudar de Estado e começar a vida profissional de novo. E tudo que é novo nos tira da zona de conforto, ainda bem que ao longo desse caminho encontramos pessoas que tornam esses momentos de grandes mudanças e desafios menos difíceis, mais leves e até engraçados.

Agradeço a todas as pessoas que compartilharam da jornada “doutorado”.

Ao meu esposo e filhos, agradeço por compreenderem a necessidade de me dividir com este estudo. Passei mais horas com meu computador do que com a minha família. Amo muito vocês!

Aos meus pais que sempre me incentivaram.

Ao Dr. Silvio Crestana pela confiança e autonomia para realizar este estudo.

À Dr.^a Tazue Hara Branquinho, por lançar esse desafio.

Ao Sr. Alexandre Noda de Mogi das Cruzes, que cedeu as mudas de *Platycodon grandiflorum* para a realização deste estudo.

À Luisa, com “s” Souza, com “z” Almeida agradeço a paciência, a disponibilidade de tempo para compartilhar comigo seu conhecimento e experiência realizando as análises de RMN mesmo fazendo seu doutorado, e por sempre estar ao meu lado nessa jornada ouvindo minhas dúvidas e desabafos. A você querida Luisa, com “s”, meus sinceros agradecimentos. Desejo uma vida longa e muito sucesso, pois tenho certeza que irá concretizar todos os seus sonhos.

À Dr.^a Banny Silva Barbosa Correia que auxiliou nas análises de RMN.

À Dr.^a Fernanda Maria Marins Ocampos que me iniciou no caminho da RMN e contribuiu muito para o desenrolar inicial deste estudo.

Ao Dr. Luiz Alberto Colnago que possibilitou a realização das análises de RMN.

A Embrapa Instrumentação por toda estrutura cedida, aos técnicos e técnicas, desta instituição, pela ajuda sempre que necessário, em especial à Viviane, Joana, Silviane, Daiane, e ao Pedro Bonfim, técnico de campo do Lanapre que muito me ajudou. Ao Rabelo e Daniel Portioli que acompanharam a rotina de campo, agradeço a confiança e ajuda sempre que necessário. À Da. Aguida, a querida “Guida” que sempre me recebeu com carinho no Lanapre e foi companheira nessa jornada. Ao Dr. Ednaldo pela ajuda nos tratamentos dos dados, ao Dr. Bassoi pelas conversas esclarecedoras. Ao Sr. Nelson por sempre me recebeu de forma agradável.

Aos meus estagiários, Victor Besse Lopes e Gabriela de Oliveira, que muito me ajudaram e foram companheiros nesta jornada, debaixo de chuva e de sol.

A Universidade de São Paulo e a CAPES — Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudos concedida, que fomentou a pesquisa.

Agradeço a Deus que me deu saúde e sabedoria para trilhar essa jornada, na qual tive que fazer muitas escolhas.

Muito obrigada a todos!

Não sei...Se a vida é curta

Ou longa demais pra nós,

Mas sei que nada do que

Vivemos

Tem sentido, se não tocamos o

Coração das pessoas

Muitas vezes basta ser:

Colo que acolhe,

Braço que envolve,

Palavra que conforta,

Silêncio que respeita,

Alegria que contagia,

Lágrima que corre,

Olhar que acaricia,

Desejo que sacia,

Amor que promove.

Saber viver — Cora Coralina

RESUMO

PEREIRA, N.W.V. **Identificação e avaliação de metabólitos presentes na espécie *Platycodon grandiflorum* (Jacq) A. DC (Flor Balão) de interesse medicinal e fitoterápico e proposta de sistema de produção agroecológico.** 2023. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

A busca por medicamentos naturais a base de espécies vegetais que ofereçam benefícios à saúde, incluindo prevenção e tratamento de doenças é crescente. As mudanças climáticas vêm alterando as condições ambientais, o que reflete diretamente na sobrevivência das espécies. Em plantas, mudanças nas condições ambientais tais como aumento de temperatura e alterações no regime hídrico promovem a adaptação ou a extinção. Em ervas medicinais as alterações no ambiente promovem mudanças na fisiologia e nas rotas metabólicas que interferem na produção de compostos bioativos, levando ao comprometimento da segurança e eficácia da ação terapêutica. O rizoma de *Platycodon grandiflorum* (Flor Balão) é um produto consumido *in natura* ou em fórmulas fitoterápicas nas práticas da Medicina Tradicional Chinesa. Entretanto, apesar do conhecimento sobre seu valor nutracêutico e medicinal, o mercado dessa espécie concentra-se em usos ornamentais no Brasil. Desta forma este trabalho teve como objetivo estudar e caracterizar os metabólitos primários presentes na espécie *Platycodon grandiflorum* em diferentes condições de cultivo. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo metabolômico desta espécie realizado em clima tropical. A proposta desenvolvida consiste em testar o cultivo da espécie estudada em consórcio agroecológico, obter perfil químico dos rizomas da espécie utilizando espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ^1H e identificar e avaliar quantitativa e qualitativamente os metabólitos primários presentes nos rizomas por meio da metabolômica. Neste estudo o cultivo desta espécie em diferentes condições ambientais demonstrou que o consórcio agroecológico utilizando três variedades de pimenta do gênero *Capsicum*, Pimenta Murupi (*Capsicum* ssp), Pimenta de Bode (*C. var. chinensis*) e Pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*), ricas em fontes de vitaminas e minerais, e Crotalária (*C. juncea*) mostraram-se satisfatório para o crescimento e desenvolvimento de *P. grandiflorum*, bem como a produção de frutos das pimentas cultivadas agregando valor ao consórcio. Neste estudo, espectroscopia de RMN de ^1H identificou e quantificou 17 metabólitos presentes em extratos de rizoma de *P. grandiflorum* cultivados em diferentes condições ambientais. Alguns metabólitos, como açúcares, aminoácidos e o malato, apresentaram variações no teor quando relacionados as condições ambientais, com ocorrência de períodos com maior ou menor volume hídrico. Modelos de classificação multivariada dos dados de RMN demonstram a influência da variância do plantio devido às condições de plantio e época de colheita. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo que descreve o perfil metabólico de rizomas de *P. grandiflorum* cultivados no Brasil sob diferentes condições de cultivo e clima.

Palavras chaves: Consórcio agroecológico. *Platycodon grandiflorum*. Pimentas variedades *Capsicum*. *Crotalária juncea*. Clima tropical. Fitoterápicos. Medicina tradicional chinesa. Alimento nutracêutico. Metabolômica. RMN ^1H .

ABSTRACT

PEREIRA, N.W.V. **Identification and evaluation of active principles present in the species *Platycodon grandiflorum* (Jacq) A. DC (Flor Balão) of medicinal and phytotherapeutic interest and proposal of an agroecological production system.** 2023. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

The herbal medicine market has been growing. The search for natural medicines based on plant species that offer health benefits, including disease prevention and treatment, is growing. Climate change has been altering environmental conditions, which directly affects the survival of species. In plants, changes in environmental conditions such as temperature increase and change in water regime promote adaptation or extinction. In medicinal herbs, changes in the environment affect directly physiology and metabolic pathways. Therefore, it interferes in the production of bioactive compounds, leading to compromised safety and efficacy of the therapeutic action. The rhizome of *Platycodon grandiflorum* (Balloon Flower) is a product consumed fresh or in herbal formulas in Traditional Chinese Medicine practices. However, despite the knowledge about its nutraceutical and medicinal value, the market for this species is concentrated on ornamental uses in Brazil. The aim of this study was therefore to study and characterize the primary metabolites present in the *Platycodon grandiflorum* species under different cultivation conditions. As far as we know, this is the first metabolomic study of this species carried out in a tropical climate. The proposal developed consists of testing the cultivation of the species studied in an agro-ecological consortium, obtaining a chemical profile of the rhizomes of the species using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) ^1H spectroscopy, and identifying and quantitatively and qualitatively evaluating the primary metabolites present in the rhizomes using metabolomics. In this study, the cultivation of this species in different environmental conditions showed that the agroecological consortium using three varieties of pepper of the genus *Capsicum*, Pimenta Murupi (*Capsicum* ssp), Pimenta de Bode (*C. var. chinensis*) and Pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*), rich in sources of vitamins and minerals, and *Crotalaria* (*C. juncea*) proved to be satisfactory for the growth and development of *P. grandiflorum*, as well as the fruit production of the cultivated peppers, adding value to the consortium. In this study, NMR ^1H spectroscopy identified and quantified 17 metabolites present in *P. grandiflorum* rhizome extracts grown under different environmental conditions. Some metabolites, such as sugars, amino acids, and malate, showed variations in content when related to environmental conditions, with the occurrence of periods with greater or lesser water volume. Multivariate classification models of the NMR data show the influence of plant variance due to planting conditions and harvest time. To the best of our knowledge, this is the first study to describe the metabolic profile of *P. grandiflorum* rhizomes grown in Brazil under different growing and climate conditions.

Keywords: Agroecological consortium. *Platycodon grandiflorum*. *Capsicum* variety peppers. *Crotalaria juncea*. Tropical climate. Herbal medicines. Nutraceutical food. Traditional chinese medicine. Metabolomics. NMR ^1H .

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1:** Fluxograma da seleção de artigos para definição da espécie de estudo.....36
- Figura 2.2:** (A) Vasos com mudas de *P. grandiflorum* (Flor Balão), com idade de 3 meses com a parte aérea podada pelo doador; (B) Vaso com Flor balão da cor azul.....37
- Figura 3.1:** Correção de calcário: (A) divisão da área por metro; (B) divisão do calcário por m²; (C) lançamento do calcário a mão na área por m²; (D) arado misturando o calcário na área.....45
- Figura 3.2a:** Croqui do delineamento das espécies de estudo em campo.....46
- Figura 3.2b:** Esquema do croqui do delineamento das espécies de estudo em campo. (A) Área para o plantio das sementes de *C. juncea* dividida em linhas com espaçamento de 0,30 x 0,30 m nas entrelinhas totalizando 48 linhas (B) Área para o plantio do consórcio das pimentas do gênero *Capsicum* com a espécie de *P. grandiflorum* distribuídas em quatro parcelas de 1,20 x 1,20 m com 0,60 m entre as fileiras das parcelas. Em cada parcela foram plantadas 16 mudas com espaçamento de 0,30 x 0,30 m entre fileiras e mudas. Ao redor, circulando as parcelas de *P. grandiflorum*, foram plantadas mudas de pimenta no espaçamento de 0,30 x 0,30 m entre linhas e plantas. (C) Mudanças de *P. grandiflorum* plantadas em vasos, divididas em oito colunas, com cinco vasos em cada coluna, totalizando 40.....47
- Figura 3.3:** Plantio da espécie de estudo no solo e vaso e plantio das espécies do consórcio exploratório. (A) Abertura de covas para plantio da *P. grandiflorum* com (B) mudas de *P. grandiflorum* plantadas no espaçamento de 0,30 x 0,30 m. (C) Preparo da área para plantio das sementes de *Crotalaria juncea* e (D) distribuição das sementes de *C. juncea* por metro linear nas linhas. (E) Preparo das covas para plantio das mudas de pimenta e (F) mudas de pimentas já plantadas.....48
- Figura 3.4:** Poda da *C. juncea* (A) com 40 dias após o primeiro plantio e (B) após a primeira poda. (C) Crotalária com 40 dias após a primeira poda e (D) após a segunda poda, em 2020.....50

Figura 3.5: Precipitação, temperaturas máximas e mínimas do ar e radiação solar de referência para o ano de 2021 e 2022.....68

Figura 3.6: Variedades de pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas na bordadura ao redor das parcelas com mudas de *P. grandiflorum*. (A) Pimenta de Bode (*C. var. chinensis*), (B) Pimenta Murupi (*Capsicum* ssp), e (C) Pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*)69

Figura 3.7: Peso dos frutos frescos das pimentas do gênero *Capsicum*, Pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*), Pimenta Murupi (*Capsicum* ssp), e Pimenta de Bode (*C. var. chinensis*), produzido durante o período de um ano (abril 2020 e abril 2021)69

Figura 3.8: Croqui do consórcio das variedades de pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas no experimento.....71

Figura 4.1: Coleta de amostra de rizomas em cultivo em solo (A) e em vasos (B). (C) Rizoma lavado para ser armazenado em freezer, e posteriormente picado (D) para ser macerado em nitrogênio líquido e transformado em pó (E) e novamente armazenado (F) para posterior análise.....77

Figura 4.2: Espectro da amostra de controle de qualidade interno. (A) Espectro total de 0,5 ppm a 6 ppm com região cortada de δ 3,28 ppm – 3,34 ppm. (B) Espectro de 3,1 ppm a 6 ppm com atribuição de metabólitos. (C) Espectro de 0,5 ppm a 3 ppm com atribuição de metabólitos.....80

Figura 4.3: Vias relacionadas ao metaboloma de *P. grandiflorum*. Principais rotas metabólicas indicadas em negrito em quadrados coloridos. Metabólitos dos extratos de rizomas de *P. grandiflorum* com cor de texto de acordo com a via metabólica à qual estão relacionados..... 84

Figura 4.4: Quantificação e identificação de 11 metabólitos selecionados pelo teste T ($p < 0,05$) em extratos de rizomas de *P. grandiflorum* por RMN ^1H cultivados tanto em solo como em vasos com substrato, nos meses de J-21 e A-22. As colunas indicam as médias e o erro padrão

indicado por $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,005$. Os carboidratos monossacarídeos quantificados são (A) arabinose, (B) ribose, (C) xilose, (D) galactose e (E) xilitol. Dentre os dissacarídeos temos (F) celobiose, (G) maltose, (H) sacarose, (I) lactulose e (J) trealose. Nos aminoácidos os (K) arginina, (L) treonina, (M) glutamina e o (N) malato.....86

Figura 4.5: Gráfico dos scores das cinco condições de agrupamento dos extratos dos rizomas de *P. grandiflorum*. As variáveis latentes dos componentes principais 1 e 2 representam os componentes mais importantes da informação original. Os meses de coleta das amostras são representados por julho/2021 (J-21) e abril/2022 (A-22). As amostras do cultivo em solo (S) são representadas pelos pontos em vermelhos, enquanto as amostras do cultivo em vasos com substrato (V) são representadas pelos pontos verdes, para as condições I e II. Condição I) Amostras coletadas em J-21 cultivadas em solo (S-21, vermelho) vs amostras cultivadas em vasos com substrato (V-21, verde); Condição II) Amostras coletadas em A-22 cultivadas em solo (S-22, vermelho) vs amostras cultivadas em vasos com substrato (V-22, verde); Condição III) amostras cultivadas em solo coletadas em J-21 (S-21, verde) vs amostras cultivadas em solo coletadas em A-22 (S-22, vermelho); Condição IV) amostras cultivadas em vasos com substrato coletadas em J-21 (V-21, verde) vs amostras cultivadas em vasos com substrato coletadas em A-22 (V-22, vermelho); e Condição V) amostra cultivada em solo + amostra cultivada em vasos com substrato coletada em A-22 (A-22, vermelho) vs amostras cultivadas em solo + amostras cultivadas em vasos com substrato coletada em J-21(J-21, verde).....91

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Análise do solo onde foram cultivados os rizomas da espécie <i>P. grandiflorum</i> , antes e após o experimento.....	53
Tabela 4.1: Atribuição de espectro.....	81
Tabela 4.2: Soma das concentrações e médias dos grupos de metabólitos, monossacarídeos e dissacarídeos (carboidratos), aminoácidos e ácidos orgânicos, determinadas por RMN e expressas em mg.100g ⁻¹ , de acordo com as diferentes condições de cultivo (solo ou vaso - codificados como S ou V) e períodos de coleta (21/abril - A21; 21/julho - J21; 22/abril - A22; 22/julho - J22;) dos rizomas.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIFISA - Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

EUA – Estados Unidos da América

PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

SUS - Sistema Único de Saúde

PNPMF - Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PMPF - Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

USP – Universidade de São Paulo

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CG - Cromatografia gasosa analítica

HPLC - Cromatografia líquida de alta resolução

MS-MS - Espectrometria de massas

RMN - Ressonância magnética nuclear

PCA - Principal Regression Components

PSL-DA - Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais

PLS - Partial Least Squares

PCR - Principal Components Analysis

MTC – Medicina Tradicional Chinesa

TFSA – Terra fina seca ao ar

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

C. – *Capsicum*

Var. – variedade

CEASAS - Centros de Abastecimento e Comercialização de Produtos da Hortifruticultura

CEASA-ES - Centros de Abastecimento e Comercialização de Produtos da Hortifruticultura do Espírito Santo

CEASA-MG - Centros de Abastecimento e Comercialização de Produtos da Hortifruticultura de Minas Gerais

CEASA-RJ - Centros de Abastecimento e Comercialização de Produtos da Hortifruticultura do Rio de Janeiro

WEKA - Waikato Environment for Knowledge Analysis

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

OMS – Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	23
1.1 Objetivo geral.....	25
1.1.1 Objetivos específicos.....	26
1.2 Referencial teórico.....	26
1.2.1 O crescimento do mercado fitoterápico no Brasil e no Mundo	26
1.2.2 O efeito das alterações climáticas em plantas medicinais e a importância do cultivo em sistemas agroecológicos	29
1.2.3 Metabolômica e análise fitoquímica	32
CAPÍTULO 2 – <i>PLATYCODON GRANDIFLORUM</i> A ESPÉCIE DE ESTUDO	35
2.1 Seleção e aquisição da espécie de estudo	35
2.2 Caracterização da espécie <i>Platycodon grandiflorum</i> (Jacq) A. DC.....	37
CAPÍTULO 3 - PROPOSTA DE SISTEMA AGROECOLÓGICO PARA O CULTIVO DE <i>P. GRANDIFLORUM</i>	41
3.1 Importância do cultivo agroecológico	41
3.2 Metodologia	43
3.2.1 Caracterização da área experimental.....	43
3.2.2 Dados climáticos e análise química do solo	43
3.2.3 Preparo da área e delineamento experimental exploratório do consórcio agroecológico	44
3.2.3.1 Preparo da área.....	44
3.2.3.2 Delineamento experimental exploratório	45
3.2.3.3 Plantio das espécies e tratos culturais.....	47
3.2.3.4 Levantamento de preço das pimentas cultivadas	51
3.3 Resultados e discussão.....	51
3.3.1 Análise química do solo	51
3.3.2 Atributos climáticos	67
3.3.3 - Produção e precificação dos frutos das pimentas do gênero <i>Capsicum</i> cultivadas no experimento	68
3.4 Principais pontos de avaliação da proposta do consórcio agroecológico	72
3.5 Conclusões	73
CAPÍTULO 4 - ANÁLISE METABOLÔMICA COMO FERRAMENTA PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS EM RIZOMAS DA ESPÉCIE <i>P. GRANDIFLORUM</i>	75
4.1 Introdução	75

4.2 Metodologia	76
4.2.1 Coleta de amostras dos rizomas da espécie <i>P. grandiflorum</i> cultivados em diferentes condições de plantio	76
4.2.2 Obtenção dos extratos dos rizomas de <i>P. grandiflorum</i> e análise de RMN.....	78
4.2.3 Análises Estatísticas.....	78
4.3 Resultados e discussão.....	79
4.3.1 Perfil metabolômico de <i>P. grandiflorum</i>	79
4.3.2 Resposta dos metabólitos primários da espécie <i>P. grandiflorum</i> em diferentes períodos de coleta	80
4.3.3 Apresentação de vias metabólicas baseadas na investigação do metaboloma da espécie <i>P. grandiflorum</i>	83
4.3.4 Concentração de metabólitos encontrados na espécie <i>P. grandiflorum</i> cultivada em diferentes condições ambientais	84
4.4 Conclusões	98
4.5 Recomendações para trabalhos futuros	99
REFERÊNCIAS.....	101
APÊNDICE A	110
APÊNDICE B.....	119
APÊNDICE C	122
APÊNDICE D	123
APÊNDICE E.....	130

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins terapêuticos e medicinais tem sua importância cultural datada desde 60.000 a.C. Ao longo da história, povos antigos como os egípcios, gregos, chineses, hindus, dentre outros como os povos pré-colombianos contribuíram, por meio da sua cultura, para o uso das plantas de forma terapêutica (ROCHA *et al.*, 2015).

No Brasil, o uso de plantas medicinais faz parte de nossa cultura há séculos. O conhecimento tradicional dos povos indígenas associado à cultura africana e a europeia contribuíram para que o conhecimento e as experiências a partir do uso de ervas medicinais fossem transmitidas às gerações ao longo dos tempos (CAMARGO, 2014; BRASIL, 2006). Entretanto, nos últimos anos o consumo de produtos naturais, como os fitoterápicos, vem aumentando. Fatores como os baixos índices de efeitos colaterais, além dos efeitos benéficos à saúde, comprovados e publicados por pesquisadores bem como valores mais baixos em comparação aos medicamentos alopáticos, têm contribuído para este crescimento. Em 2017 cerca de 80% da população mundial recorria a plantas medicinais no tratamento de enfermidades, no Brasil, esse número estava próximo de 90% (ZENI *et al.*, 2017).

Em 2020, com a pandemia da Covid-19, a preocupação em manter a imunidade aumentou, já que sua manutenção pode evitar os danos causados pela doença e até mesmo sua fatalidade (BRAGA; SILVA, 2021). Além disso, a população passou a buscar por melhor qualidade de vida, tanto com o consumo de medicamentos naturais, quanto com as mudanças de hábitos alimentares e físicos. E com a crescente divulgação pela imprensa sobre as vantagens do uso das ervas medicinais e dos fitoterápicos, o crescimento do mercado de produtos naturais e fitoterápicos aumentou.

No mundo, o mercado de produtos naturais está em pleno desenvolvimento com um crescimento de US\$29,4 bilhões em 2017 para US\$165,66 bilhões em 2022, e deve crescer até 2029 cerca de US\$347,50 bilhões. O que pode ser visto como uma oportunidade para o desenvolvimento do setor farmacêutico no Brasil uma vez que houve um crescimento global no mercado de fitoterápicos de 8,4% em 2020 quando comparado com 2019 (FORTUNE BUSINESS INSIGHTSS, 2022). Mas existem desafios a serem enfrentados em nosso país para atender esta crescente demanda que passam não só pela reformulação da Lei da Biodiversidade nº 13.123, de 2015, mas também por pesquisas relacionadas à área ambiental referente ao cultivo e manejo das espécies com potencial medicinal, ou com as já identificadas como

medicinais, em escala apropriada e de forma mais sustentável. O que permitirá o desenvolvimento da cadeia de medicamentos fitoterápicos reduzindo a dependência da importação desses insumos. Podemos citar ainda a melhoria e eficiência no controle de qualidade aprimorando testes farmacológicos já existentes e até mesmo a criação de novas metodologias (ALVES, 2013).

Arelado às essas questões, o Brasil ainda tem uma produção de insumos farmacêuticos pequena e é muito dependente da importação, comenta Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde (ABIFISA). Desenvolver a cadeia de medicamentos fitoterápicos pode vir a reduzir a dependência das importações e ainda gerar renda para agricultores brasileiros (ABIFISA, 2022). No entanto, o cultivo de ervas medicinais ainda precisa ser melhor estudado tendo em vista que as plantas refletem na sua produção de compostos bioativos as alterações sofridas pelas mudanças ambientais o que impacta diretamente a sua ação terapêutica.

As mudanças climáticas vêm preocupando os cientistas há cerca de duas décadas, e estão cada vez mais perceptíveis tanto na saúde humana, quanto na agricultura. Eventos como: inundações, secas, aumento da temperatura provocando ondas de calor, aumento dos níveis dos mares, aumento da poluição atmosférica, e conseqüentemente, aumento de doenças respiratórias e inúmeros outros agravos à saúde humana. Na agricultura, mudanças no regime de chuva e temperatura elevadas promovendo inundações e secas mais frequentes e extremas, afetam a produção das culturas reduzindo a disponibilidade de alimentos (ALPINO *et al.*, 2022). Quando se trata de ervas medicinais, as mudanças ambientais e a forma de cultivo e manejo das espécies afetam a qualidade e produção de compostos bioativos levando ao comprometimento da produção de medicamentos devido a sua eficácia terapêutica alterada (APPLEQUIST *et al.*, 2020).

Hoje o Brasil é referência em tecnologias sustentáveis de baixa emissão de carbono, como as previstas no Plano de Agricultura de Baixo Carbono (Plano ABC) (BRASIL, 2012), que estão diretamente relacionadas ao aquecimento global e conseqüentemente as mudanças climáticas, que tem causando grandes impactos à agricultura e à sociedade (CRESTANA; FOSCHINE; FERREIRA, 2017).

Diante do exposto, os problemas desafiadores que surgem neste domínio e norteiam as hipóteses levantadas para este estudo são:

- As condições de cultivo interferem na produção de metabólitos primários em plantas de interesse medicinal e fitoterápico? Além disso, será possível notar diferença na concentração desses metabólitos em períodos diferentes do ano?
- É possível identificar a variação de metabólitos primários em *Platycodon grandiflorum*, uma espécie de interesse medicinal e fitoterápico a partir de análises qualitativas e quantitativas?
- É possível conceber um sistema de produção agroecológico tendo a espécie *P. grandiflorum* como uma das espécies componentes do sistema de produção?

Visando responder as hipóteses propostas esta tese está dividida em 5 capítulos. O Capítulo 1 - Introdução e Referencial teórico trazem uma breve contextualização, mostrando o crescimento do mercado dos produtos fitoterápicos, como as mudanças climáticas podem influenciar na qualidade e eficácia terapêutica desses produtos, como os sistemas agroecológicos podem ser uma possível solução para o cultivo de espécies medicinais e a importância do uso adequado de técnicas que auxiliem na identificação e quantificação de metabólitos em espécies medicinais.

Capítulo 2 - **Espécie de estudo**, aborda como foi selecionada a espécie de estudo e sua aquisição e traz uma caracterização botânica e fitoquímica da espécie.

Capítulo 3 - **Proposta de Sistema Agroecológico para produção de *P. grandiflorum***, apresenta a importância do cultivo de plantas medicinais em sistemas agroecológicos, como foi selecionada as espécies para compor o consórcio exploratório, a metodologia aplicada finalizando com os principais pontos de avaliação do consórcio.

Finalizando, o Capítulo 4 - **Análise metabolômica** que dá início ao estudo que identifica e quantifica os metabólitos encontrados nos rizomas da espécie estudada, a metodologia para coleta e obtenção dos extratos para análise, a descrição da estatística utilizada, os resultados obtidos e a discussão com as conclusões desta etapa do estudo.

Com isto o estudo apresenta como objetivo geral e específicos:

1.1 Objetivo geral

Estudar e caracterizar os metabólitos primários presentes na espécie *Platycodon grandiflorum*, uma espécie de interesse medicinal e fitoterápico, ainda não caracterizada cientificamente no Brasil e propor sistemas de produção agroecológico.

1.1.1 Objetivos específicos

- Testar condições de cultivo em consórcio agroecológico para espécie selecionada e estudada pela primeira vez em clima tropical;
- Obter perfil químico da espécie por meio de Ressonância Magnética Nuclear (RMN);
- Identificar e avaliar quantitativa e qualitativamente os metabólitos primários presentes na espécie de estudo nas condições estudadas;
- Propor sistema de produção agroecológico para cultivo.

1.2 Referencial teórico

1.2.1 O crescimento do mercado fitoterápico no Brasil e no Mundo

Caracterizada como uma terapia, a fitoterapia faz uso de ervas medicinais em suas diferentes fórmulas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal (BRASIL, 2006a). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), fitoterápicos são medicamentos obtidos exclusivamente através da matéria-prima vegetal. A caracterização da sua eficácia e dos riscos de uso são comprovadas através da sua reprodutibilidade e constância de sua qualidade. A avaliação da sua eficácia e segurança são por meio de levantamentos etnofarmacológicos de utilização e documentações científicas em publicações ou ensaios clínicos.

O Brasil vem dando passos importantes na gestão pública em relação ao uso de medicamentos fitoterápicos. Em 2006, o governo brasileiro criou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que fomentam pesquisas sobre plantas medicinais e desenvolvimento de fitoterápicos de qualidade, priorizando a proteção da biodiversidade. Em 2009, a PNPMF passou a ser o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPF) que entre seus objetivos tem em vista promover acesso seguro e o uso racional das plantas medicinais e fitoterápicos, além de desenvolver tecnologias e inovação que venham fortalecer as cadeias e os arranjos produtivos, permitindo o uso sustentável da biodiversidade brasileira e o desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Tais medidas têm contribuído para o desenvolvimento de pesquisas e

implementação de programas e ações que incentivem não só o uso de ervas medicinais como também o de toda a cadeia possibilitando e disseminando a aplicabilidade das ervas medicinais em diversas terapias como por exemplo, a Medicina Tradicional Chinesa (MCT).

No Brasil as práticas chinesas como a Medicina Tradicional Chinesa (MTC), a acupuntura e a fitoterapia, passaram a fazer parte do SUS em 2006, pela Portaria 971 de 03 de maio, que aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC). Com o crescimento da comercialização de produtos denominados fitoterápicos, em 2014, a ANVISA emitiu duas importantes resoluções, as Resoluções Especiais da Diretoria Colegiada RDC 21 em 15 de abril e a RDC 26 em 26 de maio. A RDC 21 trata da fabricação e comercialização de produtos da MTC já a RDC 26 dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e notificação de uma nova categoria de produtos qualificados como fitoterápicos tradicionais (BRASIL, 2006; BRASIL, 2014a, 2014b; SILVA FILHO, 2021). Entretanto, segundo Rodrigues (2016), o Brasil ainda não conseguiu desenvolver uma indústria própria de fitoterápicos, o que o leva a importar produtos de países como China e Índia mesmo com seu grande potencial frente ao mundo. Desafios como pesquisas relacionadas às alterações na fisiologia, cultivo e manejo de espécies com potencial medicinal, frente às mudanças nas condições ambientais, são fundamentais para o fortalecimento das cadeias produtivas de ervas medicinais.

Um recente estudo qualitativo de Braga e Silva (2021), realizado no Brasil, apontou que durante a pandemia o uso de ervas medicinais aumentou 27% e o de produtos fitoterápicos 21,9%. Em alguns países da Ásia e da África, cerca de 80% da população usa fitoterápicos tradicionais para cuidados de saúde primários, já em países desenvolvidos cerca de 70% a 80% da população recorre a produtos fitoterápicos como medicamentos complementares ou alternativos. No Japão, médicos alopatas prescrevem medicamentos compostos principalmente de produtos fitoterápicos, e o número de profissionais que fazem esse tipo de prescrição chegam a ser de 60% a 70% (PARVEEN *et al.*, 2020). Segundo Ghani¹ (2013 *apud* PARVEEN *et al.*, 2020), na Alemanha, esse número também chega a cerca de 70% de médicos que prescrevem fitoterápicos. Quando o levantamento é realizado junto à população, como no Chile e Colômbia, cerca de 71% e 40% da população, respectivamente, usam fitoterápicos. Na Austrália, França e Canadá, aproximadamente cerca de 46%, 49% e 70% da população, também usam

¹ GHANI, A. (2013). Herbal medicines: Present status, future prospects. *The Pharma World* pp:4. (www.pharmabiz.com).

fitoterápicos, respectivamente. E nos EUA, esse número chega próximo de 158 milhões de pessoas que usam medicina fitoterápica ou natural para o cuidado com a saúde.

O mercado de fitoterápicos vem crescendo não só em países em desenvolvimento, mas também em países desenvolvidos. A indústria mundial de plantas medicinais deverá valer 5 trilhões de dólares até 2050, em todo o mundo, de acordo com a estimativa da Organização Mundial da Saúde (OMS) (PARODA *et al.*, 2013). Alguns anos atrás só as pequenas empresas tinham interesse em comercializar fitoterápicos, atualmente esse comércio é de grande interesse das multinacionais que já detém uma grande fatia do mercado. Na Alemanha o mercado atinge cerca de US\$3,5 bilhões, o que corresponde a US\$42,90 per capita. Na França e na Itália corresponde a US\$1,8 bilhão e US\$700 milhões, respectivamente. No Reino Unido, Espanha e Holanda, o mercado chega a atingir cerca de US\$400 milhões, US\$300 milhões e US\$10, respectivamente (CALIXTO, 2000).

No Brasil, considerando toda a cadeia do segmento (indústria médico-hospitalar, operadoras de planos de saúde e indústrias farmacêuticas), o setor movimentou cerca de R\$510 bilhões por ano, de acordo com a Confederação Nacional de Saúde (CNS). O que representa, aproximadamente, 13% deste total (R\$66,3 bilhões) da produção farmacêutica nacional, sendo que em 2014 o setor faturou R\$65,7 bilhões, segundo levantamento do IMS Health (VALÉCIO, 2015). Ainda, de acordo com o Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico, no período de 2021 houve um aumento de 4,66% na venda de produtos fitoterápicos, quando comparado com o período de 2021, o que representou para as indústrias farmacêuticas um faturamento próximo aos R\$885 milhões. E ao compararmos os dados de 2022 com 2021, o levantamento mostrou que houve uma queda de 0,64 até o mês de julho de 2023 (período de compilação dos dados) o que representa cerca de R\$15 milhões do faturamento desse mercado (ANVISA, 2023).

Apesar do crescimento da demanda, questionamentos importantes vêm sendo levantados por cientistas de todo mundo, tais como: a eficácia dos produtos fitoterápicos encontrados nas prateleiras dos mercados, a sustentabilidade das espécies de plantas medicinais em áreas nativas frente às mudanças climáticas (aumento de temperaturas ,secas severas, períodos prolongados de chuva, dentre outros), bem como as coletas insustentáveis que são realizadas de forma a atender o mercado crescente que podem levar à perda da biodiversidade natural dessas espécies.

Diante do exposto acima, o incentivo ao cultivo de ervas medicinais é uma alternativa viável para atender à crescente demanda, entretanto há necessidade de aprimorar os estudos com atenção voltada para a forma de cultivo e manejo de cada espécie, devido às suas

especificidades na produção de classes de compostos bioativos que são afetados não só pelas mudanças nas condições ambientais mas também pela forma de cultivo e manejo, levando ao comprometimento da produção de medicamentos devido a sua eficácia terapêutica alterada (APPLEQUIST *et al.*, 2020).

1.2.2 O efeito das alterações climáticas em plantas medicinais e a importância do cultivo em sistemas agroecológicos

Estudos recentes vêm apontando as mudanças climáticas como uma grave ameaça para a sobrevivência das plantas em diversos biomas do mundo. Segundo os autores Pant, Pandey e Dall'acqua (2021), regiões como a América Latina considerada como área com maior concentração da biodiversidade, corre o risco de perder essa biodiversidade em decorrência dos resultados das alterações climáticas. Isso pode ocorrer devido ao fato do crescimento e desenvolvimento das plantas serem afetados pelas condições ambientais, tais como: intensidade de luz, seca, inundações, variação de temperatura, radiação ultravioleta, aumento do dióxido de carbono (LI *et al.*, 2020). Cada planta precisa de condições ambientais específicas para crescer e sobreviver. As alterações nos fatores ambientais citados influenciam não só seu comportamento, mas também sua fisiologia e conseqüentemente a produção de metabólitos secundários que são responsáveis pela produção de compostos bioativos e são a base para a produção de muitos medicamentos farmacêuticos e fitoterápicos.

As plantas possuem um metabolismo complexo. Metabolismo é o nome dado ao conjunto de reações químicas que ocorrem nas células, animal ou vegetal. Nas plantas, as reações químicas se dividem em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários estão envolvidos nas funções básicas para manutenção da vida celular, como a respiração, fotossíntese, biossíntese de aminoácidos, nucleotídeos e lipídios, assegurando sua sobrevivência. Já os metabólitos secundários são capazes de produzir, transformar e acumular inúmeras substâncias das células que não estão necessariamente relacionadas, de forma direta, a sua manutenção, mas funcionam na proteção contra doenças, herbivoria, atração de polinizadores, alelopatia e sinalização. Na verdade, essas substâncias garantem vantagens para a sobrevivência e a perpetuação da espécie (AHARONI; GALILI, 2011; DREW; DEMAIN, 1977).

Porém, a síntese e o acúmulo de metabólitos primários nas plantas estão diretamente relacionados às condições ambientais, como temperatura, umidade do solo, estresse hídrico, luminosidade e sazonalidade. Esses fatores alteram o metabolismo celular da espécie, afetando

reações como fotossíntese, respiração e outras reações bioquímicas que interferem no crescimento, desenvolvimento e reprodução da espécie (FAROOQ *et al.*, 2009). Essa adaptação às mudanças geram um estresse na planta que quando não é excessivo, a espécie consegue se reorganizar e equilibrar seu metabolismo de forma a priorizar seu desenvolvimento, crescimento e reprodução. Entretanto, adaptar-se às novas condições impostas pelo ambiente altera os constituintes fitoquímicos ativos, comprometendo não só a segurança e a eficácia do uso *in natura* das plantas medicinais, mas também dos produtos originados a partir desta matéria-prima resultando em efeitos terapêuticos inconsistentes (PATNI *et al.*, 2021; ROSA *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2022; WEDEKING *et al.*, 2018).

Considerando o efeito das condições ambientais (mudanças climáticas) e o crescimento do consumo dos medicamentos naturais e fitoterápicos, que levam a pressão sobre as áreas nativas de populações de plantas medicinais, faz sentido salientar que é preciso pensar no cultivo dessas espécies em escalas apropriadas, e de forma sustentável. Um exemplo é o da espécie Ginseng americano (*Panax quinquefolius* L.) de grande importância, vendida no mercado chinês para tratamentos de hipertensão e infecções respiratórias. A pressão é tão grande sobre essa espécie que os pesquisadores estão preocupados com a sua extinção em decorrência da colheita insustentável em áreas nativas (APPLEQUIST *et al.*, 2020). Diante disso, o incentivo ao cultivo de espécies nativas medicinais por meio de práticas mais sustentáveis é fundamental para diminuir não só a pressão antrópica sobre os habitats naturais dessas espécies, mas também promover o desenvolvimento econômico das populações.

No Brasil existem exemplos de sucesso que merecem ser citados na produção de ervas medicinais, em grande escala, as Fazendas produtoras de Chás. As Fazendas Amaya e Shimada, ambas localizadas em Registro e a Fazenda Midori em São Miguel Arcanjo, todas no interior de São Paulo, plantam a espécie *Camellia sinensis* e algumas de suas variedades, visando a produção de chá verde e chá preto para exportação para países tais como Japão, Europa, EUA e distribuição para todo Brasil. O cultivo da espécie nas Fazendas Amaya e Shimada já vem ocorrendo a cerca de 40 décadas, respectivamente, e ambas utilizam técnicas mais sustentáveis na produção como a adubação orgânica e preservação do solo e continuam buscando uma forma de produção orgânica mais sustentável para futuros produtos da empresa (AMAYA CHÁS, 2009; YAMAMOTOYAMA DO BRASIL, 2010). A Fazenda Midori recuperou sua produção em 2014, e não utiliza agrotóxico em sua plantação com uma produção de chá preto toda artesanal (CHADAVOVO, 2016).

Outro exemplo que vem dando certo de produção em grande escala, é o estudo que a Fazenda da Toca, em Itirapina, São Paulo, vem realizando com o cultivo de árvores em conjunto com culturas agrícolas, incluindo citros. Baseado no conceito de agrossilvicultura, esta experiência vem se mostrando um sucesso, demonstrando a possibilidade de novas experimentações, utilizando modelos de sistema de produção mais sustentável, baseado em pesquisas (CRESTANA; FOSCHINE; FERREIRA, 2017). E se tratando de sistemas produtivos agrícolas, o Brasil vem propondo estratégias de mitigação e adaptação, visando aumentar a resistência e a resiliência desses sistemas. Dentre eles os sistemas com princípios agroecológicos têm mostrado bons resultados a estas questões, já que partem da integração da dimensão ecológica ao sistema de produção, permitindo maior estabilidade e conseqüentemente maior sustentabilidade, uma vez que está diversificando os sistemas de produção e assim reduzindo ou evitando o uso de agrotóxico (MATTOS *et al.*, 2006), além de estar promovendo mudanças de paradigmas.

A Política Agrícola brasileira já disponibilizada orientações e instrumentos que propiciem o conhecimento de práticas mais sustentáveis visando estratégias que minimizem os efeitos e conseqüências das mudanças climáticas com por exemplo, o aumento da temperatura e o efeito estufa (CRESTANA; FOSCHINI; FERREIRA, 2017). Um dos programas que faz parte da Política Agrícola com este intuito é o Plano de Agricultura de Baixo Carbono (Plano ABC) cujo objetivo é estimular manejos que reduzam as emissões de gases de efeito estufa adotando medidas que minimizem os impactos ambientais, tais como Sistemas Agroflorestais e integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF), agrossilvicultura, plantio direto e ações de adaptação às mudanças climáticas. Tais técnicas têm princípios agroecológicos e precisam ser experimentadas para produção de ervas medicinais visando um mercado específico e exigente que vem crescendo a cada dia (CRESTANA; FOSCHINI; FERREIRA, 2017). Ainda segundo esses autores, propostas como as citadas, podem ser colocadas em prática para o cultivo de ervas medicinais partindo do princípio que técnicas de produção intensiva e não intensiva poderão ser exploradas mediante tal desafio e oportunidade. Novas proposições de modelos de produção para ervas medicinais precisam ser discutidas e principalmente experimentadas por empreendedores que também devem buscar parcerias estratégicas para que envolvam pesquisas e desenvolvimento de novas tecnologias que auxiliem na compreensão da fisiologia dessas espécies frente às mudanças nas condições ambientais de forma a manter a qualidade e eficácia da matéria-prima produzida.

Cientificamente, cada vez mais vêm sendo necessário a comprovação dos princípios ativos das plantas medicinais para a formulação de fitoterápicos, em vista do uso indiscriminado realizado pela população. A ANVISA exige padronização da matéria-prima com níveis de teores dos marcadores químicos estabelecidos de acordo com a norma. No entanto, há uma grande variabilidade na composição de substâncias bioativas nas espécies vegetais devido à adaptação da planta frente às condições ambientais onde cresce naturalmente ou é cultivada. Além disso, as mudanças climáticas vêm promovendo eventos como mudanças no regime e distribuição de chuva, aumento de temperaturas e longos períodos de seca que levam as plantas a um estresse adaptativo, requerendo uma adaptação fisiológica e uma reorganização e equilíbrio da rede metabólica complexa que influencia na perpetuação da espécie, e consequentemente, na produção e concentração de metabólitos secundários.

Desta forma, pesquisas que busquem compreender melhor como cada erva medicinal se adapta e reorganiza sua síntese de metabólitos primários, é fundamental para o avanço do desenvolvimento de metodologias de pesquisa mais adequadas para estudar a natureza complexa das espécies associado às mudanças das condições ambientais. Além disso, a comprovação da estabilidade na síntese dos compostos ativos é importante para o avanço no desenvolvimento de medicamentos e para a descoberta de novas substâncias ativas em plantas como protótipos de fármacos, bem como para o desenvolvimento de fitoterápicos.

Como dito anteriormente, as plantas possuem um metabolismo complexo, portanto, para assegurar a qualidade e a eficácia de medicamentos e produtos fitoterápicos é fundamental lançar mão do uso de técnicas, como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e ferramentas como a metabolômica para auxiliar na identificação, quantificação e compreensão dos metabólitos produzidos por essas espécies visando não somente ampliar o conhecimento sobre o comportamento das ervas medicinais frente às mudanças nas condições ambientais como também para assegurar a qualidade e eficácia da ação terapêutica dos produtos produzidos a partir das espécies cultivadas.

1.2.3 Metabolômica e análise fitoquímica

A análise fitoquímica busca elucidar compostos resultantes do metabolismo secundário e suas estruturas químicas. Entretanto, essa análise clássica possui algumas limitações, tais como: a escolha do método de extração é quem define quais classes de compostos serão isoladas, limitando a identificação de outros compostos, como, por exemplo,

o uso de solventes polares identifica compostos polares em maior quantidade, o que também a limita à identificação de novos compostos; a necessidade de grandes quantidades de amostras para caracterização (ATANASOV *et al.*, 2021). Desafios como os citados, levaram a busca por técnicas que permitissem a análise e identificação de misturas complexas com grande número de metabólitos, bem como a compreensão da função específica dos metabólitos primários e secundários, não só das plantas, mas também dos organismos vivos, o que resultou no avanço das bases analíticas nas diferentes áreas da bioquímica e química dos produtos naturais.

No início dos anos 80, estudos utilizando a metabolômica, ferramenta que quantifica e qualifica os metabólitos evidenciando a influência das condições ambientais ou genéticas em vegetais e animais, obtiveram resultados excelentes na identificação e quantificação de alterações metabólicas quando analisaram plantas que passaram por diferentes tipos de estresse ocasionados por agentes físicos, químicos ou biológicos (GOMBERT, 2006; PILON *et al.*, 2020; VILLAS-BÔAS; WOLFENDER *et al.*, 2009). Isso é possível devido ao fato do metaboloma representar o conjunto de metabólitos em uma célula que são considerados produtos finais dos processos celulares, como as reações bioquímicas. Um perfil metabólico expressa informações sobre o estado fisiológico de um organismo vivo. O metaboloma é o conjunto de metabólitos endógenos que possuem peso molecular > 10000 Da que engloba aminoácidos, ácidos graxos, açúcares (mono e dissacarídeos), fenóis, e álcoois permitindo uma diversidade maior de compostos identificados (ROBERTS *et al.*, 2012). Autores como Villas-Bôas e Gombert (2006) comentam que estudos têm obtido resultados excelentes na identificação e quantificação de alterações metabólicas quando analisam plantas que passaram por diferentes tipos de estresse ocasionados por agentes físicos, químicos ou biológicos.

Diversas técnicas podem ser utilizadas para os estudos de metabolômica, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa analítica (CG) ou ainda por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) com detector de espectroscopia de UV-Vis (DAD), espectrometria de massas (MS e MS-MS) e ressonância magnética nuclear (RMN). Estas técnicas fornecem informações adicionais, as quais são consideradas um real avanço, sobre a estrutura química dos componentes da amostra de produtos naturais (NANDAGOAPALAN; DOSS; MARIMUTHU, 2016; SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

A RMN tem se mostrado uma técnica robusta para se obter o perfil químico de plantas e apresenta vantagens como a detecção simultânea e quantitativa de diversos grupos de

metabólitos sem a necessidade de fracionamento do extrato e uso de padrões para elucidar a estrutura química, além disso, não requer um número grande de amostras para análises. Entretanto, como desvantagem gera um volume de dados alto, complexo e muitas vezes de difícil interpretação devido ao alto número de sobreposições de sinais de picos, na qual muitas vezes interfere na interpretação dos dados. Uma forma de minimizar essa dificuldade, é o pré-tratamento dos dados e a associação de análises multivariadas para auxiliar na avaliação e interpretação dos dados (KIM; CHOI; VERPOORTE, 2010).

De acordo com os autores Funari *et al.* (2013² *apud* SOUZA, 2017) e Worleu e Powers (2013), às técnicas de análise multivariada permitem a formação de clusters ou classificam os resultados, após seu pré-processamento, utilizando técnicas como regressão por principais componentes (Principal Regression Components – PCR), regressão por mínimos quadrados parciais (Partial Least Squares – PLS), análises de componentes principais (Principal Components Analysis – PCA) que identificam as variáveis biológicas importantes de forma a auxiliar na interpretação dos dados. Dentre as técnicas citadas atualmente os métodos PCA e PLS-DA são os mais utilizados por serem métodos de análise que principalmente exploram as diferenças das classes dos metabólitos ao mesmo tempo os classificam e os destacam de acordo com a sua concentração encontrada.

² FUNARI *et al.* (2013) – Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, v. 36, p. 1605–1609, 2013.

CAPÍTULO 2 – *PLATYCODON GRANDIFLORUM* A ESPÉCIE DE ESTUDO

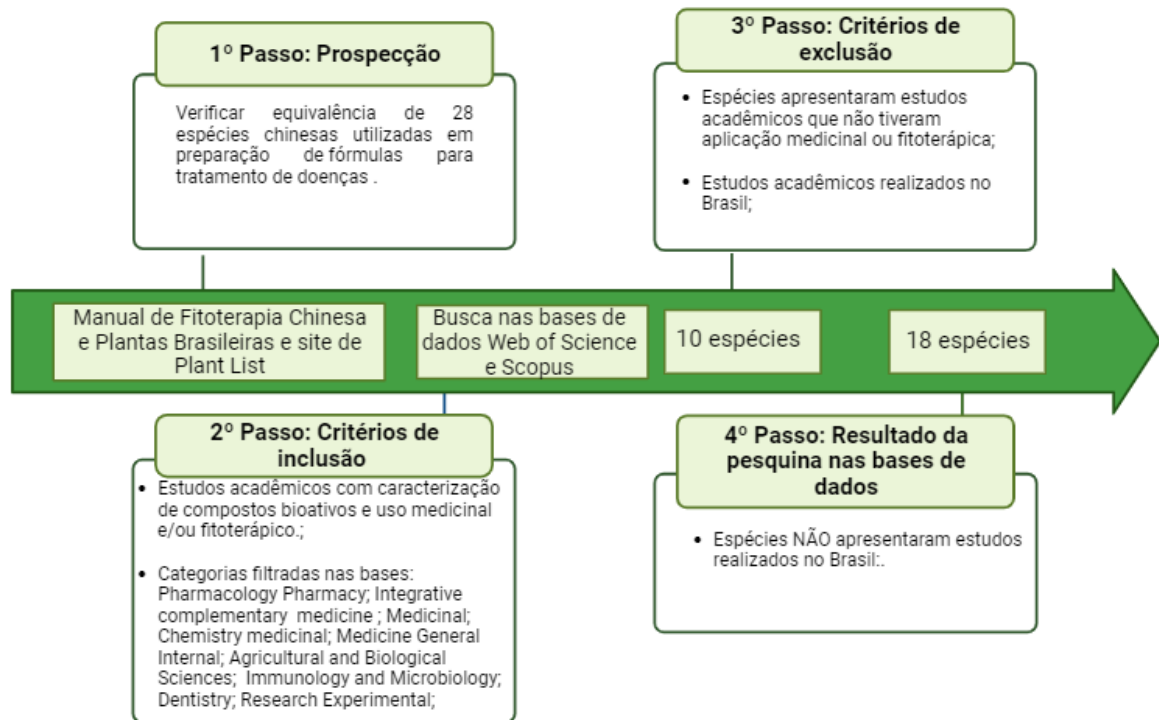
2.1 Seleção e aquisição da espécie de estudo

A espécie de estudo foi selecionada com o auxílio de uma especialista em MTC que sugeriu 28 espécies de plantas já utilizadas na MTC para levantamento de informações relativas a estudos publicados no Brasil com o intuito de verificar a existência de alguma espécie no país que fosse equivalente às espécies chinesas utilizadas na preparação de fórmulas para tratamento de doenças.

Para verificar as equivalências das espécies sugeridas, foi utilizado o Manual de Fitoterapia Chinesa e Plantas Brasileiras (LEITE, 2005) e o site The Plant List (2013) para a verificação do nome científico. Posteriormente, foi realizada uma busca, a partir do nome científico da espécie sugerida, nas bases de dados Web of Science e Scopus, com o objetivo de verificar a ocorrência de estudos acadêmicos baseados na caracterização de compostos bioativos e seu uso medicinal e/ou fitoterápico.

Na base de dados Scopus foi possível realizar uma busca mais refinada utilizando o campo “abstract”, já na base da Web foi utilizado o campo “todos os campos”, pois o campo “abstract” não estava disponível para buscas. Para ambas as bases, após o primeiro resultado, foram aplicados os filtros, por categorias e por Países/Regiões. O refinamento por categoria englobou 12 temas relacionados à pesquisa e aplicação de compostos químicos ou bioativos de plantas medicinais em ambas as bases. As categorias pesquisadas foram: Pharmacology; Toxicology and Pharmaceutics; Medicine; Integrative Complementary Medicine; Chemistry Medicinal; Pharmacy; Medicine General Internal; Medicine Research Experimental; Multidisciplinary, Dentistry; Immunology and Microbiology. Já no filtro para Países/Regiões foi selecionado apenas Brasil, para identificar a ocorrência de algum estudo sobre a espécie neste país (Figura 2.1) (Apêndice A).

Figura 2.1: Fluxograma da seleção de artigos para definição da espécie de estudo.



Fonte: Autora

Dentre as 18 espécies que ainda não haviam sido estudadas no Brasil, de acordo com o levantamento nas bases de dados, encontrava-se a espécie *Platycodon grandiflorum* e por meio de doação, critério de seleção da espécie, foram adquiridas 119 mudas, em 2019, com idade de três meses (Figura 2.2 (A e B)). Segundo o doador, as sementes do lote número 116.601/624810(DD 3130), com certificado número 0021734, foram adquiridas da Empresa Sakata Seed Sudamerica, com sede em Bragança Paulista que trabalha com sementes selecionadas e certificadas.

Figura 2.2: (A) Vasos com mudas de *P. grandiflorum* (Flor Balão), com idade de 3 meses com a parte aérea podada pelo doador; (B) Vaso com Flor balão da cor azul.



Fonte: Autora

2.2 Caracterização da espécie *Platycodon grandiflorum* (Jacq) A. DC.

Esta espécie é de grande relevância etnofarmacológica por ser a única do gênero *Platycodon* A. DC com histórico de uso fitoterápico datado de 2.000 anos atrás como expectorante. Registrado mais tarde em obras medicinais como a *Bencao Yanyi* (Dinastia Song, 1116 dC) e em trabalhos como o *Hanaoka Seishu* (Edo age of Japan, 1760–1835 A.D.), dentre muitos outros, esta erva perene, da família Campanulaceae, nativa da Rússia, China e Japão, é bastante popular no Brasil como planta ornamental, sendo conhecida como Flor Balão (JIANG *et al.*, 2023; ZHANG *et al.*, 2015).

Sua altura pode chegar a 120 cm, de caule simples, suas hastes geralmente são glabras, as folhas são adaxiais, verdes, com formatos ovalados, elípticos ou lanceolados, verticiladas com margens denteadas variando de 2 a 7 cm x 0,5 a 3,5 cm, com flores campanuladas, pentâmeras, com nervuras evidentes, podendo ser simples ou dobradas. Seus botões se assemelham a balões e as cores variam entre diferentes tonalidades de azul, roxo, rosa e branco e os tamanhos podem variar de 1,5 a 4,5 cm. Florescem de junho a setembro e frutificam de agosto a outubro. Fruto tipo cápsulas loculicidas (YING *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015).

Os rizomas de *P. grandiflorum*, foco deste estudo, são conhecidos no Japão e na Coreia como “*Platycodi Radix*”, na China como “*Radix Platycodi*” e no Vietnã como “*Radix Platycodi*”

Grandiflora". Seu tamanho pode variar de 5 cm a 20 cm de comprimento e 0,7 cm a 3 cm de diâmetro, dependendo da região de cultivo e das condições climáticas (ZHANG *et al.*, 2015).

Um problema que vem sendo relato, de acordo com Jeon *et al.* (2013), o cultivo contínuo de *P. grandiflorum*, devido à limitação de área para cultivo na China, vem causando o aumento das bactérias patogênicas do solo, levando a um desequilíbrio microecológico. Este fato associado a alta frequência de chuvas e a solos com baixa permeabilidade ocasionam a podridão dos rizomas desta espécie pelos fungos *Fusarium solani* e *F. oxysporum* o que vem diminuindo o rendimento dessa cultura na China em 40 a 50%.

A pressão pelo cultivo desta espécie pode ser relacionada ao fato de também ser considerada um alimento nutracêutico rico em aminoácidos (contém mais de 16, sendo que oito deles são essenciais), zinco, cálcio, ferro, potássio, fibras vegetais e outros elementos essenciais para a dieta humana. Seus rizomas são vendidos nos mercados livres da Coreia, Coreia do Sul, Japão e nordeste da China, onde são consumidos como alimento na forma de pickles, saladas, confecção de massas de macarrão ou em outros preparos de pratos, por ser considerada um alimento funcional (GURUNG *et al.*, 2022; ZHANG *et al.*, 2015). Tradicionalmente é utilizada na MTC para tratar diabetes, tosse, dor de garganta, catarro, e outros sintomas de inflamação respiratória aguda (JI *et al.*, 2020).

As fórmulas da MTC Kampo são utilizadas desde 1800 para tratar infecções respiratórias na China. Na pandemia da gripe espanhola em 1918, muitos pacientes foram tratados com fórmulas Kampo, de acordo com os sintomas ou estágios da doença. Dentre essas fórmulas a *daiseiryuto*, também conhecida como *shoseiryuto*, ou *kososan*, *shomakakkonto* ou ainda *saikatsugekito* (SGT) obteve respostas bem significativas para tratamento de doenças respiratórias infecciosas graves no Japão, como a gripe espanhola, onde foi relatado não haver mortes em pacientes tratados com a fórmula SGT (ARITA *et al.*, 2020; WATANABE *et al.*, 2011).

Mais recentemente, o surto de COVID-19 fez com que os extratos das ervas medicinais utilizados na fórmula SGT passassem por uma reformulação e fossem combinados com outras fórmulas Kampo como a *kikyosekko*. A fórmula *Kikyo* é feita de rizomas secos de *P. grandiflorum* que possui princípios ativos que vêm sendo estudados no combate do vírus SARS-CoV-2, o agente causador da pandemia global do coronavírus COVID-19. Seus princípios ativos impedem a entrada do vírus na membrana das células humanas, utilizadas como hospedeira do vírus, causando infecções inflamatórias graves e agudas (GURUNG *et al.*, 2022).

Estudos sobre esta espécie vem aumentando e vêm enfatizando sua diversidade farmacológica como por exemplo, ação antibacteriana, antioxidante, antitumoral, aumento da imunidade, redução dos níveis de açúcar do sangue, proteção do fígado (ZHANG *et al.*, 2022). Segundo Zhang *et al.* (2013) seu efeito expectorante está relacionado ao conteúdo total do composto platicodina, da classe das saponinas.

CAPÍTULO 3 - PROPOSTA DE SISTEMA AGROECOLÓGICO PARA O CULTIVO DE *P. GRANDIFLORUM*

3.1 Importância do cultivo agroecológico

Com o crescente uso de fitoterápicos, a pressão sobre as espécies medicinais nativas também aumentou. Segundo Canter, Thomas e Ernesto (2005), das 50 mil espécies de plantas medicinais utilizadas, cerca de dois terços são retirados na natureza. Essa pressão sobre as populações nativas pode levar a perda da biodiversidade genética e a destruição dos habitats. Diante disso, o cultivo de ervas medicinais vem se mostrando cada vez mais viável.

Entretanto, a forma de cultivo das ervas medicinais tem forte influência na qualidade do fitoterápico. O uso de técnicas adequadas como a preservação do solo, utilização de adubos verdes e manejo adequado influenciam na produção de bioativos, a níveis qualitativos e quantitativos, alterando a eficácia terapêutica dos fitoterápicos. Deste modo, os princípios do sistema agroecológico além de promover a biodiversidade apresenta como requisitos básicos a ausência de agrotóxicos, a fertilização orgânica, a possibilidade do uso de cobertura verde e morta, a associação entre plantas, o controle alternativo de plantas espontâneas e insetos, entre outros. E tem mostrado excelentes resultados possibilitando uma produção com qualidade, tanto do ponto de vista fitoquímico quanto microbiológico (BORSATO; JORGE; 2010). Segundo Mattos *et al.* (2006), práticas como o consórcio agroecológico tem se mostrado como alternativa viável e desejável para o cultivo de muitas espécies propiciando não só vantagens ambientais, mas também econômicas e sociais.

Ainda nesse contexto, o cultivo de ervas medicinais em sistemas agroecológicos consociado com outras espécies também atende aos propósitos agroecológico que tem como princípio o manejo de forma a evitar a erosão o que leva a melhoria das propriedades físico-químicas e hidrológicas do solo, a promoção da biologia do solo, a ciclagem de nutrientes, a rotação de culturas e o consórcio entre culturas, promovendo uma produção sustentável buscando equilíbrio entre os componentes bióticos e abióticos (ALTIERI, 2004³ *apud* FREITAS PAIXÃO, 2013).

A prática do consórcio entre as culturas, que consiste no cultivo de duas ou mais culturas em uma mesma área, é uma técnica de manejo que vem ganhando espaço por aumentar

³ ALTIERI (2004) – Agroecologia: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável. 4 ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2004

a produtividade e gerar diversos benefícios não só entre as culturas, mas também ao solo e ao ambiente (ARAÚJO; ARAÚJO FILHO; MARANHÃO, 2017). Um experimento de 2015, no Instituto de Pesquisa Agrícola da Universidade Agrícola de Shandong, na China, utilizou mudas de *P. grandiflorum* cultivadas continuamente por três anos, e montou um experimento sem consórcio e consorciado com pimentão (*Capsicum annuum*). O estudo estruturou o consórcio da seguinte forma, a cada duas fileiras de pimentão foram plantadas três (3:2), quatro (4:2) e cinco (5:2) linhas de *P. grandiflorum*, respectivamente. Os resultados mostraram aumento no rendimento total de raízes de *P. grandiflorum*, e nas raízes principais de 4,88%, 8,91% e 14,23, 12,92%, respectivamente, nas associações de cultivo onde haviam quatro linhas com *P. grandiflorum* e duas de pimentões (4:2) e na de cinco linhas de *P. grandiflorum* com duas de pimentões (5:2), quando comparado com o monocultivo. Além disso, a incidência da podridão radicular diminuiu significativamente. Esse resultado foi atribuído às raízes dos pimentões, por serem mais superficiais do que as raízes de *P. grandiflorum*, possibilitou uma distribuição radicular no solo por criar nichos espaciais diferentes, permitindo uma dinâmica mais vantajosa para as raízes de *P. grandiflorum*. Verificou-se também que no consórcio (4:2) houve aumento na concentração de proteínas e saponinas (metabólito secundário), nas raízes, quando comparado com os outros dois consórcios (3:3 e 5:2) (ZHANG *et al.*, 2018).

Um outro estudo realizado por Cesar *et al.* (2007), em Seropédica, RJ, cultivou pimentão (*Capsicum annuum*) sem consórcio e consorciado com *crotalária juncea*, sem desbaste e com desbaste da *C. juncea*, a partir do terceiro ramo e lançada ao solo nos pés de pimentões. O resultado foi o aumento no tamanho dos frutos e ganho de produtividade, dos frutos de pimentões que tiveram seus pés cobertos com o material vegetal oriundo dos desbastes, quando comparado com a monocultura e com o consórcio sem desbaste da *C. juncea*. Observou-se ainda que houve um incremento do teor de nitrogênio nos frutos derivado da matéria orgânica do consórcio com desbaste da *C. juncea*.

Os estudos mostram excelentes resultados ao consorciar *P. grandiflorum* com o pimentão (*Capsicum annuum*) e com *C. juncea* promovendo um melhor desenvolvimento dos rizomas de *P. grandiflorum* e aumento na produtividade. Desta forma, escolhemos três variedades de pimentas *Capsicum* a espécie *C. Juncea* para compor o consórcio exploratório proposto neste estudo, devido a viabilidade econômica das pimentas e aos excelentes resultados obtidos nos estudos citados.

Da família Solanaceae, as pimentas são organizadas em agrupamentos de espécie, variedade e cultivar. O gênero *Capsicum*, um dos gêneros mais cultivados, possui

aproximadamente 25 espécies (MELO *et al.*, 2014). Com grande valor de mercado, as pimentas possuem uma grande variação morfológica, sua forma, tamanho e cor dos frutos permite a esta espécie apresentar uma enorme diversidade de cultivares e podem ser cultivadas em todas as regiões do Brasil. Segundo Ribeiro *et al.* (2008), a pimenta é uma planta medicinal e suas principais substâncias ativas são a capsaicina e a capsantina, além disso, é rica em vitaminas A, C, E, B1, B2, fósforo, potássio, cálcio, carotenóides e antioxidantes, e segundo Zhang *et al.* (2018) apresenta ação antifúngica.

A *crotalaria juncea*, da família das Fabaceae, se desenvolve bem em solos com pH que variam de 5,0 a 7,0, solos ácidos, possui crescimento rápido e adicionam nitrogênio, por meio de simbiose, devido à associação de suas raízes com bactérias que formam nódulos e fixam nitrogênio no solo, especialmente a bactéria do gênero *Rhizobium*, promovendo melhor interação entre solo-planta. Além disso, produzem grande quantidade de biomassa, podendo ser utilizada para cobrir o solo, auxiliando no manejo de plantas invasoras, melhorando também a retenção de água (LIMA FILHO *et al.*, 2023).

3.2 Metodologia

3.2.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi feito na área do Laboratório de Referência Nacional em Agricultura de Precisão (Lanapre), pertencente a Embrapa Instrumentação, São Carlos, contendo 5 hectares, localizado na Estrada Municipal Guilherme Scatena, a área encontra-se a 860 m de altitude nas coordenadas geográficas 21°57'13.9" S e 47°51'10.9" O.

Localizada no município de São Carlos, a área está inserida no bioma Cerrado e a maior parte do solo é classificado como um Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (SANTOS *et al.*, 2018). O clima é classificado como verão quente e inverno seco ou verão úmido e inverno seco (Aw) (ALVARES *et al.*, 2013). As estações do ano são bem definidas, com um período chuvoso entre outubro e fevereiro e um período seco que vai de março a setembro (SARTORELLI *et al.*, 2007).

3.2.2 Dados climáticos e análise química do solo

Os dados meteorológicos do ano de 2020, 2021 e 2022, referente às variáveis, temperaturas médias máximas e mínimas, precipitação e radiação solar, foram coletados

diariamente na estação agrometeorologia automática localizada na Embrapa Pecuária Sudeste, distante 1,657 m do Lanapre, onde está localizado o experimento, nas coordenadas geográficas 21° 57' 42" S, 47° 50' 28" O, a 860 m de altitude. Estas informações compiladas mensalmente encontram-se no Apêndice B.

Antes de instalarmos o experimento, foram feitas quatro coletas aleatórias de amostras do solo para determinação dos atributos químicos. Após o término do experimento, outras quatro amostras aleatórias foram coletadas para verificar se houve alteração significativa aos atributos químicos do solo. Três amostras foram coletadas na profundidade de 0,0 m – 0,20 m e uma, na profundidade de 0,20 m – 0,40 m do solo. Cada amostra foi composta por subamostras coletadas em 20 pontos, determinados pelo caminhar em ziguezague. As subamostras foram colocadas em um balde plástico para a composição de uma amostra composta (ARRUDA; MOREIRA; PEREIRA, 2014) De cada amostra composta, foram retiradas 500 gramas para secagem ao ar e à sombra, passagem por peneira de 2 mm e obtenção de amostra de terra fina seca ao ar (TFSA) para envio ao laboratório. As amostras coletadas antes e depois foram encaminhadas para a Embrapa Agropecuária Sudeste, localizadas no município de São Carlos – SP, para análise de macro e micro nutrientes e teor de matéria orgânica e avaliação da necessidade de calcário onde foi utilizado a metodologia (VAN RAIJ *et al.*, 1997) para a realização das análises químicas. Foram obtidas as seguintes análises: pH da solução do solo em CaCl_2 , quantificação da matéria orgânica do solo (M.O.) em g.dm^{-3} , fósforo em resina (P) em mg.dm^{-3} , alumínio trocável (Al+3) em mmolc.dm^{-3} , acidez potencial do solo (H+Al+3) em mmolc.dm^{-3} , potássio (K) em mmolc.dm^{-3} , cálcio (Ca) em mmolc.dm^{-3} , magnésio (Mg) em mmolc.dm^{-3} , soma de bases (SB) em mmolc.dm^{-3} , capacidade de troca de cátions do solo (CTC) em mmolc.dm^{-3} , saturação de bases (V%) em mmolc.dm^{-3} , enxofre (S) em mg.dm^{-3} , boro (B) em mg.dm^{-3} , cobre (Cu) em mg.dm^{-3} , ferro (Fe) em mg.dm^{-3} , manganês (Mn) em mg.dm^{-3} , e zinco (Zn) em mg.dm^{-3} .

3.2.3 Preparo da área e delineamento experimental exploratório do consórcio agroecológico

3.2.3.1 Preparo da área

Para a correção do solo foi considerado os resultados dos teores químicos da análise de acordo com a Tabela 3.1, seguindo a recomendação do Boletim 100 (VAN RAIJ *et al.*, 1997). O tratamento para a correção do solo teve início em agosto de 2019. O solo da área foi gradeado com discos de 28 polegadas, e, posteriormente, efetuado uma calagem, para correção

da acidez, utilizado um total de 271,15g calcário dolomítico mineral, associado a uma adubação com NPK (04-14-08) para uma área total de 77,62 m². A área foi dividida em m² onde foram espalhados 3,19g de calcário por m², posteriormente o calcário foi misturado utilizando um arado com discos de 28 polegadas. A irrigação foi feita no dia posterior a calagem (Figura 3.1 (A, B, C e D)).

Figuras 3.1: Correção de calcário: (A) divisão da área por metro; (B) divisão do calcário por m²; (C) lançamento do calcário a mão na área por m²; (D) arado misturando o calcário na área.



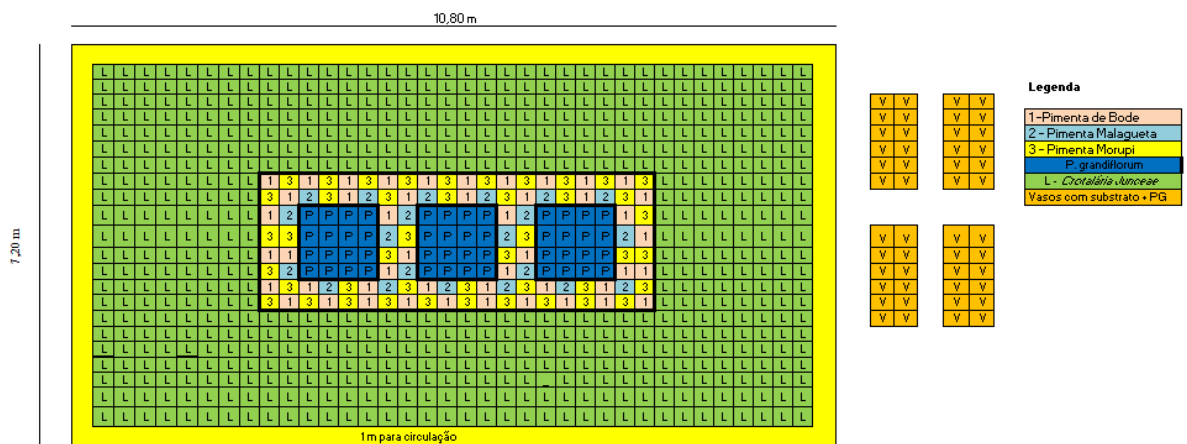
Fonte: Autora.

3.2.3.2 Delineamento experimental exploratório

O experimento foi instalado em uma área total de 77,62 m², sendo 10,80 m de comprimento e 7,20 m de largura mais 1 m de cada lado para circulação, os tratamentos foram representados com a espécie *P. grandiflorum* (Flor Balão) da cor azul consorciada com três variedades de pimentas do gênero *Capsicum*, a *C. variedade chinensis* (pimenta de Bode), *C. var. frutescens* (pimenta Malagueta) e *Capsicum* ssp (pimenta Murupi) e a Crotalária (*Crotalaria juncea*), que foi conduzida com manejo e desbastes na altura da terceira

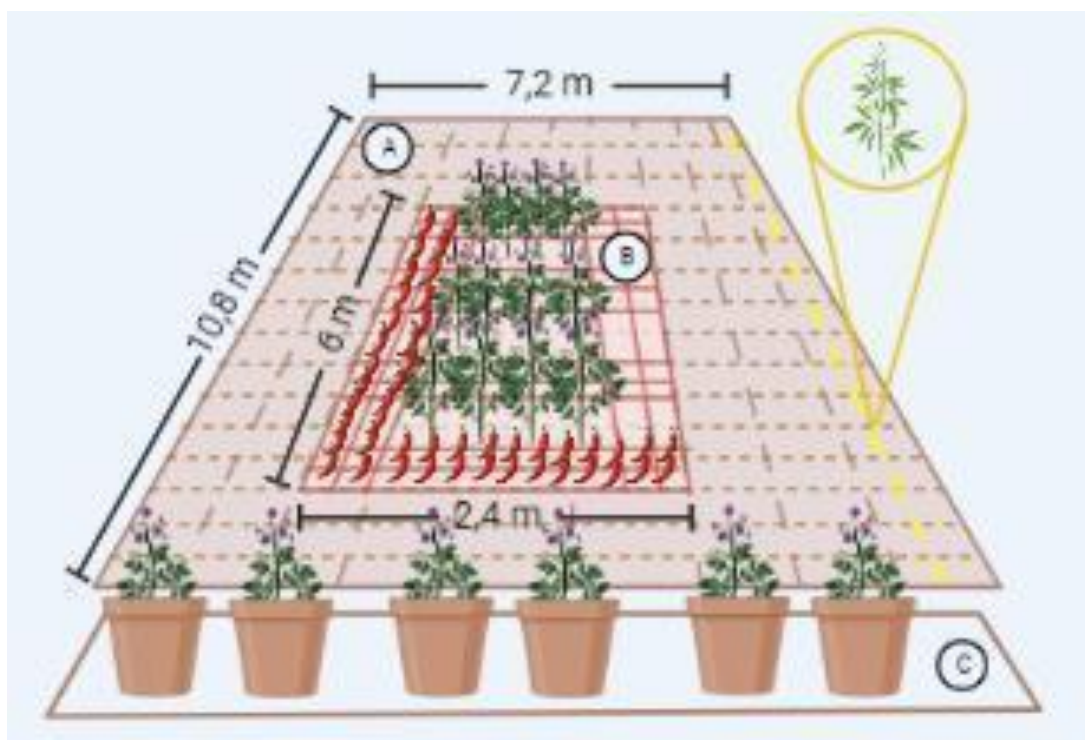
bifurcação. Os espaçamentos entre as plantas foram de $0,30 \times 0,30$ m em todo experimento. A área para o plantio das sementes de *C. juncea* foi dividida em linhas com espaçamento de $0,30$ m \times $0,30$ m nas entrelinhas, totalizando 48 linhas. Para o plantio do consórcio das pimentas do gênero *Capsicum* com a espécie de *P. grandiflorum* uma área total de $14,40$ m² distribuídas em quatro parcelas de $1,20 \times 1,20$ m com $0,60$ m entre as fileiras das parcelas. Em cada parcela foram plantadas 16 mudas com espaçamento de $0,30 \times 0,30$ m entre fileiras e mudas ($16 \times 3 = 48$). Ao redor, circulando as parcelas de *P. grandiflorum*, foram plantadas mudas de pimenta no espaçamento de $0,30 \times 0,30$ m entre linhas e plantas. Ao lado da área total do consórcio experimental, foram cultivadas mudas de *P. grandiflorum* plantadas em vasos, divididas em oito colunas, com cinco vasos em cada coluna, totalizando 40 vasos (Figura 3.2a e 3.2b).

Figura 3.2a: Croqui do delineamento das espécies de estudo em campo.



Fonte: Autora.

Figura 3.2b: Esquema do croqui do delineamento das espécies de estudo em campo. (A) Área para o plantio das sementes de *C. juncea* dividida em linhas com espaçamento de 0,30 x 0,30 m nas entrelinhas totalizando 48 linhas (B) Área para o plantio do consórcio das pimentas do gênero *Capsicum* com a espécie de *P. grandiflorum* distribuídas em quatro parcelas de 1,20 x 1,20 m com 0,60 m entre as fileiras das parcelas. Em cada parcela foram plantadas 16 mudas com espaçamento de 0,30 x 0,30 m entre fileiras e mudas. Ao redor, circulando as parcelas de *P. grandiflorum*, foram plantadas mudas de pimenta no espaçamento de 0,30 x 0,30 m entre linhas e plantas. (C) Mudas de *P. grandiflorum* plantadas em vasos, divididas em oito colunas, com cinco vasos em cada coluna, totalizando 40.



Fonte: Autora.

3.2.3.3 Plantio das espécies e tratos culturais

Um total de 88 mudas de *P. grandiflorum*, da flor azul, com idade de 12 meses, foram cultivadas em solo. Destas, 48 mudas foram distribuídas em três parcelas e 40 mudas transplantadas em vasos de plástico de 22 litros. Cada vaso continha substrato composto de: 4,8 kg de esterco de vaca, 3,2 kg de terra vegetal e 8,7 kg de terra da área das parcelas citadas acima. No fundo dos vasos foram colocados 300 gramas de cascalho para auxiliar na drenagem da água (Figura 3.3 – A, B, C e D). Amostras de rizomas foram coletadas nos meses de abril e julho, e após uma semana da coleta, foram realizadas podas radicais das partes aéreas das *P.*

grandiflorum, cultivadas em solo e vaso. No cultivo consorciado, após um dia do plantio das mudas de *P. grandiflorum* foram semeadas sementes de *C. juncea*. Para o plantio das sementes a área foi dividida em linhas com espaçamento de 0,30 x 0,30 m nas entrelinhas, totalizando 48 linhas. Desse total, 32 linhas mediam 10,8 m² e 16 linhas mediam 2,5 m² onde foram semeadas, manualmente, 30 a 40 unidades de sementes de *C. juncea* por metro linear, em cada linha. A adubação para o plantio foi calculada como fonte isolada baseada na indicação do Boletim Técnico 100 (VAN RAIJ *et al.*, 1997). Foram abertos sulcos ao longo das linhas onde foi aplicado o adubo e na sequência, ao lado do adubo, foi semeada *C. juncea* (Figura 3.3 – E e F)

As mudas de pimentas da variedade *Capsicum* foram adquiridas de um viveiro de São Carlos e transplantadas 30 dias após o plantio da *P. grandiflorum* e da *C. juncea*. As mudas foram plantadas em duas linhas, circulando as parcelas de *P. grandiflorum* no espaçamento de 0,30 x 0,30 m entre linhas e plantas. As linhas externas receberam mudas de pimenta de Bode e Murupi alternadamente. Já as linhas internas, receberam mudas das pimentas de Bode, Murupi e Malagueta também de forma alternada (Figura 3.3 – G e H).

Figura 3.3: Plantio da espécie de estudo no solo e vaso e plantio das espécies do consórcio exploratório. (A) Abertura de covas para plantio da *P. grandiflorum* com (B) mudas de *P. grandiflorum* plantadas no espaçamento de 0,30 x 0,30 m. (C) Preparo da área para plantio das sementes de *Crotalaria juncea* e (D) distribuição das sementes de *C. juncea* por metro linear nas linhas. (E) Preparo das covas para plantio das mudas de pimenta e (F) mudas de pimentas já plantadas.





Fonte: Autora.

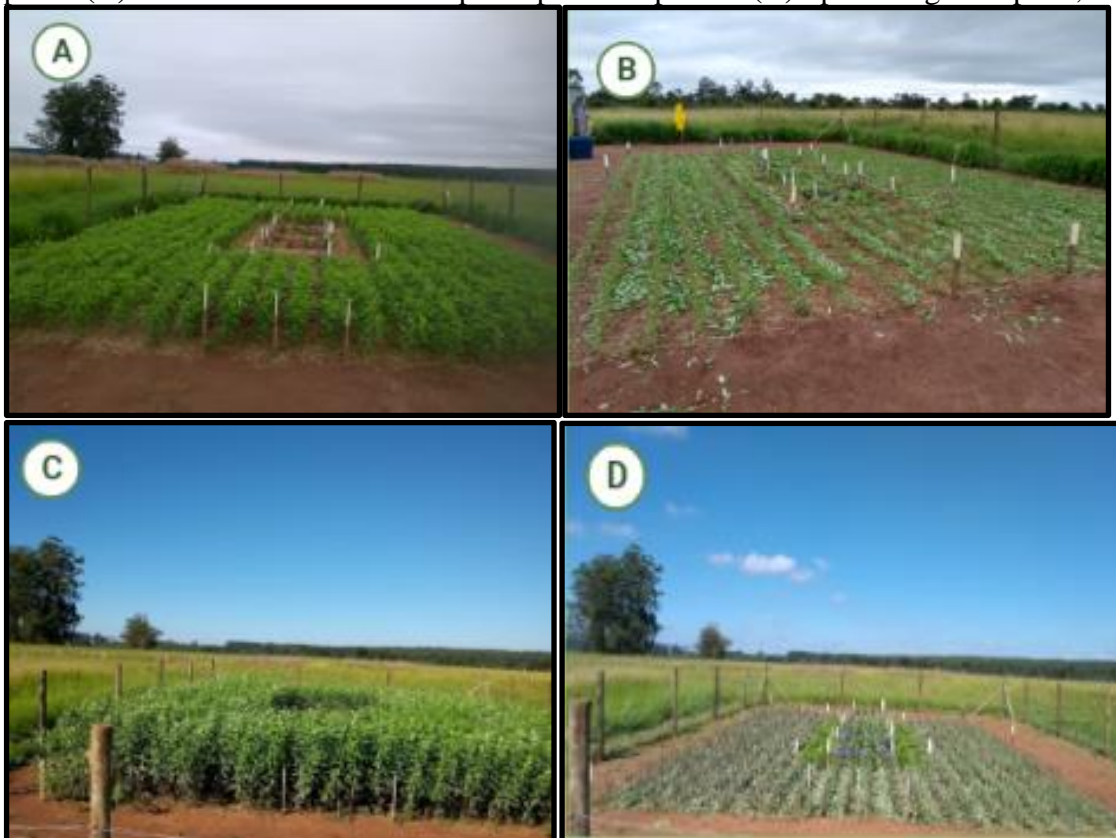
Após 40 dias do plantio da crotalária foi feita a primeira poda, a partir da terceira bifurcação, esse procedimento foi repetido novamente após 32 dias da primeira poda, devido a Pandemia (Figura 3.4 – A, B, C e D). Com o início da Pandemia de Covid -19 em março de 2020, medidas de segurança foram tomadas para auxiliar na contenção da propagação e combate ao vírus junto à população. Apesar das atividades de campo estarem permitidas, deveriam continuar alternando os turnos (manhã — tarde) de trabalho, evitando assim que duas ou mais pessoas trabalhassem juntas no mesmo espaço. Durante esse período foram realizadas

apenas as atividades básicas como irrigação, coleta de rizomas e frutos de pimentas. Em outubro do corrente ano foi replantado crotalária no experimento que permaneceu até abril de 2021.

Com o replantio da crotalária, após 40, 80 e 120 dias, contados a partir da primeira poda, que foram realizadas a partir da terceira bifurcação. Em cada plantio de crotalária, foram aplicados nas linhas um total de 712 g de P₂O₅ e 160 g KCl, que foram divididos em 16 saquinhos contendo 40 g de P₂O₅ e 16 saquinho contendo 9 g KCl e foram distribuídos nas linhas de 10,8 m. Para as linhas de 2,5 m foram preparados 8 saquinhos contendo 9 g de P₂O₅ e 8 contendo 2 g de KCl.

O modelo inicial de delineamento experimental passou por alterações ao longo do período do experimento. A configuração inicial do consórcio, *P. grandiflorum*, crotalária e pimentas do gênero *Capsicum* permaneceu até abril de 2020. No período de abril a novembro de 2020 o consórcio foi dividido apenas entre a *P. grandiflorum* e as três variedades de pimentas do gênero *Capsicum*. Com o replantio da crotalária retornamos à configuração inicial do período de novembro de 2020 a abril de 2021. E por fim, de maio de 2021 a abril de 2022 cultivamos apenas as mudas de *P. grandiflorum*.

Figura 3.4: Poda da *C. juncea* (A) com 40 dias após o primeiro plantio e (B) após a primeira poda. (C) Crotalária com 40 dias após a primeira poda e (D) após a segunda poda, em 2020.



Fonte: Autora.

A irrigação foi feita manualmente por meio de irrigadores três vezes na semana, para índices de suplementação hídrica para não haver estresse hídrico excessivo nas mudas, sempre no início da manhã. Durante a condução do experimento foi realizado poda nos pés de pimentas para evitar competição por espaço.

3.2.3.4 Levantamento de preço das pimentas cultivadas

O levantamento de preços das pimentas da variedade *Capsicum* (Malagueta, Murupi e Bode) ocorreram nos meses de agosto e setembro de 2021. Devido ao momento que estávamos vivendo optei por realizar o levantamento nas CEASAS. Consegui contactar a CEAGESP de São Paulo, a CEASA Paraná (CEASA - PR), a CEASA do Espírito Santo (CEASA - ES), a CEASA do Rio de Janeiro (CEASA-RJ), a CEASA de Minas Gerais, grande Belo Horizonte (CEASA-MG), a CEASA de Ceará (CEASA - CE) e a CEASA de Goiânia (CEASA - GO). As CEASAS contactadas para a realização desse levantamento agrupam as pimentas em classes genéricas como, por exemplo, a CEAGESP classifica como pimentas Cambuci, Verde, Americana e Vermelha, a CEASA-PR como pimentas Dedo de Moça e Cambuci, a CEASA-ES classifica todas apenas como pimentas, e somente a CEASA-GO e CEASA-MG distinguem os tipos das pimentas. Desta forma, optamos trabalhar com os valores de mercado praticados nas CEASA-GO e CEASA – MG, por distinguirem os tipos de pimentas cultivadas nesse estudo.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Análise química do solo

As amostras de solo analisadas antes e após o final do experimento exploratório demonstraram que não houve uma diferença significativa em relação ao pH, o qual se manteve ácido, variando de pH 5,7 a 5,9 na camada de 0,0 a 0,20 cm e de pH 5,0 a 5,7 na camada 0,20 a 0,40 cm, respectivamente. Apesar da correção da acidez do solo ter sido realizada com calcário antes de iniciar o experimento exploratório, houve um aumento de quatro dígitos na acidez potencial do solo ($H^+ + Al^3$) nas camadas de 0,0 a 0,20 m, e na camada de 0,20 a 0,40 m um aumento de 8 oito dígitos (Tabela 3.1). De acordo com Oliveira *et al.* (2005) os solos do

cerrado são ácidos muitas vezes devido ao material de origem ser pobre ou devido a intensa ação dos agentes dos processos de intemperismo, ou ainda devido a cultivos e adubações anteriores.

Tabela 3.1: Análise do solo onde foram cultivados os rizomas da espécie *P. grandiflorum*, antes e após o experimento.

	pH	M.O.	P	AL ³	H ⁺ +AL ³	K	Ca	Mg	SB	CTC	V	S.SO ₄	Cu	Fe	Mn	Zn	
	CaCl ₂	g.dm ⁻³	Mg. Dm ⁻³	-----mmolc.dm ⁻³ -----								%	-----mg.dm ⁻³ -----				
Antes - Amostra 01 0 a 20 cm	5,0	28	4	1	24	2,3	19	9	30	54	56	1	0,7	38	2,0	0,6	
Depois - Amostra 01 0 a 20 cm	5,1	30	16	1	28	1,6	22	10	34	61	55	4	0,7	30	1,8	0,5	
Antes - Amostra 02 0 a 20 cm	5,1	26	3	1	23	2,0	20	11	33	56	59	7	1,0	32	3,3	0,8	
Depois - Amostra 02 0 a 20 cm	5,0	26	14	1	27	1,7	20	10	32	59	54	6	0,8	25	2,3	0,7	
Antes - Amostra 03 0 a 20 cm	5,9	27	3	0	20	1,9	21	11	34	54	63	7	0,6	27	2,3	0,4	
Depois - Amostra 03 0 a 20 cm	5,0	28	13	1	28	1,5	21	11	34	61	55	8	0,7	23	2,2	0,5	
Antes - Amostra 04 20 a 40 cm	5,0	17	1	3	40	0,9	15	5	21	61	34	16	0,8	29	0,5	0,2	
Depois - Amostra 04 20 a 40 cm	5,0	18	5	0	25	1,6	19	8	29	54	53	8	0,5	19	0,5	0,2	

pH: índice de acidez da solução do solo; M.O.: matéria orgânica do solo, AL: Alumínio trocável; H+Al: acidez potencial; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; SB: soma bases; CTC: capacidade de troca de cátions; V (%): saturação de bases; S: enxofre; Bo: boro; CU: cobre; Fe: ferro; Mn: manganês; Zn: zinco.

Fonte: Autora

Em relação aos valores do Fósforo (P), houve um aumento da sua disponibilidade após a finalização do experimento exploratório. Já o Potássio (K) teve seus níveis ligeiramente diminuídos, com exceção da Amostra 04 que apresentou um aumento de sete dígitos (Tabela 3.1).

A soma de bases (SB) e capacidade de troca de cátions (CTC), não apresentaram alterações relevantes após o experimento (Tabela 3.1) enquanto que a saturação de bases (V) nas amostras analisadas após o experimento, com exceção da Amostra 04 (0,20 a 0,40 cm) que aumentou. Entretanto, conforme a Classificação de (RONQUIM, 2010), solos com V acima de 50% são classificados como eutróficos, ou seja, com elevada fertilidade natural. Os resultados referentes ao Ca (cálcio), Mg (magnésio) e P (fósforo) não apresentaram diferença significativa ao final do experimento, com exceção do k (potássio) que apresentou um aumento de seis a sete dígitos nas camadas de 0,0 a 0,20 m e um aumento de quatro dígitos na camada de 0,20 a 0,40 m (Tabela 3.2).

Um estudo realizado na China em 2018 (CHOI; LEE, 2018) que investigou as características do solo com cultivo de *P. grandiflorum*, doentes e saudáveis, em diferentes idades, visando determinar as condições ambientais para um cultivo estável a longo prazo e para a redução da podridão radicular, relataram que o pH variou entre 4,61 a 5,25 em todos os cultivos, indicando uma distribuição levemente ácida a ácida. O conteúdo médio de matéria orgânica (MO) encontrado foi de 25,04 g/kg, e a relação dos teores médios de K, Ca e Mg encontrados variaram entre 0,27 ~ 0,34 cmol/kg para K, 5,91 ~ 6,62 cmol/kg para Ca e 1,01 ~ 1,20 cmol/kg para Mg, na camada de 0 a 20cm. Outro estudo realizado por Jung *et al.* (1996) sobre a química do solo de áreas cultivadas com plantas medicinais na Coreia, relataram que os conteúdos médios de K, Ca e Mg foram 0,43; 4,5 e 0,8 cmol/kg e o conteúdo médio de matéria orgânica foi de 25 g/kg.

Comparando os dados com os resultados do pH encontrado neste estudo, verificamos que o pH, nas camadas de 0,0 a 0,20 cm antes e após a implantação do experimento, estão dentro dos valores encontrados no estudo de Choi e Lee (2018), onde o pH variou entre 4,61 a 5,25. E de acordo com Arnold (2004⁴ *apud* RUBENECIA *et al.*, 2014), solos ácidos variando de pH 5,6 a 6 favorecem o melhor crescimento de *P. grandiflorum*, entretanto esta espécie pode tolerar solos com pH mais elevado, por exemplo, pH 7,6. O conteúdo médio de MO, (27 g/kg)

⁴ ARNOLD (2004) – *Platycodon grandiflorum*. Landscape plants for Texas and Environs. <http://aggiehorticulture.tamu.edu/syllabi/608/Lists/second%20ed/Platycodongrandiflorus.pdf> (accessed 5 July 2019)

foi superior aos encontrados nos estudos realizados por Choi e Lee (2018) e Jung *et al.* (1996) que verificaram entre 23 a 25,04 g/kg e 25 g/kg, respectivamente.

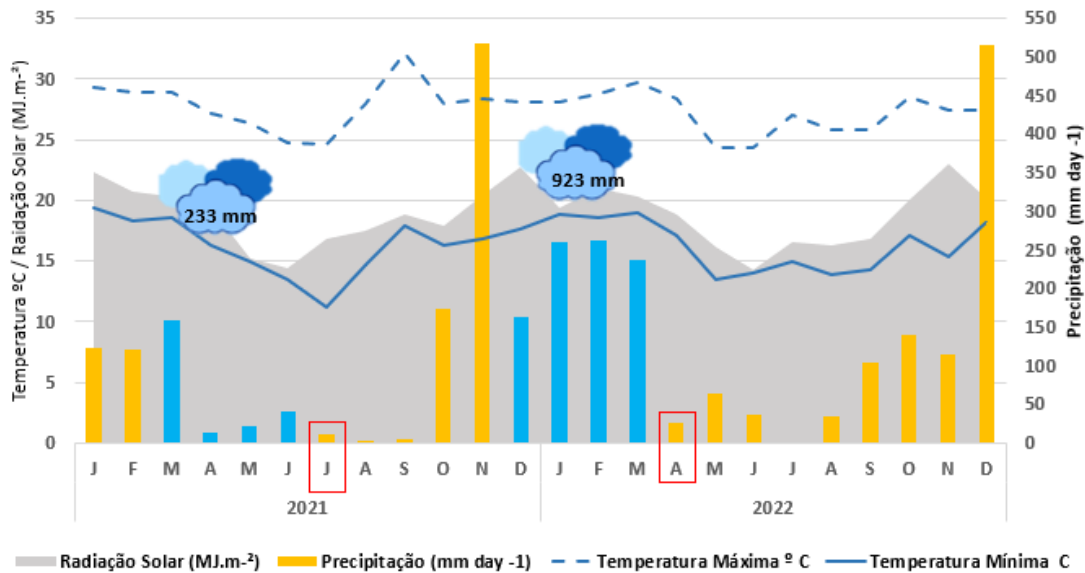
No entanto, de acordo com Souza e Lobato (2004), é uma característica dos solos latossolos do cerrado apresentar baixa quantidade de bases trocáveis (Ca, Mg e K) uma vez que há remoção dessas bases do perfil do solo devido ao processo denominado latolização, característica de solos muito antigos. Além disso, são solos distróficos e ácidos que apresentam pH entre 4,0 e 5,5 e baixos teores de fósforo (P) disponíveis.

3.3.2 Atributos climáticos

Para a análise das condições climáticas, foram considerados os quatro meses anteriores à coleta dos rizomas feita em julho de 2021 (março, abril, maio e junho) e os quatro meses anteriores à coleta de rizomas feita em abril de 2022 (dezembro de 2021, janeiro a março de 2022).

Os resultados dos dados climáticos coletados na estação agrometeorológica, indicam que as temperaturas médias máximas foram de 26 e 29 °C e as mínimas de 16 e 19 °C, nos meses de março, abril, maio e junho que antecederam as coletas de amostras de rizomas do mês de J-21 (julho/2021) e nos meses de dezembro de 2021, janeiro a março de 2022, que antecederam as coletas no mês de A-22 (abril/2022), respectivamente. A precipitação total foi 233 mm e 923 mm nos meses que antecederam as coletas de amostras de rizomas no mês de J-21 (julho/2021) e A-22 (abril/2022), respectivamente, apresentando uma amplitude média de 690 mm. A radiação solar apresentou médias entre 17 e 21 MJ.m⁻², respectivamente para os períodos já citados anteriormente antes das coletas realizadas em J-21(julho/2021) e A-22 (abril/2022) (Figura 3.5).

Figura 3.5: Precipitação, temperaturas máximas e mínimas do ar e radiação solar de referência para o ano de 2021 e 2022.

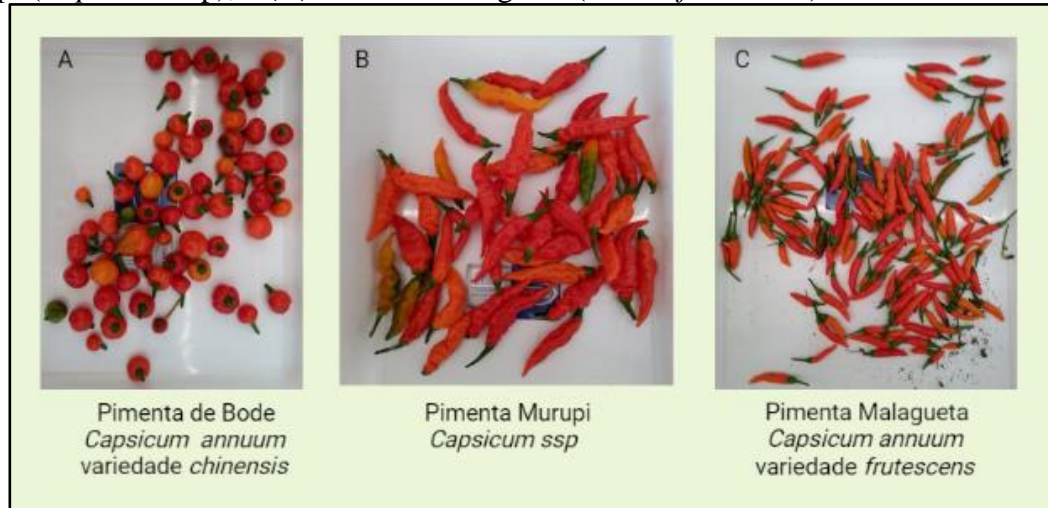


Fonte: Autora.

3.3.3 - Produção e precificação dos frutos das pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas no experimento

As pimentas da espécie *Capsicum annuum* incluem as variedades *C. frutescens* e *C. chinenses*. Neste estudo a espécie *Capsicum annuum* variedade *chinensis* (pimenta de Bode), *Capsicum ssp* (pimenta Murupi), e, *Capsicum annuum* variedade *frutescens* (pimenta Malagueta) foram cultivadas em solo formando uma bordadura ao redor das parcelas com plantas de *P. grandiflorum* durante o período de um ano (abril/2020 a abril /2021) (Figura 3.6 – A, B e C).

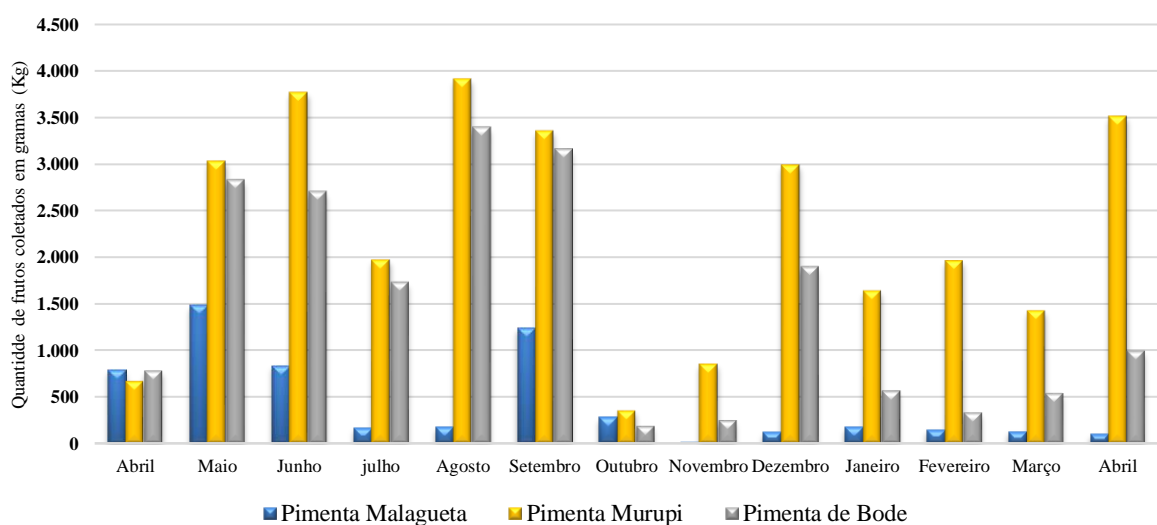
Figura 3.6: Variedades de pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas na bordadura ao redor das parcelas com mudas de *P. grandiflorum*. (A) Pimenta de Bode (*C. var. chinensis*), (B) Pimenta Murupi (*Capsicum* ssp), e (C) Pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*).



Fonte: Autora.

As pimentas floresceram após 30 dias de plantio e a primeira colheita de frutos ocorreu após 58 dias. O volume total produzido nesse período da pimenta Malagueta foi de 5.632 kg, da pimenta Murupi foi de 29.466 kg e da pimenta de Bode foi de 19.371 kg.

Figura 3.7: Peso dos frutos frescos das pimentas do gênero *Capsicum*, Pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*), Pimenta Murupi (*Capsicum* ssp), e Pimenta de Bode (*C. var. chinensis*), produzido durante o período de um ano (abril 2020 e abril 2021).



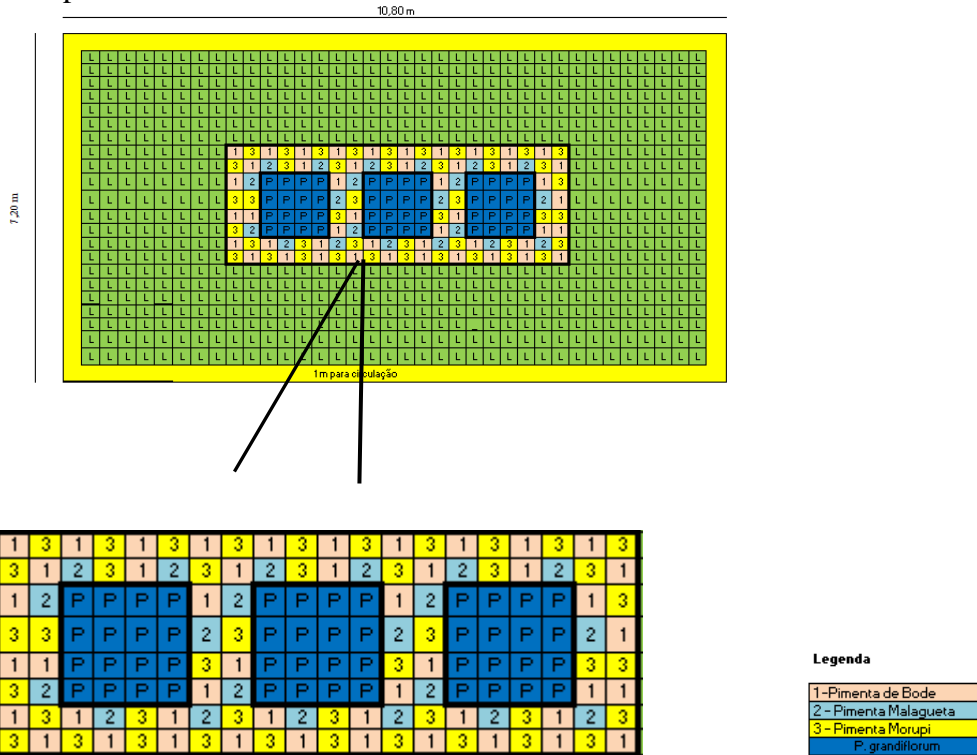
Fonte: Autora

Na Figura 3.7 observamos a sazonalidade das pimentas cultivadas no experimento, e os meses com maior produção para a pimenta Malagueta foram maio e setembro, quando foram colhidos um total de 2,726 kg (1,485 e 1,241 kg). Já para a pimenta Murupi foram os meses de junho e agosto de 2020 e abril de 2021, onde foram colhidos um total de 11,032 kg (3,768 kg, 3,912 kg e 3,513 kg) e para a pimenta de Bode os meses de maior produção foram agosto e setembro totalizando 6,552 kg (3,393 e 3,159 kg) (Figura 3.7).

Na CEASA-GO, a pimenta de Bode teve seu preço médio cotado no ano de 2020 em R\$15,00/kg e nos quatro primeiros meses do ano de 2021 o preço médio foi de R\$12,00/kg. Já para a pimenta Malagueta, o preço médio cotado em 2020 e 2021 foi de R\$17,50/kg. Na CEASA-MG a pimenta Malagueta apresentou preço médio foi R\$30,00/kg para o ano de 2020 e nos quatro primeiros meses do ano de 2021 o preço médio caiu para 28,60/kg. Não foi possível levantar preços médios da pimenta Murupi.

Nesse estudo a produção dos frutos das pimentas foi obtida em uma área de 10,08 m² (Figura 3.8), se vendida nos CEASAs onde foi possível realizar o levantamento de preço, os valores médios levantados neste estudo, alcançariam, para os respectivos meses citado, R\$ 43,51 e R\$ 36,36, para a pimenta Malagueta, considerando o preço médio de R\$ 29,30. No caso da pimenta Murupi, como não foi possível levantar informação específica sobre preço, foi considerado uma estimativa baseada no valor médio calculado para a pimenta de Bode R\$13,50. Portanto, alcançariam valores médios de R\$50,87 para o mês de junho, R\$52,82 para agosto e R\$47,45 em abril de 2021. Para a pimenta de Bode, nos meses de R\$38,14; R\$45,80 e R\$42,64 nos meses de maior produção, maio, agosto e setembro de 2020.

Figura 3.8: Croqui do consórcio das variedades de pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas no experimento



Fonte: Autora.

Considerando a produção total de frutos durante o período de abril/2020 a abril/2021, e os valores médios alcançados no mercado atacadista, estima-se que a produção total alcançaria os seguintes valores: R\$ 165,02 (5,632 kg); R\$ 397,79 (29,466 kg) e R\$ 261,50 (19,371 kg), para as pimentas Malagueta, Murupi e Bode, respectivamente, sem considerar os custos de produção. Extrapolando essa produção anual de frutos para uma área 10.000 m² (1 hectare) podemos inferir que seriam produzidos cerca de 5.587,301 kg (R\$ 163.707,92) de pimenta Malagueta, 29.232,143 kg (R\$ 394.633,93) de pimenta Murupi e 19.217,262 kg (R\$ 259.433,00) de pimenta de Bode, respectivamente.

No mercado local de São Carlos, em 2023, foi possível verificar que as três variedades de pimenta (Malagueta, Murupi e Bode) são vendidas *in natura* ao preço de R\$59,90, R\$69,90 e R\$74,90 o quilo.

3.4 Principais pontos de avaliação da proposta do consórcio agroecológico

De acordo com alguns autores, o cultivo contínuo de *P. grandiflorum*, devido à limitação de área para cultivo na China, vem causando o aumento das bactérias patogênicas do solo, levando a um desequilíbrio microecológico. Este fato associado a alta frequência de chuvas e a solos com baixa permeabilidade ocasiona a podridão das raízes desta espécie pelos fungos *Fusarium solani* e *F. oxysporum* o que vem diminuindo o rendimento da produção dessa cultura na China em 40 a 50% (JEON *et al.*, 2013). A podridão radicular também é encontrada aqui no Brasil em culturas como a do feijão, soja e tomate (SILVA *et al.*, 2015). Portanto, as espécies selecionadas para compor o consórcio exploratório, como as pimentas do gênero *Capsicum* e a *Crotalaria juncea*, tiveram como propósito melhorar a qualidade do solo e gerar renda.

Zancanaro (2008), comenta que as pimentas são cultivadas em todas as regiões do Brasil e que são muito importantes para a economia da agricultura familiar, por ser de onde os pequenos e médios agricultores tiram sua renda. Devido a sua versatilidade, a pimenta é um grande negócio, seja no setor alimentar, farmacêutico ou de cosméticos. Rica em vitaminas, carotenóides e antioxidantes, também é rica em capsaicina, composto fenólico responsável pela sensação de ardor e queimadura, com propriedades medicinais comprovadas, que promove benefícios à saúde (COSTA *et al.*, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2008). Uma reportagem para Agência de Notícias Brasil-Árabe (ANBA) em 2022, comenta que em 2021, 1,9 mil toneladas de pimenta do gênero *Capsicum* foram exportadas, e segundo pesquisadora de melhoramento genético da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Hortaliças, a pimenta é cultivada durante todo o ano no Brasil em todas as regiões, ela ainda comenta que seu “cultivo é feito por pequenos e médios produtores, com grande envolvimento de mão de obra familiar” (VETTORE, 2022).

Em relação a *crotalaria juncea*, da família das Fabaceae, esta espécie se desenvolve bem em solos com pH que variam de 5,0 a 7,0, solos ácidos, e possui crescimento rápido e adicionam nitrogênio, por meio de simbiose, devido à associação de suas raízes com bactérias que formam nódulos e fixam nitrogênio no solo promovendo melhor interação entre solo-planta. Além disso, produzem grande quantidade de biomassa, podendo ser utilizada para cobrir o solo, auxiliando no manejo de plantas invasoras, melhorando também a retenção de água (LIMA FILHO *et al.*, 2023).

Um experimento de 2015, no Instituto de Pesquisa Agrícola da Universidade Agrícola de Shandong, na China, utilizou mudas de *P. grandiflorum* cultivadas continuamente por três

anos, montou um experimento com consórcio e sem consórcio com pimentão (*Capsicum annuum*). O estudo estruturou o consórcio da seguinte forma, a cada duas fileiras de pimentão foram plantadas três (3:2), quatro (4:2) e cinco (5:2) linhas de *P. grandiflorum*, respectivamente. Os resultados mostraram aumento no rendimento total de raízes de *P. grandiflorum*, e nas raízes principais de 4,88%, 8,91% e 14,23, 12,92%, respectivamente, nas associações de cultivo onde haviam quatro linhas com *P. grandiflorum* e duas de pimentões (4:2) e na de cinco linhas de *P. grandiflorum* com duas de pimentões (5:2), quando comparado com o monocultivo. Diante disso, a incidência da podridão radicular diminuiu significativamente. Esse resultado foi atribuído às raízes dos pimentões, por serem mais superficiais do que as raízes de *P. grandiflorum*, possibilitou uma distribuição radicular no solo por criar nichos espaciais diferentes, permitindo uma dinâmica mais vantajosa para as raízes de *P. grandiflorum*. Verificou-se também que no consórcio (4:2) houve aumento na concentração de proteínas e saponinas (metabólito secundário), nas raízes, quando comparado com os outros dois consórcios (3:3 e 5:2) (ZHANG *et al.*, 2018).

Um outro estudo, em Seropédica, RJ, realizado por Cesar *et al.* (2007), cultivou pimentão (*Capsicum annuum*) sem consórcio e consorciado com *crotalaria juncea*, sem desbaste e com desbaste da *C. juncea*, a partir do terceiro ramo e lançada ao solo nos pés de pimentões. O resultado foi o aumento no tamanho dos frutos e ganho de produtividade, nos frutos de pimentões que tiveram seus pés cobertos com o material vegetal oriundo dos desbastes, quando comparado com a monocultura e com o consórcio sem desbaste da *C. juncea*. Observou-se ainda que houve um incremento do teor de nitrogênio nos frutos derivado da matéria orgânica do consórcio com desbaste da *C. juncea*.

No estudo realizado em São Carlos não verificamos o tamanho dos frutos produzidos pelas pimentas e nem se houve aumento na produção dos mesmos, uma vez que o objetivo era acompanhar o desenvolvimento dos rizomas da espécie *P. grandiflorum*. Entretanto, no mercado local encontramos as três variedades de pimenta (malagueta, murupi e bode) sendo vendidas ao preço de R\$59,90; R\$69,90 e R\$74,90 o quilo. Portanto, segundo o preço de mercado local, podemos inferir que o cultivo de pimenta é viável e rentável.

3.5 Conclusões

Este é o primeiro estudo em clima tropical que mostra o comportamento metabólico da espécie *Platycodon grandiflorum*, cultivada em diferentes formas de cultivo, no Brasil, com análises em RMN.

Os resultados mostram que foi possível fazer uma proposta de sistema agroecológico, durante o experimento, que revelou o potencial do consórcio entre as espécies de *P. grandiflorum*, *C. Juncea* e pimentas do gênero *Capsicum*.

De acordo com os resultados foi possível manejar e colher rizomas de *P. grandiflorum* para realizar as análises de RMN.

Conforme resultados obtidos foi possível manejar e colher frutos das variedades das pimentas cultivadas no período de um ano (abril de 2020 a abril de 2021), onde os meses com maior volume de produção para a pimenta Malagueta (*C. var. frutescens*) foram maio e setembro, para a pimenta de Bode (*C. var. chinensis*) nos meses de agosto e setembro, respectivamente em 2020 e para a pimenta Murupi (*Capsicum* ssp) os meses de maior produção foram junho e agosto de 2020 e abril de 2021.

O estudo mostra, ainda, que o consórcio exploratório, visando o cultivo de *P. grandiflorum*, oferece possibilidade de uso para pequenos e médios agricultores com características edafoclimáticas similares. No entanto, são necessários mais estudos que reúnam dados experimentais e análises que comprovem a sua viabilidade como um sistema de produção agroecológico que ofereça rentabilidade aos produtores.

CAPÍTULO 4 - ANÁLISE METABOLÔMICA COMO FERRAMENTA PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS EM RIZOMAS DA ESPÉCIE *P. GRANDIFLORUM*

4.1 Introdução

A metabolômica refere-se a uma análise abrangente e precisa de metabólitos de baixo peso molecular que detecta e avalia a menor alteração que ocorra em um sistema biológico complexo como o das plantas. De modo geral, tem como objetivo analisar qualitativa e quantitativamente todos os metabólitos presentes em um determinado organismo, em um dado momento sob influências específicas como genético, fisiológico e ambientais (PILON *et al.*, 2020; WOLFENDER *et al.*, 2009). Autores como Ulrich-Merzenich *et al.* (2007); Verpoorte *et al.* (2007), atribuem essa mudança de paradigma, da pesquisa focada em um único composto com apenas uma atividade biológica específica, para uma enfoque mais inclusivo, mais abrangente como na MTC e o Ayurveda que já utilizam preparações a base de plantas baseado nos seus efeitos em múltiplos alvos em organismos vivos.

Uma publicação de Jung *et al.* (2012), mostrou que a metabolômica associada ao RMN foi um método eficiente para determinar a diferença, a impressão digital, entre duas espécies de cúrcuma (*C. aromática* e *C. longa*) cultivadas em duas regiões diferentes na China. As diferenças encontradas na composição dos metabólitos se devem ao fato dos mesmos serem afetados por fatores bióticos e abióticos.

Segundo Waris *et al.* (2022) a abordagem de metabolômica em plantas vem aumentando devido não só a possibilidade de identificar novos compostos bioativos, avaliar os níveis de metabólitos, mas também monitorar o controle de qualidade de ervas medicinais investigando a possibilidade de adulterações.

Neste contexto, esse capítulo visa identificar e quantificar o perfil metabolômico do rizoma da espécie *P. grandiflorum* coletado em diferentes condições ambientais e de cultivo de forma a contribuir para o conhecimento das alterações das rotas metabólicas desta espécie frente as alterações das condições ambientais em clima tropical.

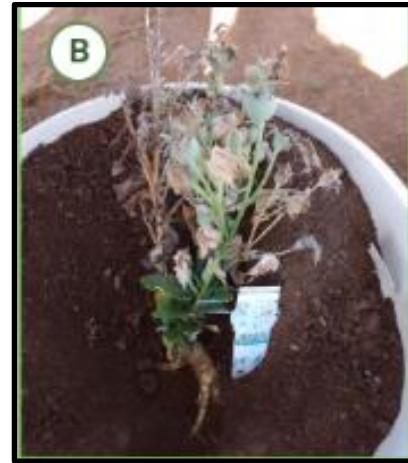
4.2 Metodologia

4.2.1 Coleta de amostras dos rizomas da espécie *P. grandiflorum* cultivados em diferentes condições de plantio

Os rizomas em solo e em vaso, foram coletados nos meses de julho de 2020/2021 e abril de 2021/2022. No entanto, as medidas de segurança para o combate a Pandemia de Covid-19, instituídas em março de 2020, levou a alterações na forma de cultivo e manejo das espécies do consórcio. Desta forma, foram consideradas para as análises somente os rizomas coletados em julho de 2021 (J-21) e abril de 2022 (A-22). Nestes períodos as plantas se encontravam com idade de dois anos e sete meses (J-21) e três anos e quatro meses (A-22), respectivamente.

Em cada parcela cultivada em solo, três plantas foram selecionadas para coleta de rizomas, de forma aleatória, usando a função =RANDOMBETWEEN no Microsoft Excel, totalizando 9 (3×3) amostras em cada coleta e um total de 27 (9×3) amostras coletadas ao final do experimento. Para a coleta de rizomas nos vasos, foram selecionados aleatoriamente 2 plantas a cada 10 vasos, totalizando 8 rizomas (2×4) em cada período citado, totalizando 32 amostras (8×4). A coleta dos rizomas decorreu regularmente a partir das 8h. Em seguida, o material vegetal foi imediatamente lavado em água destilada e armazenado em freezer a -25 °C, e posteriormente macerado em nitrogênio líquido e armazenado novamente em freezer a -25 °C (Figura 4.1 - A, B, C, D, E e F).

Figura 4.1: Coleta de amostra de rizomas em cultivo em solo (A) e em vasos (B). (C) Rizoma lavado para ser armazenado em freezer, e posteriormente picado (D) para ser macerado em nitrogênio líquido e transformado em pó (E) e novamente armazenado (F) para posterior análise.



Fonte: Autora.

4.2.2 Obtenção dos extratos dos rizomas de *P. grandiflorum* e análise de RMN

Foram pesados 50 mg do substrato macerado congelado e depositado em ependorfe. Em seguida foi acrescentado 750 µl de metanol e 750 µl de água deuterada (CD 3OD:D 2O) na proporção 1:1 (v/v), após esse procedimento foi feita centrifugação por 20 minutos. Uma alíquota de 600 µl dos extratos obtidos foram depositados em tubos de 5 mm para posterior análise em espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) (KIM; CHOI; VERPOORTE, 2010).

Os ensaios de RMN foram realizados na Empresa Brasileira de Pesquisa — Embrapa em São Carlos, SP. Os espectros foram adquiridos a 25 °C em um Bruker de 14,1 Tesla (600 MHz para frequência de hidrogênio), AVANCE III, equipado com sonda de detecção direta de 5 mm PABBO (Broad Band Observe) com ATMA® (Automatic Tuning Matching Adjustment), z- gradiente de campo, unidade de temperatura variável BCU-I, unidade geradora de gradiente de campo e trocador automático de amostras “Sample-Xpress™”. RMN ¹H foram adquiridos com sequência de pulso NOESY (denominado noesygppr1d em TopSpin Bruker) com gradiente de campo e, com supressão do sinal de água por irradiação na frequência 2820,39 Hz (O1). As condições foram: 128 médias (ns), 4 varreduras fictícias (ds), 65536 pontos de dados durante a aquisição (td), janela espectral de 20,0276 ppm (sw), ganho fixo do receptor (80,6 rg), pulso de 90° calibrado (13,821 µs), tempo de aquisição entre cada aquisição 2,76 s (aq), tempo de espera entre cada média 5*T1 (19 s) e tempo de mistura 5 ms (d8). Os espectros de RMN ¹H foram referenciados através do sinal TMSD4 a 0,0 ppm. 1H-13C HSQC e 1H-1H COSY foram realizados em amostras selecionadas. Para prever a atribuição teórica do HSQC, ele foi consultado no site nmrdp.org.

4.2.3 Análises Estatísticas

Após processamento dos espectros no software Chenomx NMR (Chenomx Inc., Edmonton, Canadá) com posterior quantificação de metabólitos, os deslocamentos químicos dos mesmos foram atribuídos com base nas referências HMDB. Os sinais sobrepostos de cada composto foram deconvoluídos com base no banco de dados (biblioteca) do próprio software Chenomx NMR. A quantificação dos metabólitos foi realizada em relação à concentração do padrão TMSD4. As referências de pico HSQC foram determinadas por COLMARm (servidor web do Campus Chemical Instrument Center, The Ohio State University). As concentrações

encontradas compuseram os dados dos parâmetros ecofisiológicos que foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico R.

Os dados dos parâmetros ecofisiológicos foram analisados também no software livre Waikato Environment for Knowledge Analysis (WEKA) (Apêndice C) que contém diversas técnicas de mineração de dados. A mineração de dados consiste em um conjunto de ferramentas e técnicas que extrai padrões consistentes de bases de dados, das diversas áreas, auxiliando na descoberta do conhecimento.

Foi utilizado uma base de dados com 264 informações contendo atributos relevantes como as condições de cultivo (solo e vaso com substrato), período do ano julho/2021 (J-21) e abril/2022 (A-22) e a média das concentrações dos compostos, das triplicatas analisadas em relação às condições de cultivo.

Os ensaios quimiométricos foram realizados no Metaboanalyst 5.0. Para todas as condições de agrupamento, os dados foram normalizados por escalonamento automático. O teste de validação da Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) foi baseado em 2.000 permutações.

4.3 Resultados e discussão

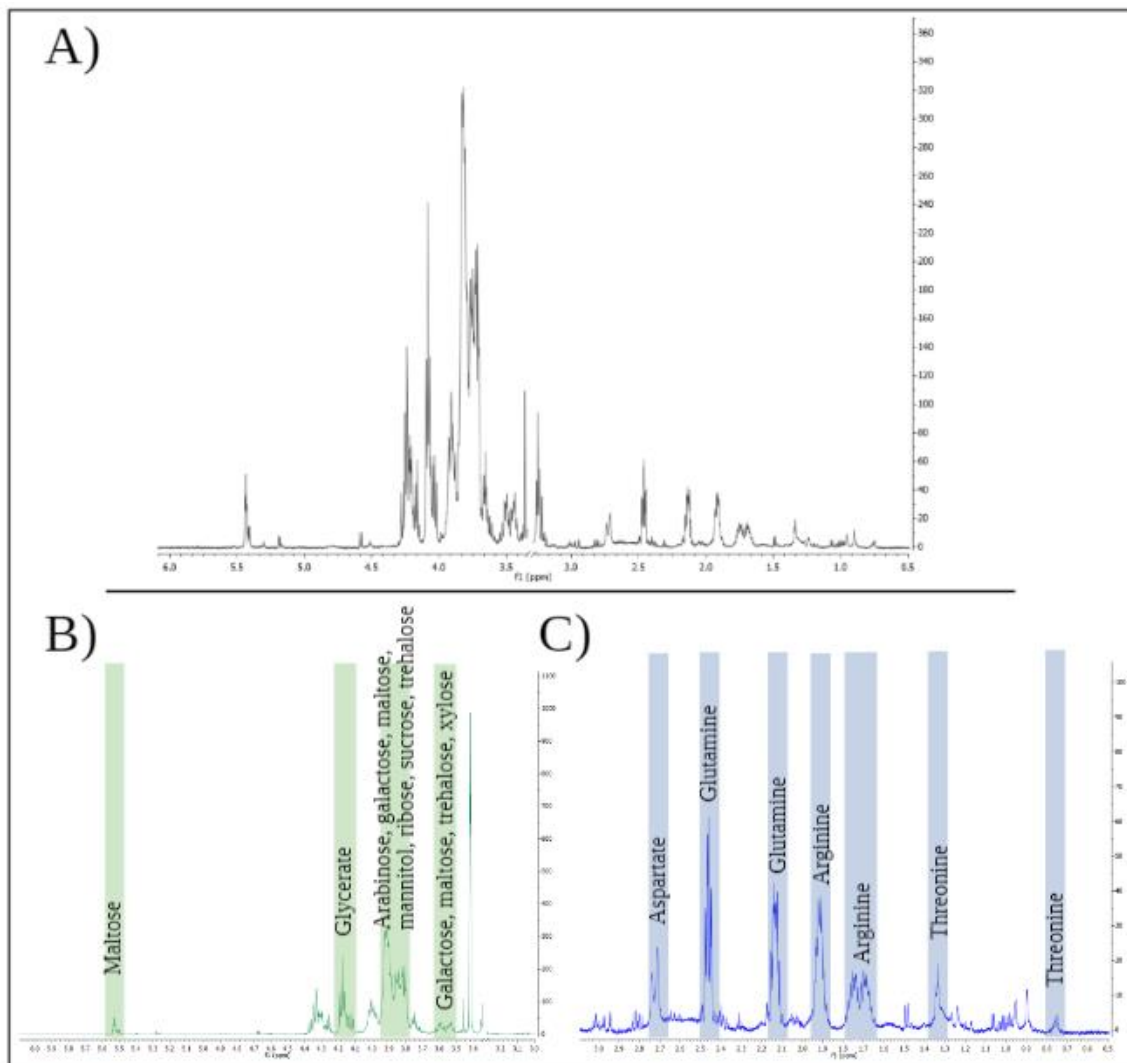
4.3.1 Perfil metabolômico de *P. grandiflorum*

Para a discussão metabolômica foram considerados os resultados dos meses de coleta dos rizomas, julho/21 (J-21) e abril/22 (A-22), tanto em solo como em vaso, versus as condições ambientais de cultivo, uma vez que apenas a espécie *P. grandiflorum*, estava sendo cultivada em solo. Uma análise exploratória dos dados de todas as coletas realizadas nos meses de julho/2020 e 2021 (J-20/J21), abril/2021 e 2022 (A-21/A-22) podem ser observados no Apêndice D.

Inicialmente o perfil metabólico do extrato dos rizomas de *P. grandiflorum* foi avaliado utilizando o espectro de uma amostra de controle interno de qualidade (CQ) que consistia em uma mistura de extratos de cada condição experimental de cultivo, em volumes iguais. Este procedimento é comum em análises metabolômica e segundo Wishart *et al.* (2009), tem como objetivo avaliar o desempenho e a estabilidade instrumental durante aquisição de dados e serve como controle interno de qualidade. Duas regiões espectrais se destacaram com alta presença

de metabólitos apresentando picos de alta intensidade. As regiões em 0,5 – 3 ppm foram atribuídas a aminoácidos, e a região que variou em 3,1 – 6 ppm que foram atribuídas aos açúcares (Figura 4.2).

Figura 4.2: Espectro da amostra de controle de qualidade interno. **(A)** Espectro total de 0,5 ppm a 6 ppm com região cortada de δ 3,28 ppm – 3,34 ppm. **(B)** Espectro de 3,1 ppm a 6 ppm com atribuição de metabólitos. **(C)** Espectro de 0,5 ppm a 3 ppm com atribuição de metabólito.



Fonte: Luisa Souza Almeida

4.3.2 Resposta dos metabólitos primários da espécie *P. grandiflorum* em diferentes períodos de coleta

Foram identificados no espectro de RMN de ¹H, 17 compostos primários, sendo 10 açúcares classificados em monossacarídeos e dissacarídeos, três aminoácidos e o malato. A Tabela 4.1 mostra o espectro de atribuição com metabólitos na amostra. Os monossacarídeos arabinose, galactose, ribose, xilitol e xilose exibiram sinais dubletos característicos a ~3 ppm,

enquanto os dissacarídeos celobiose, lactulose, maltose, sacarose e trealose apresentaram multipletos ou tripletos na mesma região de sinais espectrais. No entanto, a sacarose exibe um sinal claro de dubletos a ~5 ppm. Poucos aminoácidos, nomeadamente arginina, glutamina e treonina, foram acessados neste estudo. A seguinte descrição de metabólitos representa a primeira análise de RMN realizada para rizomas de *P. grandiflorum*. A Tabela 4.2 apresenta o somatório das concentrações de metabólitos primários, por grupos funcionais, condições de plantio e coleta períodos.

Tabela 4.1: Atribuição de espectro

Composto	Alteração química – δ_H (ppm)	Grupo químico	Referência
Arabinose	3.8	CH (dd)	HMDB
Arginina	1.7	CH ₂ (m)	HMDB
Aspartato	2.8	NH ₂ (m)	HMDB
Celobiose	3.81	CH ₂ (m)	HMDB
Galactose	3.5	CH (dd)	HMDB
Glutamina	2.4	CH ₂ (dt)	HMDB
Glicerato	3.8	CH ₂ (dd)	HMDB
Lactose	4.63	CH (t)	BMRB*
Malato	4.27	CH (m)	BMRB*
Maltose	3.6	CH (m)	HMDB
Manitol	3.8	CH ₂ (dd)	HMDB
Ribose	3.8	CH ₂ (d)	BMRB*
Sacarose	5.4	CH (d)	HMDB

Continua

Conclusão

Composto	Alteração química – δ_H (ppm)	Grupo químico	Referência
Treonina	1.3	CH ₃ (d)	HMDB
Trealose	3.4	CH (t)	HMDB
Xilitol	3.6	CH (dd)	HMDB
Xilose	3.6	CH ₂ (dd)	HMDB

HMDB - Human Metabolome Databank; *BMDM (Biological Magnetic Resonance Databank)

Fonte: Autora

Tabela 4.2: Soma das concentrações e médias dos grupos de metabólitos, monossacarídeos e dissacarídeos (carboidratos), aminoácidos e ácidos orgânicos, determinadas por RMN e expressas em mg.100g⁻¹, de acordo com as diferentes condições de cultivo (solo ou vaso - codificados como S ou V) e períodos de coleta (21/abril - A21; 21/julho - J21; 22/abril - A22; 22/julho - J22;) dos rizomas.

Condições de plantio	Ácidos			
	Monossacarídeos	Dissacarídeos	Aminoácidos	Orgânicos
S-J21	104.50 ± 95.76	106.12 ± 104.91	81.50 ± 67.78	17.44 ± 16.86
V-21	146.35 ± 129.07	167.29 ± 97.64	110.89 ± 93.22	33.65 ± 21.59
S-A22	684.51 ± 1341.96	145.62 ± 130.29	78.43 ± 56.17	17.65 ± 14.56
V-A22	104.98 ± 61.05	154.30 ± 127.59	82.80 ± 91.35	20.03 ± 17.47
Período Seco (PS)				
(solo + vaso - J21)	125.42 ± 29.59	136.71 ± 5.19	96.20 ± 20.77	25.54 ± 11.46
Período chuvoso (PC)				
(solo + vaso A22)	394.74 ± 409.79	149.95 ± 1.91	80.61 ± 3.09	18.84 ± 1.69

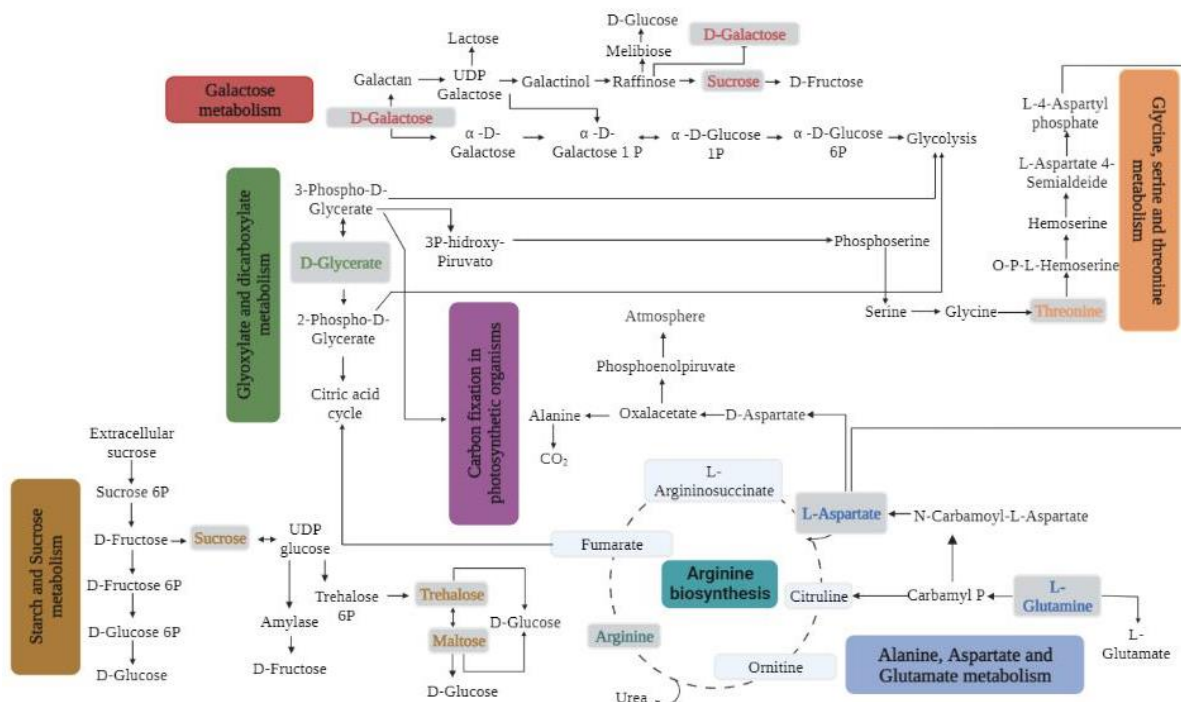
Fonte: Autora

Os valores compreendem a soma das concentrações absolutas de triplicatas de rizomas cultivados nos diferentes métodos de plantio e coletados em diferentes épocas, com diferença significativa $p < 0,05$. Os monossacarídeos são compostos pela soma de Arabinose, Galactose, Ribose, Xilitol e Xilose; os dissacarídeos relacionados compreendem a soma de Celobiose, Lactulose, Maltose, Sacarose e Trealose; os aminoácidos representam a soma de Arginina, Glutamina e Treonina; Ácido orgânico compreende a soma do Malato.

4.3.3 Apresentação de vias metabólicas baseadas na investigação do metaboloma da espécie *P. grandiflorum*

A análise das vias metabólicas resultou em vinte e cinco rotas metabólicas envolvendo os metabólitos apresentados na Tabela 4.1. Aquelas consideradas relevantes, com valor de $p < 0,05$ e fator de impacto maior que zero, foram levadas em consideração para a construção da figura 4.3. Os que atenderam a ambos os critérios foram biossíntese de arginina, metabolismo de amido e sacarose, metabolismo de glioxilato e dicarboxilato, metabolismo de glicina, serina e treonina, fixação de carbono em organismos fotossintéticos, metabolismo de alanina, aspartato e glutamato e galactose. Para obter mais informações sobre todos os caminhos relatados, consulte a Tabela 2 do SI.

Figura 4.3: Vias relacionadas ao metaboloma de *P. grandiflorum*. Principais rotas metabólicas indicadas em negrito em quadrados coloridos. Metabólitos dos extratos de rizomas de *P. grandiflorum* com cor de texto de acordo com a via metabólica à qual estão relacionados.



O presente estudo avaliou diferentes condições de cultivo. Para agrupar os achados de variação metabólica, optou-se por uma análise classificatória para investigar a variação dos grupos funcionais (carboidratos, aminoácidos e ácidos orgânicos) em função das variações do clima e das condições de plantio.

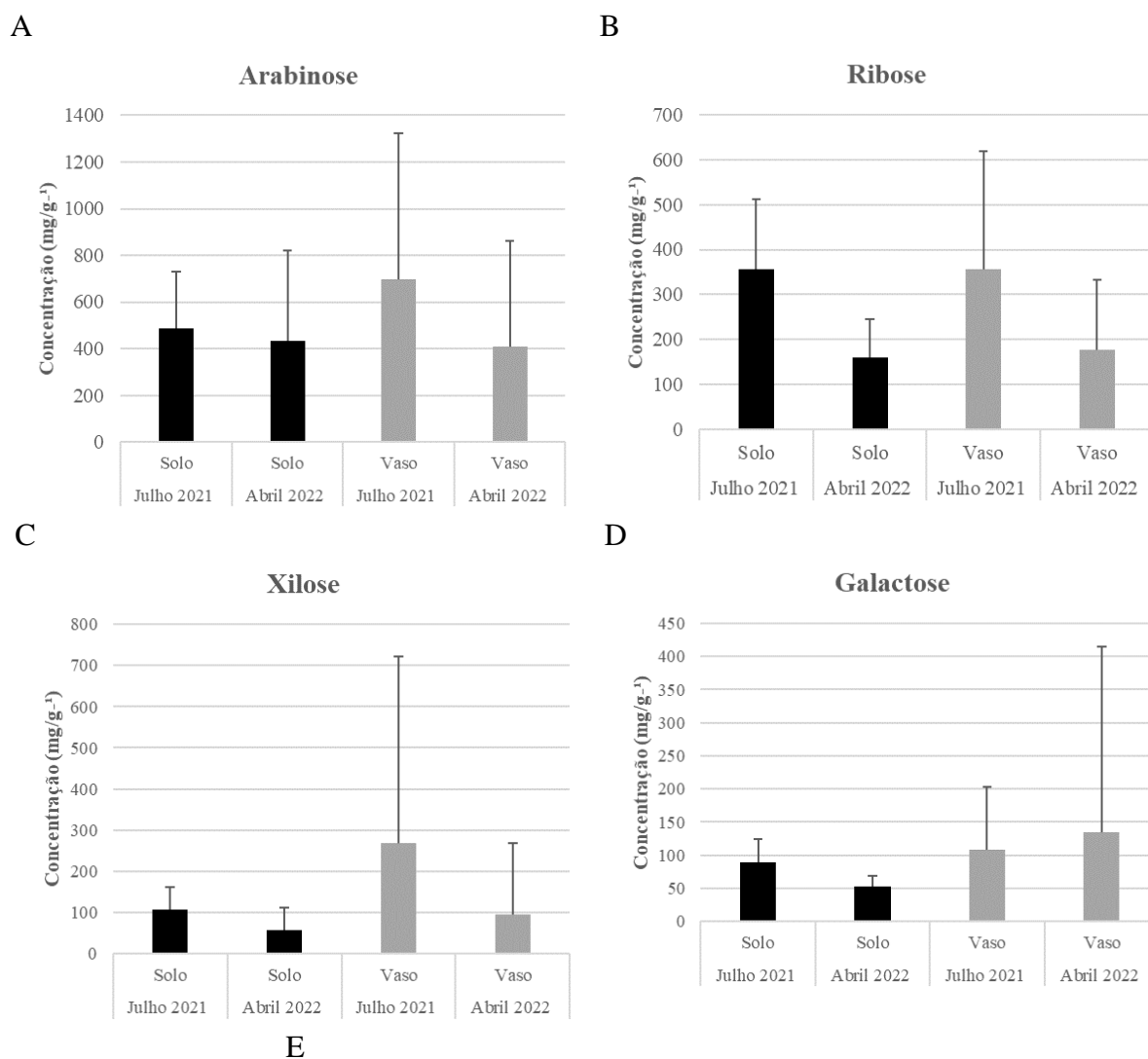
4.3.4 Concentração de metabólitos encontrados na espécie *P. grandiflorum* cultivada em diferentes condições ambientais

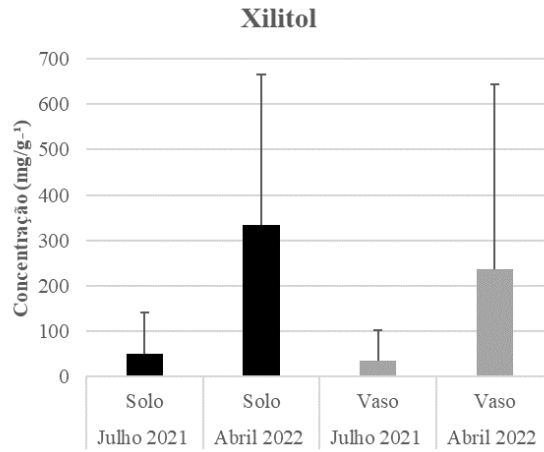
O teste T (student) bicaudal para variâncias desiguais (heterocedásticas) mostra não haver indícios de diferenças entre os cultivos em solo e em vasos com substrato o nível de significância de 5%. Não há indícios de diferenças para todos os metabólitos identificados, ainda que separados por períodos de menor volume de água julho/2021 (J-21) ou maior volume de água abril/2022 (A-22). Portanto, não há indícios de que o substrato apresente impacto relevante na produção desses metabólitos primários.

Os compostos que apresentaram maior concentração média nas amostras coletadas em julho/21 (J-21), tanto em solo como em vaso, respectivamente, foram os carboidratos classificados como monossacarídeos: arabinose (11 e 41%), ribose (55 e 50%), xilose (48 e 62%), galactose (60 e 19%). Já classificados como dissacarídeos ou açúcares solúveis foram lactulose (12 e 48%) e trealose (14 e 68%), entre os aminoácidos somente a arginina (12 e 69%) apresentou concentração mais nesta situação. Quando analisamos as amostras coletadas em abril/22 (A-22) os compostos que se destacaram com maiores concentrações, tanto em solo como em vasos, foi o monossacarídeo xilitol (86 e 76%), os dissacarídeos celobiose (15 e 10%), maltose (45 e 15%) e a sacarose (52 e 34%). E entre os aminoácidos somente a treonina (67 e 73%). A galactose (mono) e a glutamina (aminoácido) apresentaram maior concentração nas coletas de J-21 no solo (41 e 6%) e no vaso nas coletas realizadas em A-22 (19 e 7%), respectivamente. Já o malato apresentou maior concentração em J-21 na coleta realizado no solo (6%) quando comparado com a coleta realizada em A-22 no vaso (40%) como mostra a Figura 4.4, letras A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N.

Figura 4.4: Quantificação e identificação de 11 metabólitos selecionados pelo teste T ($p < 0,05$) em extratos de rizomas de *P. grandiflorum* por RMN H1, cultivados tanto em solo como em vasos com substrato, nos meses de J-21 e A-22. As colunas indicam as médias e o erro padrão indicado por $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,005$. Os carboidratos monossacarídeos quantificados são (A) arabinose, (B) ribose, (C) xilose, (D) galactose e (E) xilitol. Dentre os dissacarídeos temos (F) celobiose, (G) maltose, (H) sacarose, (I) lactulose e (J) trealose. Nos aminoácidos os (K) arginina, (L) treonina, (M) glutamina e o (N) malato.

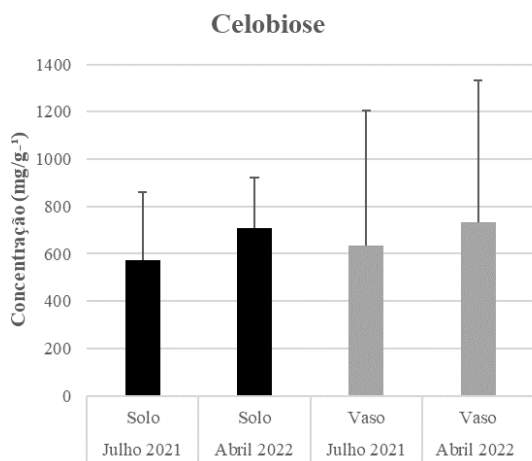
Carboidratos classificados como monossacarídeos



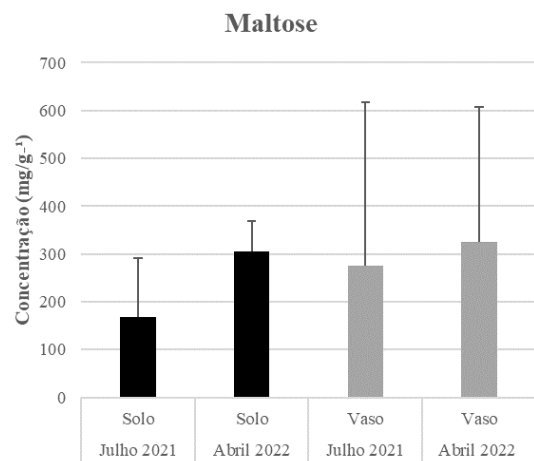


Carboidratos classificados como dissacarídeos

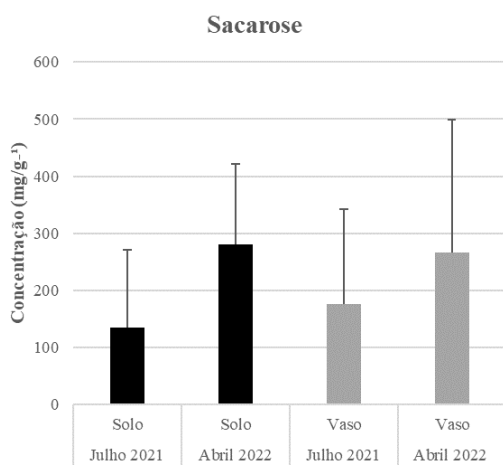
F



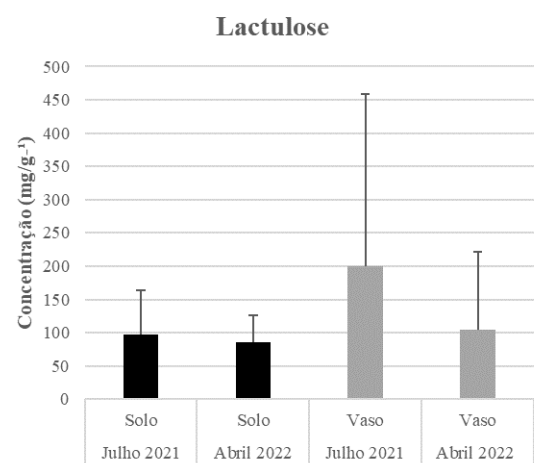
G



H

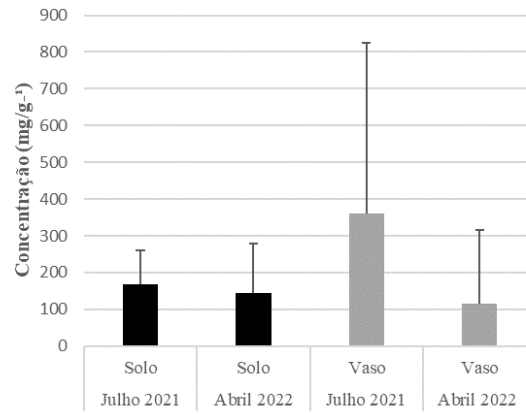


I



J

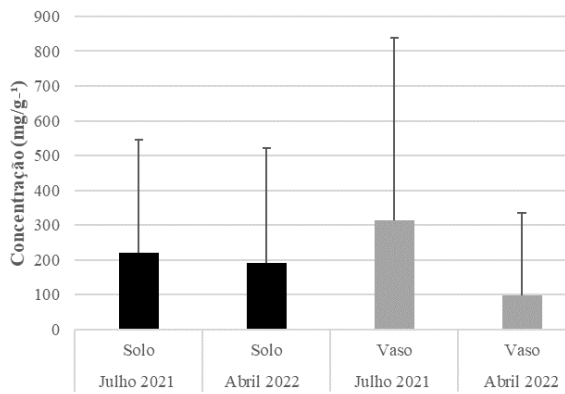
Trealose



Aminoácidos e Malato

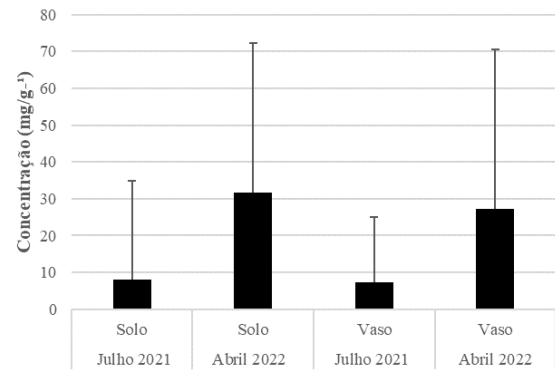
K

Arginina



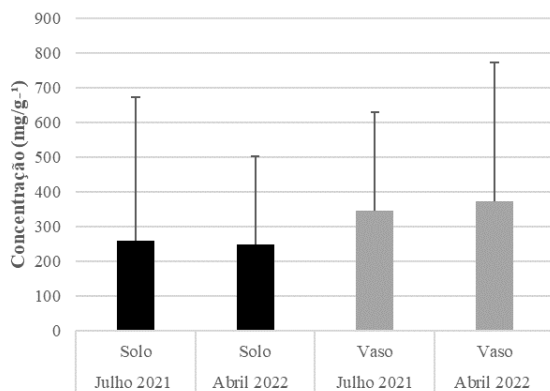
L

Treonina



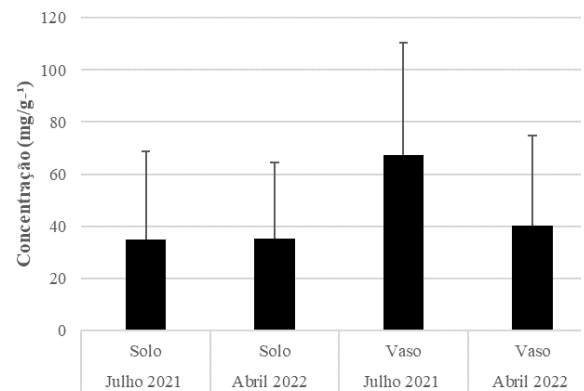
M

Glutamina



N

Malato



Fonte: Autora

O WEKA trabalha com um conjunto de algoritmos de Machine Learning (Aprendizado de Máquina) executado na linguagem Java. O Aprendizado de Máquina contempla uma subdivisão da Inteligência Artificial que trabalha com a ideia que as máquinas adquirem conhecimento a partir de dados disponíveis (SHILLAN *et al.*, 2019).

Dividido em dois campos, o Aprendizado de Máquina trabalha com aprendizado supervisionado e não supervisionado. Quando o modelo apreende a partir de resultados já pré-definidos é denominado aprendizado supervisionado, já no aprendizado não supervisionado não existem dados para que o modelo possa utilizar como referência para a sua aprendizagem, neste caso, ele agrupa elementos que possuem características similares (PELLUCCI *et al.*, 2011; QUEIROZ *et al.*, 2022). Um exemplo de análise não supervisionada é a Análise Exploratória de Componentes Principais (do inglês *Principal Component Analysis* – PCA) e a Análise Classificatória de Mínimos Quadrados Parciais por Análise Discriminante (PLS – DA).

Os resultados obtidos por meio da mineração de dados (WEKA) classificaram 100% dos atributos inseridos e o índice de Kapa foi igual a 1, o que corresponde a uma excelente acurácia dos dados (Apêndice C). O que mostra não haver indícios de diferenças para todos os metabólitos identificados, ainda que separados pelos meses de coleta das amostras, J-21 ou A-22. Portanto, não existem diferenças significativas de que o substrato apresente impacto relevante na produção desses metabólitos primários. Esse resultado pode ser observado na Figura 4.4, que mostra os compostos que apresentaram uma sistemática de diminuição e aumento em relação ao seu teor, nas amostras analisadas.

Para as análises exploratórias (PCA) (apêndice E) e classificatórias (PLS-DA) levou-se em consideração como matriz de dados as concentrações de metabólitos encontradas nos rizomas de *P. grandiflorum*. Como classes, os meses do ano em que foram realizadas as coletas das amostras dos rizomas (julho/2021 - J-21 e abril/2022 - A-22) e, modo de cultivo em solo e em vaso com substrato. Deste modo, foram consideradas 5 condições de agrupamentos na análise do PLS-DA.

Os modelos I e II foram calculadas para analisar os extratos dos rizomas cultivados em solo (S) e vasos com substrato (V) com amostras coletadas nos meses de J-21 (período de seca - inverno), para o modelo I e em A-22 (período chuvoso – verão), para o modelo II. Os modelos III e IV foram calculados para extratos de rizomas colhidos na mesma época (período de seca - inverno ou período chuvoso – verão) e plantados em solo (Modelo III) e vasos (Modelo IV).

Por fim, o modelo V comparou as épocas, período de seca (inverno) e período chuvoso (verão) independentemente da condição de plantio (Figura 4.5).

Os gráficos de scores da análise de variáveis latentes mostram que os dois primeiros componentes principais 1 e 2, do PLS-DA, explicaram 62,9 e 47,7% da variabilidade total, respectivamente. Sendo que a condição I e II da variável latente do componente principal 1 utilizam 36,3 e 15,8% respectivamente, da informação original para evidenciar que o perfil metabólico das amostras é semelhante em ambos os meses de coleta. Informação complementada pela variável latente do componente principal 2, que utilizaram 14,1 e 23,2% para reafirmar esta semelhança, respectivamente.

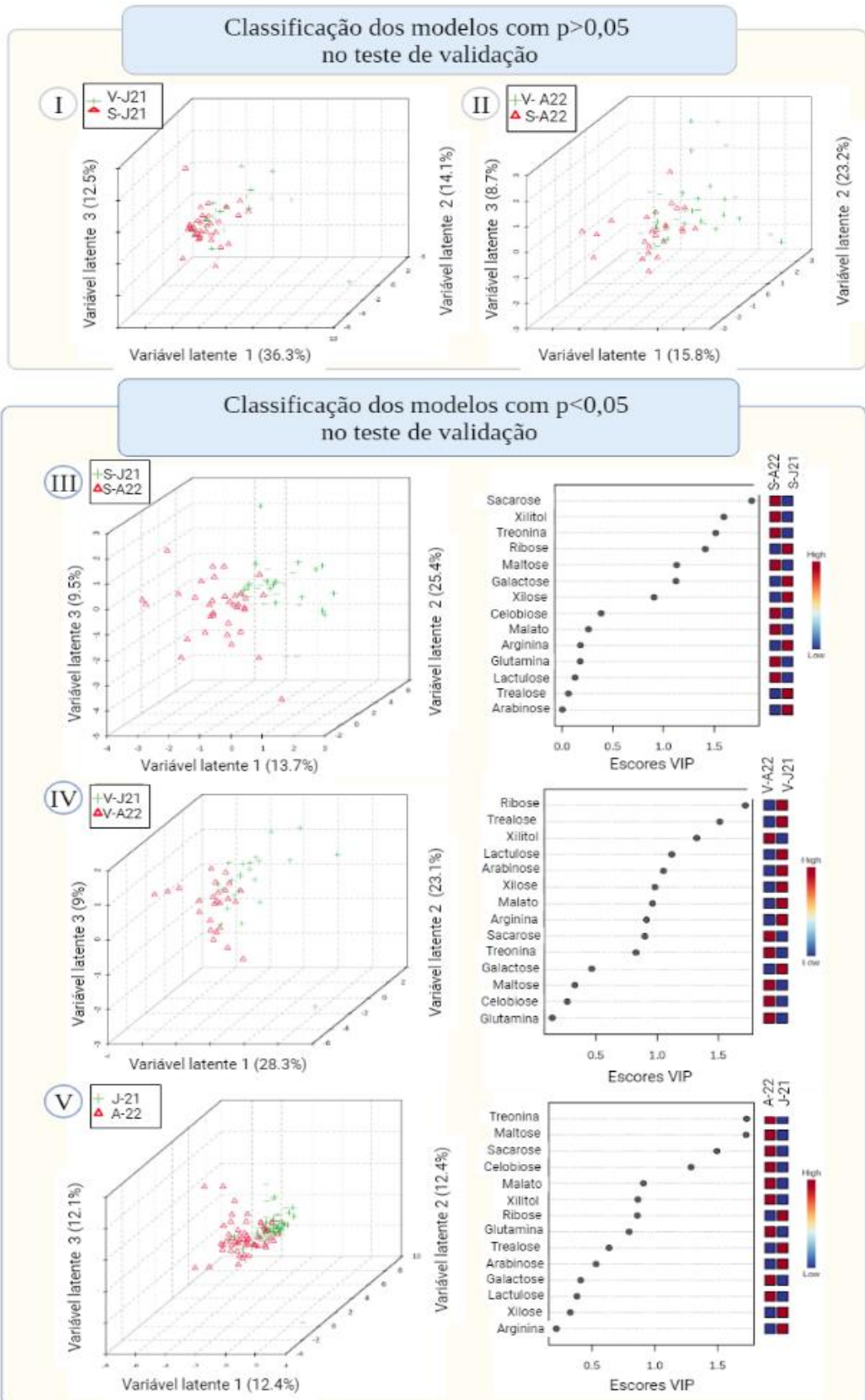
Apesar do Modelo II mostrar alguns pontos distantes do grupo principal, os valores de p não são significativos nos testes de validação, tanto para o Modelo I quanto para o Modelo II ($p = 0,435$ e $p = 0,348$, respectivamente). Esses dois modelos, revelaram um $R^2 = 0,130$ e $0,213$ e um $Q^2 = 0,009$ e $-0,029$, respectivamente. Portanto, os dados indicam que houve uma influência mínima em relação ao metabolismo das plantas quando cultivadas em diferentes condições de substrato, entre as amostras coletadas nos meses de J-21 (período de seca – inverno - Modelo I) e, no mês de A-22 (período chuvoso – verão - Modelo II) (Figura 4.5- I e II).

Nos Modelos III e IV, as variáveis latentes dos dois primeiros componentes principais explicaram 48,6 e 60,4% da variabilidade total, respectivamente, com 13,7 e 25,4% para as variáveis latentes do primeiro e segundo componente principal do Modelo III e 28,3 e 23,1% para as variáveis latentes do primeiro e segundo componente principal do Modelo IV. No Modelo III, os resultados dos escores VIP de sacarose, xilitol e treonina indicaram abundância desses compostos em amostras cultivadas no solo e colhidas no mês de A-21(período chuvoso – verão), e ribose no mês de J-22 (período seco – inverno) (Figura 4.5-III). Já no Modelo IV, os resultados dos escores de VIP de ribose, lactulose e trealose foram abundantes em amostras cultivadas em vaso com substrato e colhidas no mês J-21(período seco – inverno) e xilitol no mês de A-21 (período chuvoso – verão) (Figura 4.5-IV). Para os Modelos III e IV os valores de p estabeleceram diferenciação no agrupamento e os valores de p de relevância foram $<0,005$ e $0,0015$, respectivamente.

Para o Modelo V, os resultados mostraram que as variáveis latentes dos dois componentes principais explicaram 36,9% da variabilidade total, com 12,4 e 12,4% para as variáveis latentes dos componentes principais 1 e 2. Os resultados dos escores VIP mostraram

que a treonina, a maltose, e a sacarose apresentaram maior concentração quando as amostras de rizomas foram colhidas no mês de A-22 (período chuvoso – verão), enquanto a ribose, a trealose e a arabinose apresentaram maior concentração quando aos rizomas foram colhidos no mês de J-21 (período seco – inverno) (Figura 4.5-V). Para o Modelo V o valor de p estabeleceu uma diferenciação e o valor de p de relevância foi $<0,005$. Mediante ao exposto, os Modelos III, IV e V indicam que o perfil metabólico pode depender do período de colheita. Quanto aos valores de R^2 e Q^2 para as condições III ($R^2 = 0,59$, $Q^2 = 0,41$), IV ($R^2 = 0,44$, $Q^2 = 0,04$) e V ($R^2 = 0,40$, $Q^2 = 0,20$), os melhores valores foram alcançados nas condições III e V respectivamente, sugerindo que a regressão PLS-DA nos dados analisados foram ajustados com precisão, produzindo informações valiosas para a previsão de novas amostras (HOCH *et al.*, 2023).

Figura 4.5: Gráfico dos scores das cinco condições de agrupamento dos extratos dos rizomas de *P. grandiflorum*. As variáveis latentes dos componentes principais 1 e 2 representam os componentes mais importantes da informação original. Os meses de coleta das amostras são representados por julho/2021 (J-21) e abril/2022 (A-22). As amostras do cultivo em solo (S) são representadas pelos pontos em vermelhos, enquanto as amostras do cultivo em vasos com substrato (V) são representadas pelos pontos verdes, para as condições I e II. Condição I) Amostras coletadas em J-21 cultivadas em solo (S-21, vermelho) *vs* amostras cultivadas em vasos com substrato (V-21, verde); Condição II) Amostras coletadas em A-22 cultivadas em solo (S-22, vermelho) *vs* amostras cultivadas em vasos com substrato (V-22, verde); Condição III) amostras cultivadas em solo coletadas em J-21 (S-21, verde) *vs* amostras cultivadas em solo coletadas em A-22 (S-22, vermelho); Condição IV) amostras cultivadas em vasos com substrato coletadas em J-21 (V-21, verde) *vs* amostras cultivadas em vasos com substrato coletadas em A-22 (V-22, vermelho); e Condição V) amostra cultivada em solo + amostra cultivada em vasos com substrato coletada em A-22 (A-22, vermelho) *vs* amostras cultivadas em solo + amostras cultivadas em vasos com substrato coletada em J-21 (J-21, verde).



Fonte: Autora.

O PLS-DA é uma alternativa para análise de classificação, pois determina as variáveis mais adequadas como discriminadoras entre grupos amostrais (BORGONOVO, 2006; BRERETON, 2000). Os resultados dos gráficos obtidos dos dados do PLS-DA score da análise de RMN mostram que dos 14 metabólitos identificados no espectro de RMN de ^1H , 11 mostram diferença na concentração, quando comparamos cada composto, independente do modo de cultivo, com os períodos de coleta, mês de J-21(período seco – inverno) vs mês de A-22 (período chuvoso – verão), sendo eles: arabinose, ribose, xilitol e xilose (açúcares monossacarídeos), celobiose, lactulose, maltose, sacarose e trealose (açúcares dissacarídeos), arginina, glutamina e treonina (aminoácidos) e o malato (Figura 4.5).

Os compostos metabólicos encontrados neste estudo mostraram semelhança com rizomas de *P. grandiflorum* cultivados e estudados na China, em diferentes regiões, bem como com outros metabólitos primários encontrados em rizomas de outras espécies, como por exemplo, *Panax ginseng*, (família Araleaceae), *Codonopsis pilosula* (família Campanulaceae), *Beta vulgaris* L. (família Amaranthaceae), *Curcuma aromatica* e *C. longa* (família Zingiberaceae). Compostos como açúcares não redutores (sacarose, frutose e lactulose), açúcares redutores (frutose e glicose), ácidos orgânicos (malato, citrato) e aminoácidos (arginina, alanina, treonina, glutamina, tirosina, leucina, prolina) podem ser detectados nesses rizomas e seu conteúdo de metabólitos pode variar de acordo com o método de cultivo e as condições ambientais (LIANG *et al.*, 2021; NGUYEN *et al.*, 2022; TARACHIWIN *et al.*, 2008).

Avaliando as condições de cultivo os escores vips dos grupos dos modelos III, IV e V apresentam maior teor de metabólitos primários nas amostras de rizomas coletados no mês de A-22 (período chuvoso – inverno), tendo seus níveis reduzidos nas coletas realizadas no período oposto, J-21 (Figura 4.5-III, IV e V). Observamos também que carboidratos (Sacarose, Xilitol, Maltose) e aminoácidos (Treonina) apresentaram níveis reduzidos em destaque no modelo III, em julho/21 (período seco - inverno), quando comparado a abril/22 (período chuvoso - verão) que apresentou resultado oposto para os compostos mencionados.

Neste estudo, a Sacarose apresentou baixas concentrações nas amostras coletadas em julho/21 (período seco - inverno), ($67,3 \text{ mg } 100^{-1}$ e $88 \text{ mg } 100^{-1}$), tanto em cultivo em solo quanto em vaso, o que representou menor percentual de 48 e 66%, quando comparadas às concentrações médias encontradas nas amostras coletadas no período abril/22 (período chuvoso - verão) ($140,0 \text{ mg } 100^{-1}$ e $133,4 \text{ mg } 100^{-1}$). Contudo, a trealose aumentou no mesmo período

(83,5 mg 100⁻¹ e 180,9 mg 100⁻¹) o que correspondeu a 14 e 68%, respectivamente, quando comparadas às concentrações médias encontradas no período abril/22 (período chuvoso - verão), (140,0 mg 100⁻¹ e 133,4 mg 100⁻¹), nas mesmas condições de cultivo citadas. Esse resultado nos levam a inferir que o estresse hídrico promovido pela redução das chuvas pode ter promovido redução na absorção de nutrientes dos rizomas de *P. grandiflorum*, levando a espécie a utilizar a seca moderada como estratégia de tolerância, alterando a rota metabólica da sacarose para o desenvolvimento das raízes menores em busca de nutrientes no solo com o objetivo de regular a pressão osmótica das células vegetais para formar uma membrana protetora, mantendo assim, a atividade proteica da célula (CHAVES *et al.*, 2006; LIANG *et al.*, 2021; ROSA *et al.*, 2009; SANTOS; CARLESSO, 1998).

Segundo os autores Rosa *et al.* (2009), Santos e Carlesso, (1998) e Spricigo *et al.* (2023), o metabolismo do carboidrato é um processo dinâmico, a síntese da sacarose é a principal forma de transporte de carbono, proveniente da fotossíntese. As mudanças provocadas pelo meio abiótico e o manejo da espécie, como menor disponibilidade de água e poda drástica da parte aérea após coleta de amostra do rizoma, podem alterar a forma em como esse carboidrato é utilizado, redirecionando essa fonte de energia para outros tecidos da planta, promovendo alterações fisiológicas e bioquímicas que irão sustentar a respiração, outros processos metabólicos, e inclusive a expressão gênica dos genes envolvidos na fotossíntese e na síntese de osmólitos.

Um estudo de Nguyen *et al.* (2016), com raízes de *Panax ginseng* da China e da Coreia, espécime que compartilha semelhanças com *P. grandiflorum*, analisaram a uniformidade da composição genética por meio de uma abordagem multiômica para identificação de metabólitos. Os resultados mostraram que os rizomas colhidos na Coreia no outono apresentaram maior acúmulo de carboidratos (Sacarose e Glicose) e menor acúmulo de aminoácidos (Glutamina), em comparação com aqueles colhidos na China na primavera, após um longo período de inverno. Comparando com os resultados obtidos neste estudo para a espécie *P. grandiflorum*, as amostras de rizomas coletadas no período abril/22 (período chuvoso - verão) apresentaram maior teor médio de carboidrato (Sacarose), tanto no cultivo em solo quanto em vaso, respectivamente, quando comparadas às amostras coletadas no período Julho/21 (período seco – inverno), o que vai ao encontro dos resultados encontrados para amostras de raízes de *P. ginseng* coletadas na Coreia, no outono, onde as condições de sol e chuva são mais favoráveis para a planta armazenar maior quantidade de açúcar preparando-se para o inverno. O aminoácido Glutamina, apesar de não ter sido classificado com escore VIP

de relevância estatística significativa, no modelo IV, apresentou maiores teores médios nos rizomas coletados em abril/22 (período chuvoso - verão), para cultivo em vasos (186,3 mg 100⁻¹g), e o contrário para amostras coletadas em cultivo de solo, no período julho/21 (período seco – inverno) (129,9 mg 100⁻¹g). O que nos leva a inferir que o estresse hídrico e as condições de cultivo alteram as rotas metabólicas influenciando os níveis de concentração dos metabólitos primários.

As concentrações de açúcar também diferem em relação ao estágio de desenvolvimento da planta como, por exemplo, no desenvolvimento reprodutivo. E de acordo com Rolland, Baena-Gonzalez e Sheen (2006), o estímulo para a floração está associado a concentração do amido e a uma elevação transitória na exportação de carboidratos da folha para o meristema apical do caule.

Nesse estudo, as mudas de *P. grandiflorum* cultivadas, tanto em solo como em vasos, floresceram durante todo o período do experimento. A partir da segunda quinzena de fevereiro, e durante todo o mês de março e início de abril, as flores foram dando lugar aos frutos que secaram e produziram sementes. Na primeira quinzena de julho de 2021, houve coleta de amostras de rizomas e a poda radical da parte aérea das mudas. No mês de agosto já surgiram os primeiros brotos, em outubro os primeiros botões florais e de novembro a abril de 2022 as plantas floresceram e frutificaram. Na primeira quinzena de abril de 2022, foram novamente coletadas amostras de amostra de rizoma e poda radical da parte aérea de todas as mudas. Estudos realizados por Ying *et al.* (2014) e Zhang *et al.* (2015) relatam que *P. grandiflorum* florescem de junho a setembro e frutificam de agosto a outubro, o que diverge dos resultados relatados neste estudo devido ao manejo de poda radical da parte aérea realizado após a coleta de amostras dos rizomas. E considerando que três meses (abril, maio e junho) antes da coleta das amostras dos rizomas no mês de J-21(período seco – inverno) o volume médio total acumulado da precipitação foi de 74,5 mm. Esse fato associado ao pico do estágio de reprodução, resultado da poda drástica ocorrida em abril, podemos inferir que houve exportação de carboidratos para o meristema apical para garantir o crescimento, desenvolvimento e dar início ao estágio de reprodução da planta, levando a diminuição dos teores de alguns compostos nas amostras colhidas no mês de J-21 (período seco – inverno). O inverso foi observado nas amostras coletadas no mês de A-22 (período chuvoso – verão), onde o volume médio total acumulado de precipitação durante os três meses que antecederam a coleta (janeiro, fevereiro e março) foi de 759,2 mm, o demonstra uma amplitude no volume médio total acumulado entre os dois períodos de coleta de rizomas de 684,7 mm (Figura 3.5).

Um estudo recente de Li Min *et al.* (2022) realizado na China, pesquisou mudanças no conteúdo do metabólito secundário platicodina, e nas características fisiológicas de rizomas de *P. grandiflorum* cultivados em vasos, durante a fase de frutificação, sob estresse hídrico de curto prazo (setembro e outubro de 2019). Foi utilizado comprimento de ondas para calcular os teores de açúcares solúveis (carboidratos dissacarídeos) e identificaram que após a reidratação dos rizomas, no grupo seca, as concentrações de açúcares solúveis aumentaram, ficando superior ao do grupo controle, mas, inferior quando comparado com as amostras do grupo controle e grupo seca, coletadas no outono, onde a precipitação média de setembro é de 43 mm e de outubro, 25 mm. O estudo aponta ainda como resultado, que o teor de platicodina no grupo seca foi maior (8,95%) do que no grupo controle, quando coletado no outono e concluíram que o estresse de curto prazo não afeta o desenvolvimento da espécie, mas afeta a produção de conteúdo de platicodina em rizomas de *P. grandiflorum*. Quando comparamos os resultados do estudo de Li Min *et al.* (2022), obtidos para açúcares solúveis (carboidratos dissacarídeos) com o estudo realizado, as métricas de desempenho são semelhantes e os resultados também identificaram teores maiores nos açúcares solúveis celobiose (19% e 13%), maltose (45% e 15%) e sacarose (52% e 34%) nas amostras de rizomas coletados em A-22 (período chuvoso – verão), tanto em solo quanto em vaso, respectivamente.

Observando o modelo IV, cultivado em vaso com substrato, destacamos carboidratos com níveis médios reduzidos (Ribose - 88,5 mg 100⁻¹g; Trealose - 57,4 mg 100⁻¹g; Lactulose - 52,1 mg 100⁻¹g; Arabinose - 203,5 mg 100⁻¹g e Xilose - 47,5 mg 100⁻¹g) e ácido orgânico (Malato – 20,0 mg 100⁻¹g) nos rizomas coletados no mês de A-22 (período chuvoso – inverno), quando comparados com os níveis de concentração dos rizomas coletados no mês de J-21 (período seco - verão), que apresentaram concentrações maiores (Ribose – 178,2 mg 100⁻¹g; Trealose – 180,9 mg 100⁻¹g; Lactulose – 99,9 mg 100⁻¹g; Arabinose – 347,6 mg 100⁻¹g; Xilose – 133,8 mg 100⁻¹g e Malato – 33,6 mg 100⁻¹g). Porém, observamos que os carboidratos, Xilitol e Sacarose apresentaram o mesmo comportamento mencionado no modelo III, para os rizomas coletados no mês de A-22 (período chuvoso – inverno) em condições de cultivo em solo.

Diante dos resultados obtidos para o Modelo IV, destaco dois compostos, a trealose e a lactulose. Estudos tem chamado a atenção para compostos como a trealose, um dissacarídeo (açúcar solúvel) que atua como osmoprotetor em plantas produzindo efeitos regulatórios no crescimento, desenvolvimento e resistência ao estresse com seca, regulando respostas específicas que não são afetadas pela hexose, glicose e frutose, como ocorre via metabolismo da sacarose (ROLLAND; BAENA-GONZALEZ; SHEEN, 2006). Recentemente, um estudo de

Liang *et al.* (2021), relatou que, ao utilizar trealose e rafinose exógenas como marcadores de tolerância à seca, observaram um aumento no teor desses carboidratos sob estresse abiótico em raízes de *Codonopsis pilosula*, da família Campanulaceae. Comparando com o estudo realizado, os teores também aumentaram, tanto em solo quanto em vaso, nas amostras de rizomas coletados no mês de J-21 (período seco – inverno) (14 e 68%), conforme resultados apresentados acima, o que nos leva a inferir que esse composto pode ser utilizado como um marcador de tolerância a baixas precipitações na espécie de *P. grandiflorum*.

A lactulose, um carboidrato classificado como prebiótico, não é digerido pelo trato gastrointestinal humano e desempenha um papel importante na microbiota intestinal saudável. Seletivamente, a lactulose estimula a proliferação de populações de bactérias benéficas, que são encontradas naturalmente no intestino humano, tais como: *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, através da fermentação, o que ressalta o valor nutracêutico da espécie estudada (SAAD, 2006; SARON, 2003). De acordo com Kanwal *et al.* (2023) e Mizota (1996) a lactulose tem o objetivo de melhorar a saúde humana além de auxiliar no tratamento da constipação crônica, promovendo a saúde intestinal e mental, pois inibe a produção de substâncias nitrogenadas no intestino, que levam à inflamação do sistema nervoso, afetando a memória, o humor e o comportamento psicológico.

Os resultados do modelo V, que considera apenas o período de coleta dos rizomas dos meses de J-21 (período seco – inverno) vs de A-22 (período chuvoso – verão), destacam-se pelos níveis médios de concentração reduzidos do aminoácido (Treonina – 0,4 mg 100⁻¹g), do ácido orgânico (Maltose - 10,9 mg 100⁻¹g) e do carboidrato (Sacarose – 7,2 mg 100⁻¹g e Celobiose – 30,6 mg 100⁻¹g) para o mês de J-21 (período seco – inverno), quando comparado ao mês de A-22 (período chuvoso – verão). Além disso, esse resultado é semelhante ao encontrado no modelo III, no mesmo período de coleta, J-21 (período seco – inverno), para rizomas cultivados em solo.

Segundo Wedeking *et al.* (2018) Treonina e a Glutamina são considerados aminoácidos essenciais para a dieta humana e não são produzidos pelo corpo humano, portanto, devem ser incorporados por meio do consumo de carnes, laticínios, ovos, vegetais e frutas. No estudo realizado foram observadas alterações na concentração média da treonina em amostras de rizomas coletados no mês de J-21(período seco – inverno), o que foi precedido por um período de menor precipitação (233 mm), nos quatro meses anteriores à coleta. Quando comparamos com a precipitação média total do período de maior volume de água, nos quatro meses

anteriores à coleta dos rizomas coletados no mês de A-22 (período chuvoso – verão) (923 mm). Essa redução bastante significativa no regime hídrico (690 mm) indica que houve necessidade da espécie *P. grandiflorum* se adaptar e resistir à nova condição, mesmo que temporariamente. Esse resultado mostra que os aminoácidos, além de terem papel regulador no metabolismo primário decorrente das condições ambientais, também influenciam na qualidade nutricional dos alimentos o que corrobora com estudos realizados por Aharoni e Galili (2011).

Santos e Carlesso (1998), relataram que dependendo da intensidade do estresse hídrico, as plantas reduzem a absorção de água, a ponto de afetar a capacidade de fotossintetizar nutrientes essenciais. Esta ação afeta o crescimento e o desenvolvimento, tanto da parte aérea da planta quanto da raiz, uma vez que seu objetivo principal é adaptar à nova condição e sobreviver. Essa nova condição exige respostas moleculares complexas que levam a alteração, por exemplo, da peroxidase, catalase e de compostos orgânicos como os osmorreguladores e osmoprotetores, e alguns pesquisadores encontraram em seus estudos que ocorre um aumento nos teores de açúcar solúvel (dissacarídeos), prolina e proteína solúvel para evitar efeitos deletérios advindos do estresse hídrico, leve ou moderado, e promover a osmorregulação das estruturas intracelulares (MEENA; KAUR, 2019).

Diante dos resultados obtidos neste estudo podemos inferir que houve necessidade de adaptação e reorganização da síntese e distribuição dos metabolitos da espécie em estudo frente às condições impostas. O que corrobora com estudos realizados por Atkinson, Lilley e Urwin (2013); Iyer, Tang e Mahalingam (2013); Koussevitzky *et al.* (2008); Pandey, Ramegowda e Senthil-Kumar (2015); Prashc e Sonnewald (2013); Rasmussen *et al.* (2013); Rizhsky *et al.* (2004), que vem investigando os efeitos das mudanças condições ambientais e concluíram que cada combinação de duas ou mais condições de estresses exigem das espécies de plantas, diferentes combinações de adaptação, reorganização e respostas metabólicas para a realização de ações como as requeridas em mecanismos antioxidantes, fotossíntese, sinalização de hormônios e síntese de osmólitos e osmorreguladores.

4.4 Conclusões

A análise de RMN identificou 14 compostos primários em *P. grandiflorum*, sendo 10 açúcares, classificados em monossacarídeos (arabinose, galactose, ribose, xilitol e xilose) e dissacarídeos (celobiose, lactose, maltose, sacarose e trealose) e três aminoácidos (arginina, glutamina e treonina) e o malato.

Os resultados das análises classificatórias (PLS-DA) mostram que não há diferenças entre as formas de cultivo de *P. grandiflorum* em solo e em vasos com substrato, ainda que analisados em separado pelos meses de coleta das amostras dos rizomas, julho de 2021 (J-21) e abril de 2022 (A-22).

Os metabólitos identificados pela análise de RMN mostraram os seguintes comportamentos, em relação aos meses de coleta:

- a) Os carboidratos classificados como açúcares monossacarídeos, a arabinose, ribose e xilose apresentaram concentração média mais elevadas em amostras cultivadas, tanto em solo quanto em vasos, nos rizomas coletados em julho de 2021.
- b) Os Carboidratos classificados como dissacarídeos, a celobiose, a maltose e a sacarose apresentaram concentração média mais elevada, em amostras cultivadas tanto em solo quanto em vasos, nos rizomas coletados em abril de 2022.
- c) Entre os aminoácidos, a arginina foi mais elevada nas amostras, coletadas em julho de 2021, enquanto a treonina, apresentou-se mais elevada nas amostras coletadas em abril de 2022, cultivada tanto em solo quanto em vasos, respectivamente.
- d) O malato, apresentou concentração média mais elevada nas amostras cultivadas, tanto em solo quanto em vasos, em julho de 2021.

O fato das concentrações dos metabólitos primários serem diferentes em julho de 2021 e abril de 2022, nos dá o indicativo de que *P. grandiflorum* responde às condições de variação de precipitação, o que pode ser útil para orientar o crescimento da planta e aumentar a qualidade da espécie cultivada.

4.5 Recomendações para trabalhos futuros

É a primeira vez que se estuda *P. grandiflorum*, uma espécie de origem chinesa em condições tropicais, o que estimula a possibilidade da organização de um programa de pesquisa que considere os aspectos agrônômicos e fitoterápicos. O programa proporcionará perspectivas promissoras para a diversificação da produção agrícola brasileira tanto, no mercado interno quanto externo, permitindo que o Brasil deixe de ser importador para ser exportador desta matéria-prima.

A seguir queremos deixar algumas sugestões para estudos futuros:

- Estudo sobre a influência da fenologia e características reprodutivas de *P. grandiflorum* na produção de metabólitos primários, cultivada em clima tropical.
- Estudo utilizando análise de RMN, do metabolismo da espécie *P. grandiflorum*, para compreender as alterações das rotas metabólicas diante da série história de chuva, temperatura e eventos climáticos.
- Estudo de identificação e quantificação de metabólitos secundários, utilizando RMN da espécie *P. grandiflorum*, em clima tropical frente as mudanças das condições ambientais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Anuário estatístico do mercado farmacêutico. Brasília: NAVISA; SCMED, 2023. Disponível em:

[https://www.gov.br/anvisa/pt-](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/cmed/anuario-estatistico-2022)

[br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/cmed/anuario-estatistico-2022.](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/cmed/anuario-estatistico-2022)

Acesso em: 23 de setembro de 2023.

AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 239-244, 2011.

ALPINO, T. M. A. *et al.* Os Impactos das mudanças climáticas na segurança alimentar e nutricional: uma revisão da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 273–286, 2022.

ALTIERI, M. **Agroecologia**: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável. 4.ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2004.

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen’s climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ALVES, L. F. Production of phytotherapeutics in Brazil: history, problems and perspectives. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, jun. 2013.

APPLEQUIST, W. L. *et al.* Scientists’ warning on climate change and medicinal plants. **Planta Medica**, v. 86, n. 1, p. 10–18, 2020.

ARAÚJO, A. K.; ARAÚJO FILHO, J. A.; MARANHÃO, S. R. Consórcios de milho, feijão e mandioca em presença de bagana de carnaúba em um argissolo no litoral norte do Ceará sob condições de sequeiro. **Essentia** - revista de cultura, ciência e tecnologia da UVA, v. 18, n. 1, p. 2-23, 2017

ARRUDA, M. R.; MOREIRA, A.; PEREIRA, J. C. R. **Amostragem e cuidados na coleta de solo para fins de fertilidade**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2014. (Documentos, 115).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR FITOTERÁPICO, SUPLEMENTO ALIMENTAR E DE PROMOÇÃO DA SAÚDE. **Pleitos ABIFISA complexo econômico-industrial da saúde**. Curitiba: ABIFISA, 2022. (Ofício ABIFISA no 027/2022).

ATANASOV, A. G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021.

ATKINSON, N. J.; LILLEY, C. J.; URWIN, P. E. Identification of genes involved in the response of Arabidopsis to simultaneous biotic and abiotic stresses. **Plant Physiology**, v. 162, n. 4, p. 2028–2041, 2013.

BORGONOVO, E. Measuring uncertainty importance: investigation and comparison of alternative approaches. **Risk Analysis**, v. 26, n. 5, p. 1349-1361, 2006.

BORSATO, A. V.; JORGE, M. H. A. **Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas, condimentares e ornamentais**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2010. Folder.

BRAGA, J. C. B.; SILVA, L. R. Consumo de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: perfil de consumidores e sua relação com a pandemia de COVID-19 = Consumption of medicinal plants and herbal medicines in Brazil: consumer profile and its relationship with the COVID-19 pandemic. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano setorial de mitigação e adaptação às mudanças climáticas para consolidação da economia de baixa emissão de carbono na agricultura** – Plano ABC (agricultura de baixa emissão de carbono). Brasília, DF: MAPA/ACS, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **A Fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da central de medicamentos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política e programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006b. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/publicacoes>. Acesso em: 15 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Nº 971, de 03 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006c. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html. Acesso em: 15 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 21, de 15 de abril de 2014a**: dispõe sobre a fabricação e comercialização de produtos da medicina tradicional chinesa (MTC). Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0021_25_04_2014.pdf/view. Acesso em: 16 ago. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014b**: dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais e fitoterápicos. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnpmf/orientacao-ao-prescritor/Publicacoes/resolucao-rdc-no-26-de-13-de-maio-de-2014.pdf/view>. Acesso em: 16 ago. 2023.

BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry electronic supplementary information available. See <http://www.rsc.org/suppdata/an/b0/b003805i/>. **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2125-2154, 2000.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 179–189, 2000.

CAMARGO, M. T. L. A. **As Plantas medicinais e o sagrado**: a etnofarmacobotânica em uma revisão historiográfica da medicina popular no Brasil. São Paulo: Ícone, 2014.

- CANTER, P. H.; THOMAS, H.; ERNST, E. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 4, p. 180-185, 2005.
- CESAR, M. *et al.* Desempenho do pimentão em cultivo orgânico, submetido ao desbaste e consórcio. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 3, p.322-326, set. 2007.
- CHAS AMAYA. Disponível em: <https://chasamaya.com.br/>. Acesso em: 18 fev. 2009.
- CHAVES, M. M. *et al.* Eficiência do uso da água e rega deficitária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio. **Anais [...]**. Cabo Frio: SBF; UENF; UFRRJ, 2006.
- CHOI, J. N.; LEE, W. H. An Investigation of characteristics of chinese bellflower (*Platycodon grandiflorum* A.) cultivated soil. **Korean Journal of Plant Resources**, v. 31, n. 6, p. 660–666, 2018.
- COSTA, L. *et al.* Atividade antioxidante de pimentas do gênero Capsicum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, p. 1-9, 2009.
- CRESTANA, S.; FOSCHINI, M. M.; FERREIRA, M. D. Desafios da produção de frutas e hortaliças frente aos extremos climáticos: estudo de caso da citricultura paulista. In: FERREIRA, M. D. (Ed.). **Instrumentação pós-colheita em frutas e hortaliças**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2017. p. 106–123.
- DREW, S. W.; DEMAINE, A. L. Effect of primary metabolites on secondary metabolism. **Annual Review of Microbiology**, v. 31, n. 1, p. 343–356, 1977.
- FAROOQ, M. *et al.* Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Sustainable Agriculture**, v. 29, p. 185-212, 2009.
- FORTUNE BUSINESS INSIGHTSS. **Herbal Medicine Market Size, Share & COVID-19 Impact Analysis, By Application (Pharmaceutical & Nutraceutical, Food & Beverages, and Personal Care & Beauty Products), By Form (Powder, Liquid & Gel, and Tablets & Capsules), and Regional Forecast, 2022-2029**. Disponível em: <https://www.fortunebusinessinsights.com/herbal-medicine-market-106320>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- FUNARI, C. S. *et al.* Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, v. 36, p. 1605-1609, 2013.
- GURUNG, A. B. *et al.* Exploring the phytochemicals of *Platycodon grandiflorus* for TMPRSS2 inhibition in the search for SARS-CoV-2 entry inhibitors. **Journal of King Saud University-Science**, v. 34, n. 6, 2022. Doi: 10.1016/j.jksus.2022.102155.
- HOCH, J. C. *et al.* Biological magnetic resonance data bank. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. D1, p. D368-D376, 2023.

IYER, N. J.; TANG, Y.; MAHALINGAM, R. Physiological, biochemical and molecular responses to a combination of drought and ozone in *Medicago truncatula*. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 3, p. 706–720, 2013.

JEON, C. S. *et al.* Root rot of balloon flower (*Platycodon grandiflorum*) caused by *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*. **The Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 4, p. 440-445, 2013.

JI, M. Y. *et al.* The Pharmacological effects and health benefits of *Platycodon grandiflorus* - a medicine food homology species. **Foods**, v. 9, n. 2, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9020142>.

JIANG, L. *et al.* Quality control of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. based on value chains and food chain analysis. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41013-8>.

JUNG, G. B. *et al.* Chemical properties of medicinal plant cultivated soils. **Korean Journal of Soil Science and Fertilizer**, v. 29, n. 1, p. 20-25, 1996.

JUNG, Y. *et al.* Metabolite profiling of *Curcuma* species grown in different regions using ¹H NMR spectroscopy and multivariate analysis. **Analyst**, v. 137, n. 23, p. 5597–5606, 2012.

KANWAL, F. *et al.* O Papel potencial dos oligossacarídeos não digeríveis da família Rafinose como prebióticos. **Glicobiologia**, v. 33, n. 4, p. 274-288, 2023.

KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. NMR-based metabolomic analysis of plants. **Nature Protocols**, v. 5, n. 3, p. 536–549, Mar. 2010.

KOUSSEVITZKY, S. *et al.* Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 49, p. 34197–34203, 2008.

LEITE, M. L. S. **Manual de fitoterapia chinesa e plantas brasileiras**. São Paulo: Ícone, 2005.

LI, M. *et al.* Changes in the Platycodin content and physiological characteristics during the fruiting stage of *Platycodon grandiflorum* under drought stress. **Sustainability**, v. 14, n. 10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/su14106285>.

LI, Y. *et al.* The Effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80-89, 2020.

LIANG, Y. *et al.* Increase in carbohydrate content and variation in microbiome are related to the drought tolerance of *Codonopsis pilosula*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 165, p. 19–35, Aug. 2021.

LIMA FILHO, O. F. *et al.* **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília: Embrapa, 2014.

MATTOS, L. *et al.* **Marco referencial em agroecologia**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

MEENA, Y. K.; KAUR, N. Towards an understanding of physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in plant. **Annual Research & Review in Biology**, v. 31, n. 2, p. 1-13, 2019. DOI: 10.9734/arrb/2019/v31i230042.

MELO, L. F. *et al.* Potencial ornamental de acessos de pimenta. **Ciência Rural**, v. 44, p. 2010–2015, nov. 2014.

MIZOTA, T. *et al.* **Alimentos funcionais e nutricionais contendo fatores bifidogênicos**. [S.l.: s.n., 1996].

NANDAGOAPALAN, V.; DOSS, A.; MARIMUTHU, C. Phytochemical analysis of some traditional medicinal plants. **Bioscience Discovery**, v. 7, n. 1, p. 17-20, 2016.

NGUYEN, H. T. *et al.* A ¹H NMR-based metabolomics approach to evaluate the geographical authenticity of herbal medicine and its application in building a model effectively assessing the mixing proportion of intentional admixtures: a case study of Panax ginseng: metabolomics for the authenticity of herbal medicine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 124, p. 120–128, 2016.

NGUYEN, T. K. L. *et al.* Optimization of cultivation type and temperature for the production of balloon flower (*Platycodon grandiflorum* A. DC) sprouts in a plant factory with artificial lighting. **Horticulture**, v. 8, n. 4, 2022.

DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040315>.

PAIXÃO, J. L. F.; OLIVEIRA, J. E. Z. Horta orgânica de ervas medicinais: inclusão social na comunidade da Barra em Muriaé/MG-Brasil. **Revista Agrogeoambiental**, v. 5, n. 2, 2013. DOI: <https://doi.org/10.18406/2316-1817v5n22013485>.

PANDEY, P.; RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, Sept. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00723>.

PANT, P.; PANDEY, S.; DALL'ACQUA, S. The Influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: a literature review. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 11, 2021. DOI: 10.1002/cbdv.202100345.

PARODA, R. *et al.* **Expert consultation on promotion of medicinal and aromatic plants in the asia-pacific region**: proceedings. Bangkpk: APAARI, 2013.

PARVEEN, B. *et al.* Challenges and opportunities for traditional herbal medicine today, with special reference to its status in India. **Annals of Phytomedicine**, v. 9, n. 2, p. 97–112, 2020.

PATNI, B. *et al.* Alarming influence of climate change and compromising quality of medicinal plants. **Plant Physiology Reports**, v. 27, n. 1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40502-021-00616-x>.

PELLUCCI, P. R. S. *et al.* Utilização de técnicas de aprendizado de máquina no reconhecimento de entidades nomeadas no português. **e-xacta**, v. 4, n. 1, p. 73-81, 2011.

PILON, A. C. *et al.* Metabolômica de plantas: métodos e desafios. **Química Nova**, v. 43, p. 329-354, 2020.

PRASCH, C. M.; SONNEWALD, U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to Arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks. **Plant Physiology**, v. 162, n. 4, p. 1849–1866, 2013.

QUEIROZ, D. M. *et al.* (Ed.). **Agricultura digital**. São Paulo: Oficina de Textos, 2022.

RASMUSSEN, S. *et al.* Transcriptome responses to combinations of stresses in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 161, n. 4, p. 1783–1794, 2013.

RIBEIRO, C. S. C. P. *et al.* (Ed.). **Capsicum**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008.

RIZHISKY, L. *et al.* When defense pathways collide. The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology**, v. 134, n. 4, p. 1683–1696, 2004.

ROBERTS, L. D. *et al.* Targeted metabolomics. **Current Protocols in Molecular Biology**, v. 98, n. 1, p. 30.2. 1-30.2. 24, 2012.

ROCHA, F. A. G. *et al.* O Uso terapêutico da flora na história mundial. **Holos**, v. 1, p. 49-61, 2015.

RODRIGUES, W. Competitividade e mudança institucional na cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil. **Interações**, v. 17, p. 267-277, 2016.

ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 675–709, 2006.

RONQUIM, C. C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**. Brasília, DF: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010.

ROSA, M. *et al.* Soluble sugars-metabolism, sensing and abiotic stress a complex network in the life of plants. **Plant Signaling and Behavior**, v. 4, n. 5, p. 388–393, maio 2009.

RUBENECIA, M. R. U. *et al.* Soil properties affecting the growth and quality of Balloon Flower roots. **Agrochimica**, v. 58, n. 1, p. 119–131, 2014.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-16, 2006.

SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema brasileiro de classificação de solos**.

Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094003/sistema-brasileiro-de-classificacao-de-solos>. Acesso em: 7 ago. 2023.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, p. 287–294, 1998.

SARON, M. L. G. **Aproveitamento do permeado de soro de leite bovino através da transformação da lactose em lactulose e como ingrediente para meios de culturas de bactérias probióticas**. 2003. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SARTORELLI, P. A. R. *et al.* Rebrotas após fogo de espécies arbóreas de diferentes grupos fenológicos foliares em cerrado. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 6, n. 10, p. 1678–1691, 2007.

SHILLAN, D. *et al.* Use of machine learning to analyse routinely collected intensive care unit data: a systematic review. **Critical Care**, v. 23, n. 1, p. 284, Aug. 2019.

SILVA, L. L. *et al.* Caracterização morfológica de *Fusarium* spp. causadores de podridão radicular do feijoeiro comum. *In*: SEMINÁRIO JOVENS TALENTOS, 8., 2014, Santo Antônio de Goiás. **Seminário [...]**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2015.

SILVA FILHO, R. C. Chinese medicine in Brazil. **Longhua Chinese Medicine**, v. 4, n. 6, Mar. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.21037/lcm-2021-004>.

SINGH, P. A. *et al.* An Overview of some important deliberations to promote medicinal plants cultivation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 31, p. 100-400, 2022.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 435–440, jul. 2010.

SPRICIGO, P. C. *et al.* Quality attributes and metabolic profiles of uvaia (*Eugenia pyriformis*), a native brazilian atlantic forest fruit. **Foods**, v. 12, n. 9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12091881>.

TARACHIWIN, L. *et al.* Quality evaluation of *Angelica acutiloba* Kitagawa roots by 1H NMR-based metabolic fingerprinting. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 1, p. 42–48, Sept. 2008.

TEIXEIRA, J. B. P. *et al.* **A Fitoterapia no Brasil: da medicina popular à regulamentação pelo Ministério da Saúde**. 2012. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/309130032/A-Fitoterapia-no-Brasil-da-Medicina-Popular-a-regulamentacao-pelo-Ministerio-da-Saude>. Acesso em: 24 de setembro 2023.

ULRICH-MERZENICH, G. *et al.* Application of the “-Omic-” technologies in phytomedicine. **Phytomedicine**, v. 14, n. 1, p. 70-82, 2007.

VALÉCIO, M. **Vendas de fitoterápicos crescem 6% em ano de retração.** Disponível em: <https://guiadafarmacia.com.br/especial/vendas-de-fitoterapicos-crescem-6-em-ano-de-retracao/>. Acesso em: 16 jun. 2018.

VAN RAIJ, B. *et al.* **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** 2.ed.rev.e atual. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. (Boletim Técnico, v. 100).

VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H.; KIM, H. K. NMR-based metabolomics at work in phytochemistry. **Phytochemistry reviews**, v. 6, p. 3-14, 2007.

VETTORE, R. **Brasil ganha terreno como exportador de pimenta.** Disponível em: <https://anba.com.br/brasil-ganha-terreno-como-exportador-de-pimenta/>. Acesso em: 21 ago. 2023.

VILLAS-BÔAS, S. G.; GOMBERT, A. K. Análise do metaboloma: uma ferramenta biotecnológica emergente na era pós-genômica. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, p. 58-69, 2006. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/>. Acesso em: 18 set. 2023.

WARIS, M. *et al.* Metabolomics analysis insight into medicinal plant science. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 157, Dec. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116795>.

WEDEKING, R. *et al.* ¹H-NMR metabolomic profiling reveals a distinct metabolic recovery response in shoots and roots of temporarily drought-stressed sugar beets. **PLoS ONE**, v. 13, n. 5, May 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196102>.

WOLFENDER, J.-L. *et al.* MS-based plant metabolomic approaches for biomarker discovery. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 10, p. 1417-1430, 2009.

WORLEY, B.; POWERS, R. Multivariate analysis in metabolomics. **Current Metabolomics**, v. 1, n. 1, p. 92-107, 2013.

YAMAMOTOYAMA. Disponível em: <https://www.yamamotoyama.com.br/>. Acesso em: 21 nov. 2010.

YING, Y. *et al.* Flowering phenology and reproductive characteristics of *Platycodon grandiflorum*. **Journal of Jilin Agricultural University**, v. 36, n. 3, p. 294–299, 2014.

ZANCANARO, R. D. **Pimentas: tipos, utilização na culinária e funções no organismo.** 2008. Monografia (Especialização em Gastronomia e Saúde) – Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

ZENI, A. L. B. *et al.* Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na atenção primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 2703–2712, ago. 2017.

ZHANG, L. *et al.* *Platycodon grandifloras* – an ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 147–161, 2015.

ZHANG, S. *et al.* *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.: a review of phytochemistry, pharmacology, toxicology and traditional use. **Phytomedicine**, v.106, Nov. 2022.
DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154422.

ZHANG, W.-J. *et al.* Effects of *Platycodon grandiflorum*/pepper intercropping on root growth, yield and quality of *Platycodon grandiflorum*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi = Zhongguo Zhongyao Zazhi = China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 43, n. 6, p. 1111–1117, 2018.

APÊNDICE A

Tabela 1 - Espécies com potencial para uso medicinal verificadas nas bases de dados Scopus e Web of Science por categoria e estudos realizados no Brasil.

Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Dente de Leão (<i>Taraxacum mongolicum</i>) Família: Asteraceae	<i>Taraxacum officinale</i> Weber.	Scopus: 916	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (122); Medicine (102); Chemistry (69) = 264	12 trabalhos do Brasil	
		Web of science: 1.074	Pharmacology Pharmacy (95); Chemistry Medicinal (66); Medicine Research Experimental (7); Medical Laboratory Technology (2) = 120	3 trabalhos do brasil (2 estudos fruto e 1 sobre herbívoros que se alimentam desta sp e outras)	
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
	Taraxacum campyloides G.E. Haglund.	Scopus: 5	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (3); Agricultural and Biological Sciences (1); Medicine (1) = 5	nenhum estudo feito no Brasil	
		Web: 5	Integrative Complementary Medicine (4); Chemistry Medicinal (3); Pharmacology Pharmacy (3); Medicine General Internal (1) = 4	nenhum estudo feito no Brasil	
Ginseng americano; Raiz do mar ocidental (<i>Panax quinquefolium</i>) - Família: Araleaceae	Panax quinquefolium	Scopus: 338	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (127); Medicine (98); Chemistry (81); Immunology and Microbiology (13); = 238	238 refinando pelas categorias - nenhum estudo do Brasil	Araleaceae
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 363	Pharmacology Pharmacy (83); Chemistry Medicinal (68); Medicine General Internal (8); Immunology (5); Integrative Complementary Medicine (35) = 111	111 refinado pelas categorias - nenhum estudo do Brasil	
Ginseng falso (raiz) (<i>Panax notoginseng</i> ; <i>Flos Pseudoginseng</i>) - Família: <i>Araliaceae</i>	<i>Panax notoginseng</i>	Scopus: 1363	Medicine (602); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (575); Chemistry (268); Multidisciplinary (12); Dentistry (3) = 1.82	1.082 refinado na busca por categoria - nenhum estudo no Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 1.404	Pharmacology Pharmacy (433); Chemistry Medicinal (234); Integrative Complementary Medicine (222); Medicine Research Experimental (68); Medicine General Internal (33) = 650	650 refinado na busca por categoria - nenhum estudo no Brasil	
Ginseng vermelho chinês (Panax ginseng)	Panax ginseng	Scopus:3.193	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics; (1,199); Medicine; (1,132); Chemistry; (619); Multidisciplinary (30); = 2.282	2.282 refinado na busca por categoria - 22 estudos do Brasil	
		Web: 4.685	Pharmacology pharmacy (1,244); Chemistry medicinal (1,117); Integrative complementary medicine (918); =1.959	1.959 refinado na busca por categoria - 14 estudos do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Goji berry (<i>Lycium Chinense</i>) - Sinfonia na China	Lycium barbarum	Scopus: 741	Medicine (242); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (142); Chemistry (135); Multidisciplinary (10) = 446	446 refinado na busca por categoria - 4 estudos do Brasil	Solanaceae
		Web: 846	Pharmacology pharmacy (117); Chemistry medicinal (72); Integrative complementary medicine (55); Medicine research experimental (55); Medicine general internal (10); = 212	212 refinado na busca por categoria - 1 estudos do Brasil (Santa Catarina)	
	Lycium chinense (Sinforina)	Scopus: 222	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (73); Chemistry Show preview for (59); Medicine (48); Immunology and Microbiology (11); =138	138 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 226	pharmacology pharmacy (55); chemistry medicinal (47); medicine general internal (5); chemistry multidisciplinary (27) =97	97 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Goji Berry preto	Lycium ruthenicum	Scopus:100	Chemistry (28); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (19); Medicine (17); Immunology and Microbiology (4);	54 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
		Web: 72	chemistry applied (20); chemistry medicinal (7); chemistry multidisciplinary (6); medicine research experimental (3); integrative complementary medicine (2); = 36	refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Ginkgo biloba (<i>Ginkgo biloba</i>)	Ginkgo biloba	Scopus: 4336	Medicine (1,914); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics r (1,294); Chemistry (551); Multidisciplinary (35) =3091	3091 refinado na busca por categoria - 92 estudos do Brasil	Ginkgoaceae
		Web: 5738	pharmacology pharmacy (1,538); chemistry medicinal (506); integrative complementary medicine (399) =	1808 refinado na busca por categoria - 64 estudos do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Zedoania	Curcuma zedoaria	Scopus: 185	pharmacology pharmacy (43); chemistry medicinal (37); integrative complementary medicine (25); = 62	62 refinado na busca por categoria - 3 estudos do Brasil	Zingiberaceae
Continua					

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 221	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (82); Chemistry (62); Medicine (49); = 146	146 refinado na busca por categoria - 5 estudos do Brasil	
		Scopus: 3185	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (1,004); Medicine (986); Chemistry (446); = 1980	1980 refinado na busca por categoria - 118 estudos do Brasil	
	Curcuma longa (raiz alaranjada - acho que é a que usamos como tempero)	Web: 3040	pharmacology pharmacy (685); chemistry medicinal (342); integrative complementary medicine (212); =877	877 refinado na busca por categoria - 24 estudos do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Madresilvia; as flores da lonicera japônica é associada com a forsythia suspensa para fazer a eliminação das toxinas e também reduzir a febre.	Lonicera Japonica	Scopus: 660	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (231); Medicine Chemistry (139);	375 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Caprifoliaceae
		Web: 624	pharmacology pharmacy (153); chemistry medicinal (105); integrative complementary medicine (47); =185	185 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
	Lonicera periclymenum	Scopus: 30	Chemistry (2); Medicine (1); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (1);	3 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Violeta	Saintpaulia ionantha	Web: 30	Chemistry Multidisciplinary (3); Chemistry Medicinal (2); Pharmacology Pharmacy (2); = 4	4 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Violaceae
		Scopus:123	Immunology and Microbiology (11); Medicine (4); Chemistry (2); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (2); =17	17 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
		Web: 159	biotechnology applied microbiology (14); biochemistry molecular biology (11); mycology (1); oncology (1); virology (1) =24	24 refinado na busca por categoria - 4 estudos do Brasil	
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
	Viola odorata (violeta de cheiro)	Scopus: 105	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (31); Medicine (23); Chemistry (17); =56	56 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
		Web: 130	Pharmacology Pharmacy (28); Chemistry Medicinal (22); Integrative Complementary Medicine (8); Medicine Research Experimental (3); =41	41 refinado na busca por categoria - 2 estudos do Brasil	
tanchagem; transagem	Plantago major	Scopus: 555	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics Show preview for (112); Medicine Show preview for (78); Chemistry Show preview for (47); =187	187 refinado na busca por categoria - 21 estudos do Brasil	Plantaginaceae
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 654	pharmacology pharmacy (74); chemistry medicinal (56); integrative complementary medicine (33); =91	91 refinado na busca por categoria - 6 estudos do Brasil	
	Plantago lanceolata	Scopus:1130	Medicine Show preview for (94); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics Show preview for (66); Chemistry Show preview for (35); =173	173 refinado na busca por categoria - 4 estudos do Brasil	
		Web: 1129	pharmacology pharmacy (42); chemistry medicinal (29); integrative complementary medicine (20); medicine research experimental (4); =51	51 refinado na busca por categoria - 2 estudos do Brasil	
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
	Plantago asiatica	Scopus: 198	Chemistry Show preview for (41); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics Show preview for (40); Medicine Show preview for (22); =82	82 refinado na busca por categoria - 1 estudos do Brasil	
		Web: 209	pharmacology pharmacy (33); chemistry medicinal (24); integrative complementary medicine (11); =41	41 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Erva doce (Funcho)	Foeniculum officinale All.	Scopus: 4	Chemistry (2); Medicine (2) =4	4 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Apiaceae
		Web:1	Chemistry Multidisciplinary (1)	refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
	Foeniculum vulgare (Brasileiro)	Scopus: 953	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (232); Medicine (206); Chemistry (187); =505	505 refinado na busca por categoria - 30 estudos do Brasil	
		Web: 1034	Pharmacology Pharmacy (6); Chemistry Medicinal (134); Integrative Complementary Medicine (66); =223	223 refinado na busca por categoria - 8 estudos do Brasil	
Platycodon grandiflorus (Campainha da China)	Platycodon grandiflorus (Campainha da China) no Brasil também conhecida como Flor Balão	Scopus: 28	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (6); Chemistry (4); Medicine (4); =10	10 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Campanulaceae
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 32	Integrative Complementary Medicine (4); Chemistry Medicinal (3); Medicine Research Experimental (2); =9	9 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Radix Bupleuri (Alçaçuz)	Radix Bupleuri (Alçaçuz)	Scopus: 192	Medicine (88); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (88); Chemistry (27); Multidisciplinary (2); =161	161 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Umbelíferas
Continua					

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 134	Integrative Complementary Medicine (36); Chemistry Medicinal (26); Chemistry Multidisciplinary (13); Medicine Research Experimental (12); =93	93 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Rehmannia glutinosa (Erva amarela do Imperador)	Rehmannia glutinosa (Erva amarela do Imperador)	Scopus: 503	Medicine (174); Multidisciplinary (7) =305	305 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Scrophulariaceae.
		Web: 456	Chemistry Medicinal (94); Integrative Complementary Medicine (87); Medicine Research Experimental (15); =187	187 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Roambi - filodendro	Phellodendron amurense	Scopus 288	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (62), Medicina 57, química 49=199	199 refinado na busca por categoria - 1 estudo do Brasil	Rutaceae
					Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web: 218	Pharmacology Pharmacy (53), Chemistry Medicinal (37), Integrative Complementary Medicine (26), Medicine Research Experimental (6), Medicine General Internal (4), Medical Laboratory Technology (1) =73	73 refinado na busca por categoria - 2 estudos do Brasil	
Gergilim preto	sesamum indicum	Scopus: 1006	Chemistry (128); Medicine (102); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (86); =266	266 refinado na busca por categoria - 9 estudos do Brasil	Pedaliaceae
		Web: 1300	pharmacology pharmacy (35); chemistry medicinal (32); integrative complementary medicine (11); medicine research experimental (8); medicine general internal (6); =67	67 refinado na busca por categoria - 2 estudos do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Lotus - (semente de lotos; receptáculo da flor; folhas; Plúmula; nódulo do rizoma)	Nelumbo nucifera	Scopus: 814	Chemistry (150); Medicine (121); =398	398 refinado na busca por categoria - 2 estudos do Brasil	Nelumbonaceae
		Web: 894	Chemistry Medicinal (95); Integrative Complementary Medicine (64); Medicine General Internal (8); =188	188 refinado na busca por categoria - 3 estudos do Brasil	
Lágrima de nossa senhora	Coix lachryma jobi	Scopus: 74	Chemistry (22); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (17); = 48	48 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Poaceae
		Web: 94	Chemistry Medicinal (18); Integrative Complementary Medicine (9); Medicine Research Experimental (3); Medicine General Internal (1) =26	26 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Taboa (Typha angustifolia)	Typha domingensis	Scopus: 385	Chemistry (16); Medicine (11); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (11); =33	33 refinado na busca por categoria - 6 estudos do Brasil	Typhaceae
		Web: 407	Pharmacology Pharmacy (4); Chemistry Medicinal (2); Integrative Complementary Medicine (1); =5	5 refinado na busca por categoria - 1 estudo do Brasil	
Continua					

Continuação					
Continuação	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Glycyrrhiza glabra	Glycyrrhiza glabra Linné	Scopus: 1015	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (428); Medicine (321); Chemistry (168); =703	703 refinado na busca por categoria - 7 estudos do Brasil	Fabaceae
		Web: 981	Pharmacology Pharmacy (296); Chemistry Medicinal (194); Integrative Complementary Medicine (106); Medicine Research Experimental (33); =402	402 refinado na busca por categoria - 5 estudos do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Paeônia (Paeonia rubrae; P. lactiflora; P. suffruticos)	Paeonia officinalis	Scopus: 18	Medicine (2); Chemistry (1); Multidisciplinary (1) = 4	4 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Paeoniaceae
		Web: 20	Chemistry Multidisciplinary (1); Pharmacology Pharmacy (1); =2	2 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Ora-pro-nóbis	Pereskia aculeata	Scopus: 53	Medicine (8); Chemistry (7); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (6); =19	19 refinado na busca por categoria - 19 estudos do Brasil	Cactaceae
		Web: 60	chemistry medicinal (6); pharmacology pharmacy (4); integrative complementary medicine (2); medical laboratory technology (1) =7	7 refinado na busca por categoria - 7 estudos do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Unha de gato	Uncaria tomentosa	Scopus:237	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (113); Medicine (81); Chemistry (41); =170	170 refinado na busca por categoria - 42 estudos do Brasil	Rubiaceae
		Web:289	Chemistry Medicinal (95); Integrative Complementary Medicine (75); Medicine General Internal (2); Medicine Research Experimental (3); =151	151 refinado na busca por categoria - x 31 estudo do Brasil	
Semente de pêsego	Prunus persica	Scopus: 2.191	Chemistry (101); Medicine (75); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (68); = 208	208 refinado na busca por categoria - 6 estudos do Brasil	Rosaceae
Continua					

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
		Web:4.158	Pharmacology Pharmacy (28); Medicine Research Experimental (4); Integrative Complementary Medicine (18); Medical Laboratory Technology (1); =39	39 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	
Miolo do damasco	Prunus armeniaca Semen	Scopus: 765	Chemistry (61); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (30); Medicine (28); =106	106 refinado na busca por categoria - nenhuns estudos do Brasil	Rosaceae
		Web: 1482	Pharmacology Pharmacy (21); Chemistry Medicinal (17); Integrative Complementary Medicine (6); Medicine General Internal (2); Medicine Research Experimental (2); =31	31 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	

Continua

Continuação					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Casca de laranjinha - tangerina cravo (Rutaceae) - laranjinha Kinkan?	Fortunella margarita	Scopus: 51	Chemistry (11); Medicine (4); Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (4) =14	14 refinado na busca por categoria - nenhum estudo do Brasil	Rutaceae
		Web: 56	Chemistry Multidisciplinary (4); Chemistry Medicinal (2); Pharmacology Pharmacy (2); =5	5 refinado na busca por categoria - nenhum estudo no Brasil	
Continua					

Conclusão					
Nome Popular e Científico da espécie Chinesa	Nome Científico da espécie do Brasil	Base de dados pesquisado e resultado sem refinamento por categorias	Categorias pesquisadas	Resultado da busca após refinamento por categorias e estudos realizados no Brasil	Família
Cuscutai (Fios de Ovos; Cipó Chumbo)	Cuscuta racemosa Mart. et Humb	Scopus: 5	Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics (3); Chemistry (1); Agricultural and Biological Sciences (1); Biochemistry, Genetics and Molecular Biology (1) =4	4 refinado na busca por categoria - 4 estudos do Brasil	Convolvulaceae
		Web:4	Pharmacology Pharmacy (2) Biochemical Research Methods (1) Chemistry Analytical (1) Chemistry Medicinal (1) Plant Sciences (1)	4 refinado na busca por categoria - 4 estudos do Brasil	

APÊNDICE B

Tabela 2: Dados mensais de médias das temperaturas máximas e mínimas, precipitação acumulada e médias de radiação solar do ano de 2020.

Meses do ano de 2020	Temperatura Média		Precipitação (mm)	Radiação Solar (MJ.m ⁻²)
	Máxima	Mínima		
Jan	29,0	18,9	244	21
Fev	27,2	18,6	370	17
Mar	28,8	17,6	66	22
Abr	27,6	15,9	4	19
Mai	24,6	13,4	23	16
Jun	25,7	15,3	29	14
Jul	26,5	14,3	1	17
Ago	26,6	14,0	17	18
Set	30,0	20,1	34	20
Out	30,6	18,1	62	20
Nov	29,7	16,4	117	25
Dez	27,8	18,4	287	20

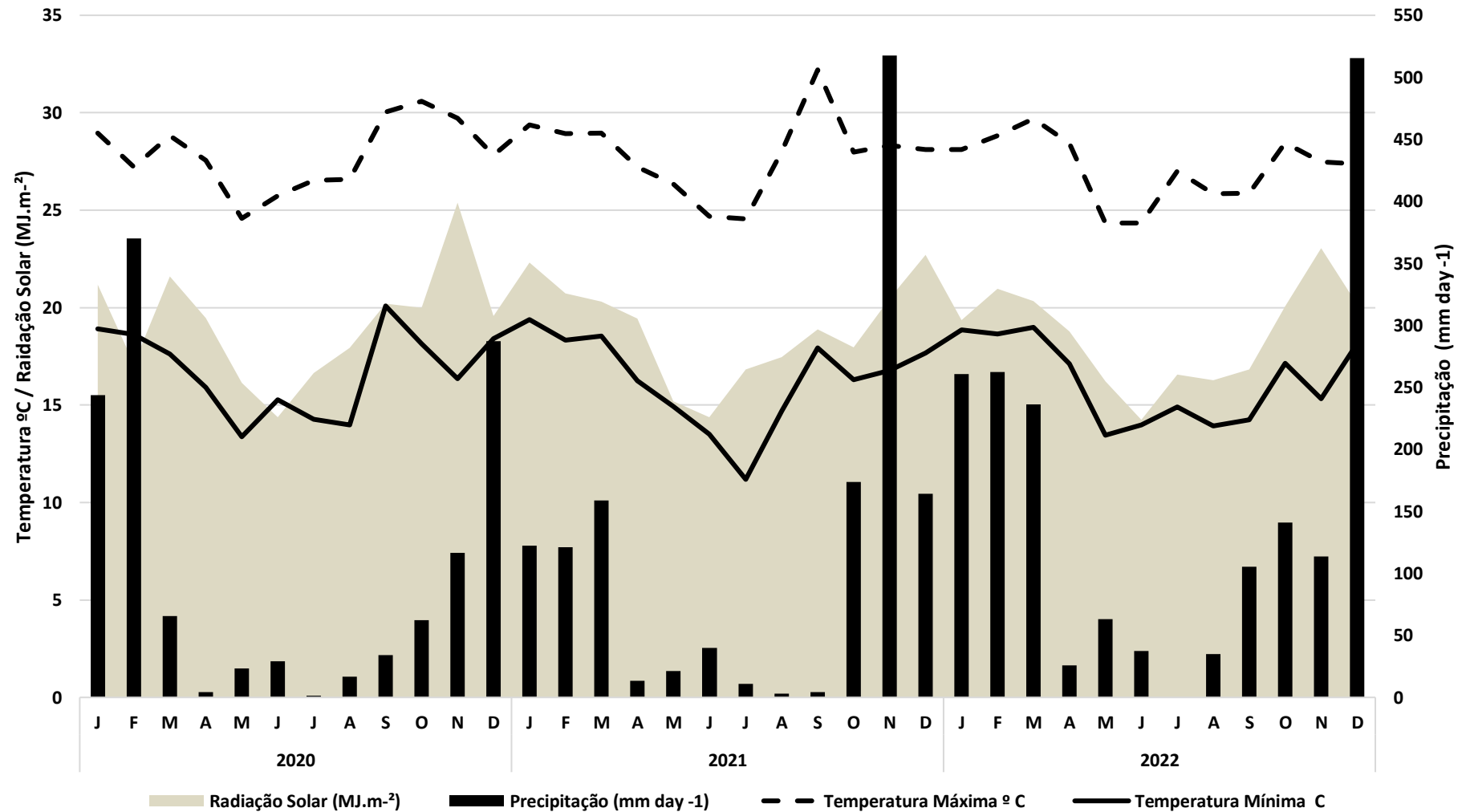
Tabela 3: Dados mensais de médias das temperaturas máximas e mínimas, precipitação acumulada e médias de radiação solar do ano de 2021.

Meses do ano de 2021	Temperatura Média		Precipitação (mm)	Radiação Solar (MJ.m ⁻²)
	Máxima	Mínima		
Jan	29,4	19,4	122	22
Fev	28,9	18,3	121	21
Mar	29,0	18,5	159	20
Abr	27,2	16,3	13	19
Mai	26,3	14,9	21	15
Jun	24,7	13,5	40	14
Jul	24,6	11,2	11	17
Ago	28,0	14,7	9	17
Set	32,2	17,9	4	19
Out	28,0	16,3	174	18
Nov	28,3	16,8	517	20
Dez	28,1	17,7	164	23

Tabela 4: Dados mensais de médias das temperaturas máximas e mínimas, precipitação acumulada e médias de radiação solar do ano de 2022.

Meses do ano de 2022	Temperatura Média		Precipitação (mm)	Radiação Solar (MJ.m ⁻²)
	Máxima	Mínima		
Jan	28,1	18,9	261	19
Fev	28,8	18,6	262	21
Mar	29,7	19,0	236	20
Abr	28,4	17,1	26	19
Mai	24,3	13,5	63	16
Jun	24,3	14,0	37	14
Jul	27,0	14,9	0	17
Ago	25,8	13,9	35	16
Set	25,9	14,2	105	17
Out	28,5	17,2	141	20
Nov	27,5	15,3	114	23
Dez	27,4	18,2	516	20

Figura 1: Precipitação, médias das temperaturas máximas e mínimas e médias da radiação solar mensal de 2020, 2021 e 2022.



APÊNDICE C

Figura 2: Resultado da análise realizada no minerador de dados WEKA onde foram analisadas as 264 amostras por condições de cultivo (solo e vaso com substrato), meses de coleta e ano (julho 2021 - J-21 e abril 2022 - A-22) e média das concentrações dos compostos identificados na análise de RMN.

```

Randon Forest use training
Correctly Classified Instances   264      100 %
Incorrectly Classified Instances  0        0 %
Kappa statistic                  1
Mean absolute error             0.1853
Root mean squared error         0.1874
Relative absolute error         37.0542 %
Root relative squared error     37.4735 %
Total Number of Instances      264

```

=== Detailed Accuracy By Class ===

	TP Rate	FP Rate	Precision	Recall	F-Measure	MCC	ROC Area	PRC Area	Class
	1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	DW
	1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	RS
Weighted Avg.	1,000	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	

=== Confusion Matrix ===

```

a b <-- classified as
132 0 | a = DW
0 132 | b = RS

```

APÊNDICE D

Análise exploratória dos dados obtidos a partir das coletas de amostras dos rizomas de *P. grandiflorum*

Os resultados mostraram 1783 variáveis, onde cada variável identifica a intensidade do pico na região do espectro. Os espectros das amostras dos rizomas coletados nos meses de julho de 2020, abril e julho de 2021 e abril de 2022, tanto em vaso quanto em solo, encontram-se nas figuras 1, 2, 3 e 4. Bem como a sobreposição dos espectros das coletas realizadas em abril de 2020 e abril de 2022 e julho de 2020 e julho de 2021 podem ser observados nas figuras 5 e 6. Para esta análise não foram consideradas as diferentes condições de cultivo em solo, apenas o mês da coleta.

Figura 1: Espectro das amostras coletadas no mês de J-20 (azul) em vasos e no consórcio, *P. grandiflorum* e pimentas do gênero *Capsicum*.

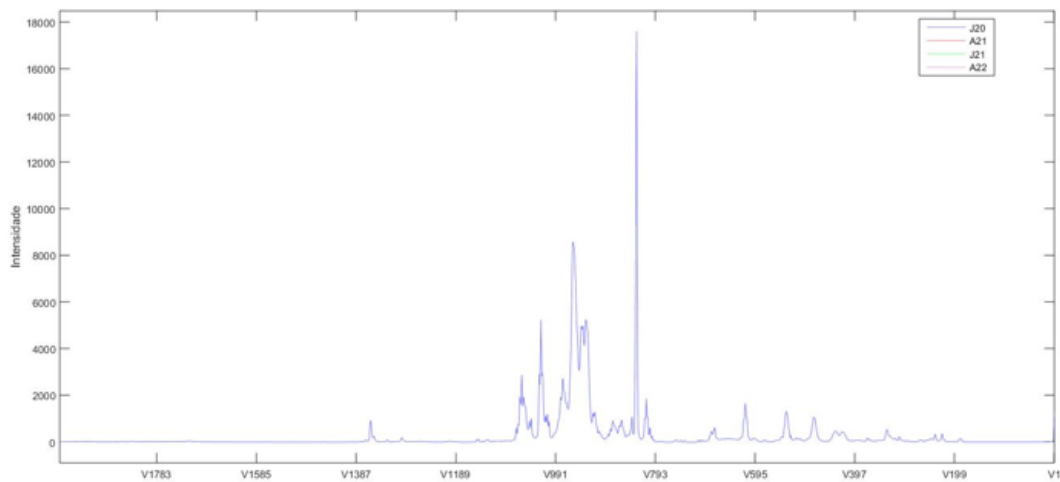


Figura 2: Espectro das amostras coletas no mês de A-21 (vermelho) em vasos e no consórcio *P. grandiflorum*, Crotalária e pimentas do gênero *Capsicum*.

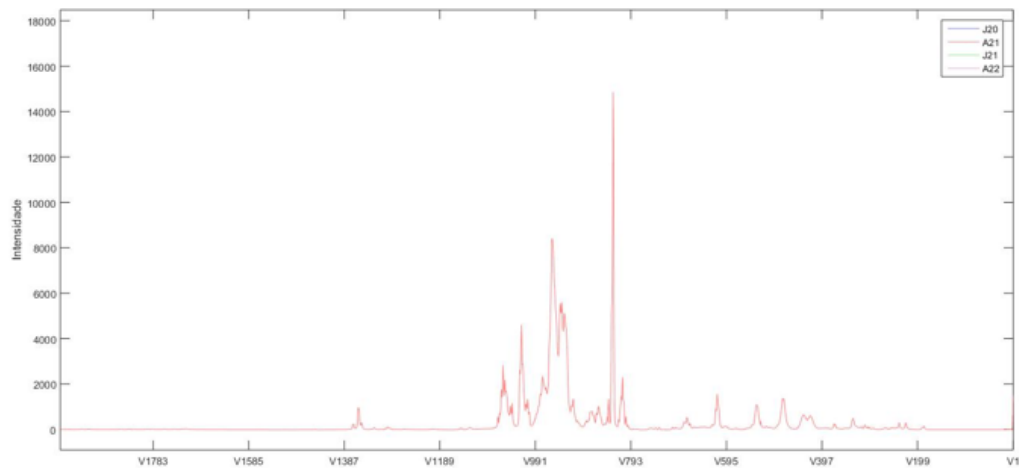


Figura 3: Espectros das amostras coletas no mês de J-21 (verde) em vasos e em solo quando não havia consórcio, somente plantio de *P. grandiflorum*.

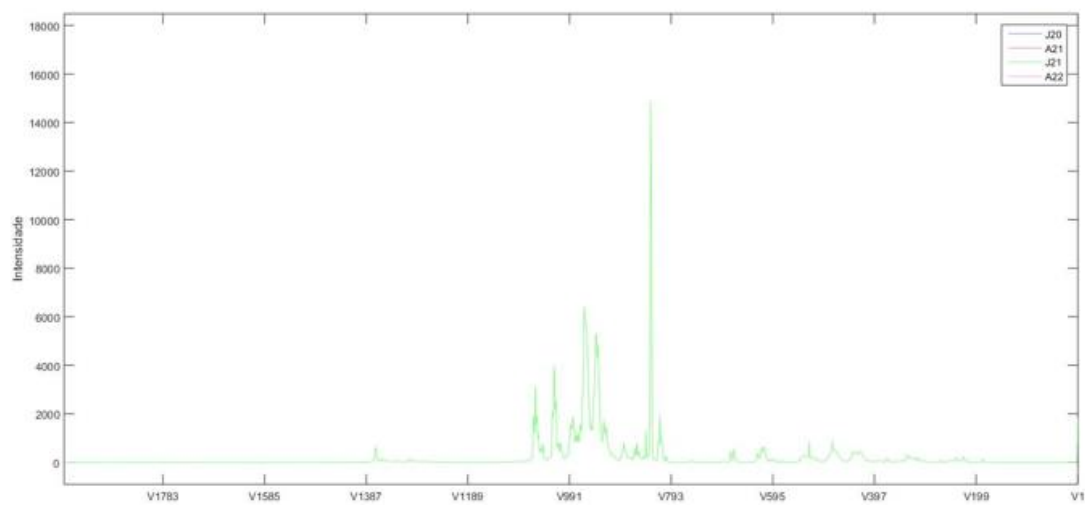


Figura 4: Espectros das amostras coletadas no mês de A-22 (roxo) em vasos e em solo quando não havia consórcio, somente plantio de *P. grandiflorum*.

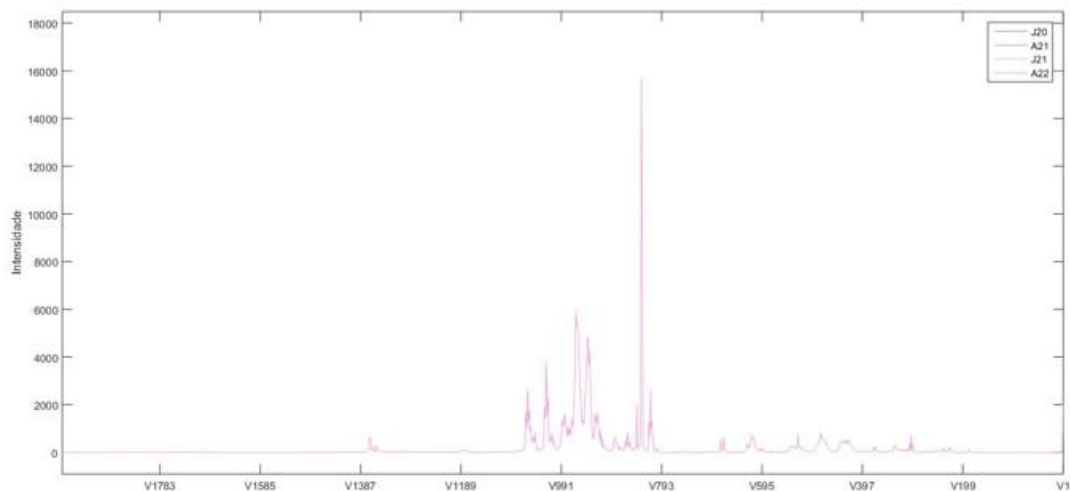


Figura 5: Espectros sobrepostos das amostras coletas, em vasos e solo, nos meses de abril de 2020 e abril de 2022 (vermelho e roxo), não considerando as condições de plantio em solo.

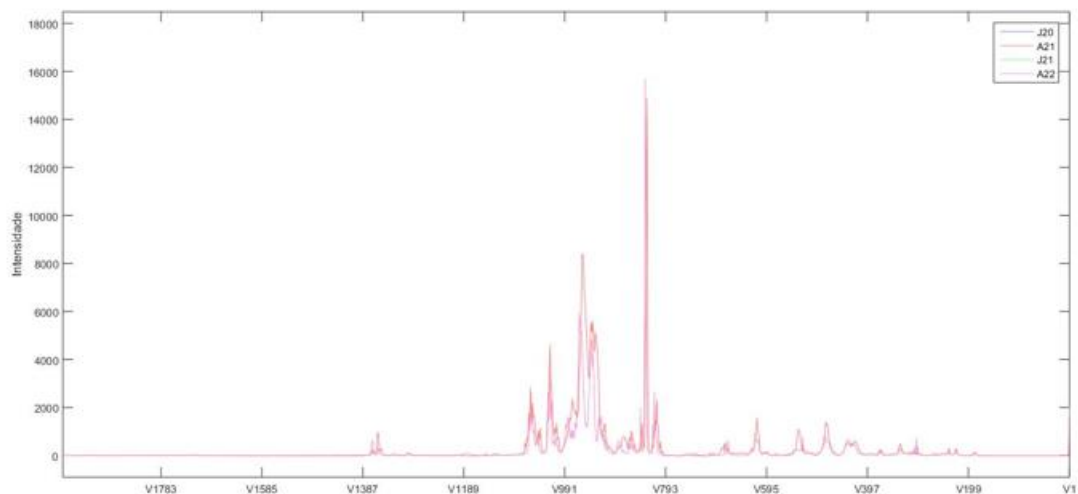


Figura 6: Espectros sobrepostos das amostras coletas, em vasos e em solo, nos meses de julho de 2020 e julho de 2021 (verde e azul) não considerando as condições de plantio.

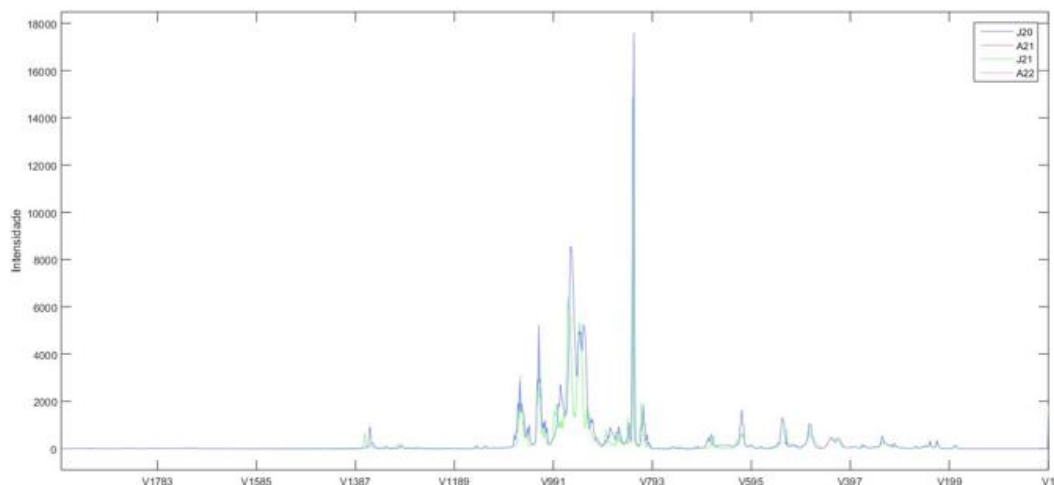
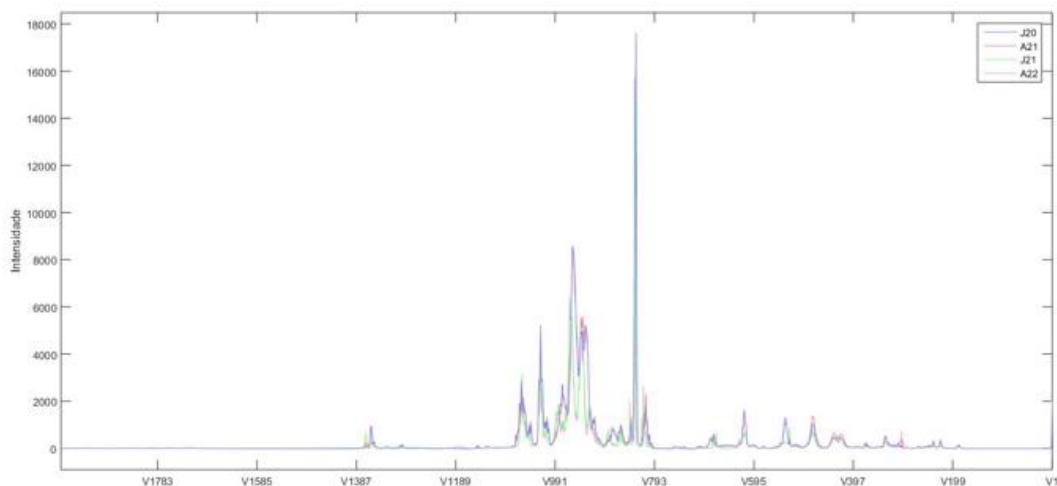


Figura 7: Espectros sobrepostos das amostras coletadas em J-20, A-21, J-21 e A-22, em vasos e em solo, não considerando as condições de plantio.

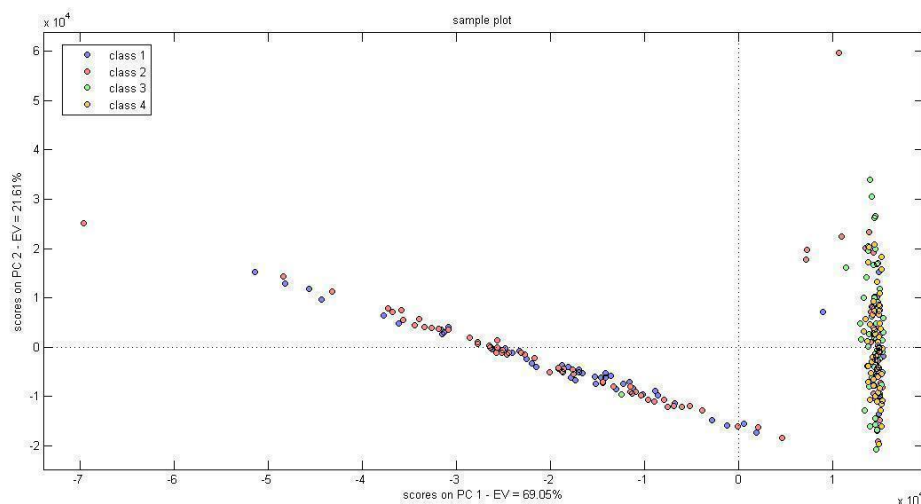


A informação espectral de uma análise de RMN ^1H gera uma matriz de dados multivariados com um grande número de informações que precisa ser analisado. O software Chenomx foi utilizado para analisar os espectros e o resultado mostraram 13 metabólitos identificados e quantificados a partir da concentração de cada metabólito (Figura 13 e Tabela 3).

Nas análises de modelos metabolômicos valeu-se de estratégias exploratórias e classificatórias da quimiometria. O primeiro modelo empregado para a avaliação do conjunto de dados foi a análise de PCA. Como análise exploratória, essa técnica permite a visualização

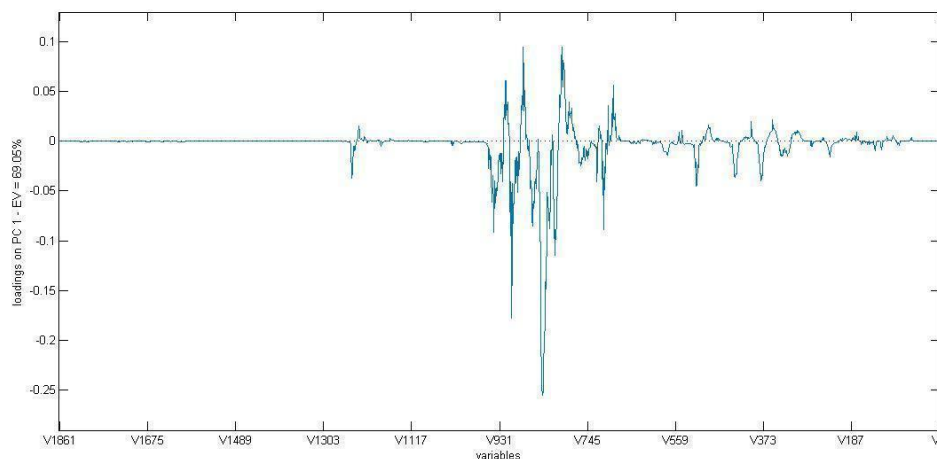
de um agrupamento natural dos dados. Os resultados deste cálculo demonstraram (Figura 7) 96,7% de variância explicada no conjunto de dados (Figura 8).

Figura 8: Gráfico de escores da PCA das amostras coletadas em vasos e solo. Classe 1 coleta em julho de 2020, Classe 2 coletas em abril de 2021, Classe 3 coletas em julho de 2021 e Classe 4 coletas em abril de 2022.



A análise dos escores da PCA demonstra que há agrupamentos entre as amostras das classes 1 e 2 (J-20 e A-21) em relação às classes 3 e 4 (J-21 e A-22), respectivamente. O esperado era que houve agrupamento de classes em relação ao mês de coleta das amostras (Classe 1 e 3, Classe 2 e 4) o que não ocorreu. Entretanto há diferença nas condições de plantio para as mudas cultivadas em solo, quando analisamos as classes. Em J-20 no consórcio estava sendo cultivado *P. grandiflorum* e pimentas do gênero *Capsicum*. Em A-21 no consórcio havia *P. grandiflorum*, Crotalária e pimentas do gênero *Capsicum* (Classe 1 e 2). Já em J-21 e A-22 as condições de plantio são semelhantes, apenas *P. grandiflorum* estava sendo cultivada (Classe 3 e 4). Observamos que há agrupamentos distintos, Classes 1 e 2 agrupados a esquerda e Classes 3 e 4 a direita. No entanto, ainda ocorreu agrupamento das classes 1 e 2 junto com as Classes 3 e 4. Portanto, podemos inferir que algumas variáveis influenciaram o agrupamento das amostras, tais como a idade da planta, que pode estar influenciando seu metabolismo ou as mudanças nas condições de cultivo em solo.

A separação das amostras pelos agrupamentos comentados se dá na PC1, que explica 69,05% do conjunto de dados. Com isso, os pesos que influenciaram a separação estão apresentados na Figura 9. Escores negativos na PC1 são os que caracterizam as classes 3 e 4 e escores positivos as classes 1 e 2.

Figura 9: Gráfico de pesos da PC1 em relação a que variáveis no espectro estão relacionados.

Observando os resultados da análise exploratória da PCA, dividimos as amostras em dois novos conjuntos de dados para análises multivariada: vasos (V) e solo (S). Um conjunto só com amostras cultivadas em solo mantendo a classificação por mês de coleta e um conjunto somente com as amostras coletadas em vasos, também mantendo a classificação por mês de coleta. Porém, os resultados não são promissores (figura 10 e 11).

Figura 10: Gráfico de escores da PCA das amostras agrupadas em Classe 1 coleta em julho de 2020, Classe 2 coletas em abril de 2021, Classe 3 coletas em julho de 2021 e Classe 4 coletas em abril de 2022.

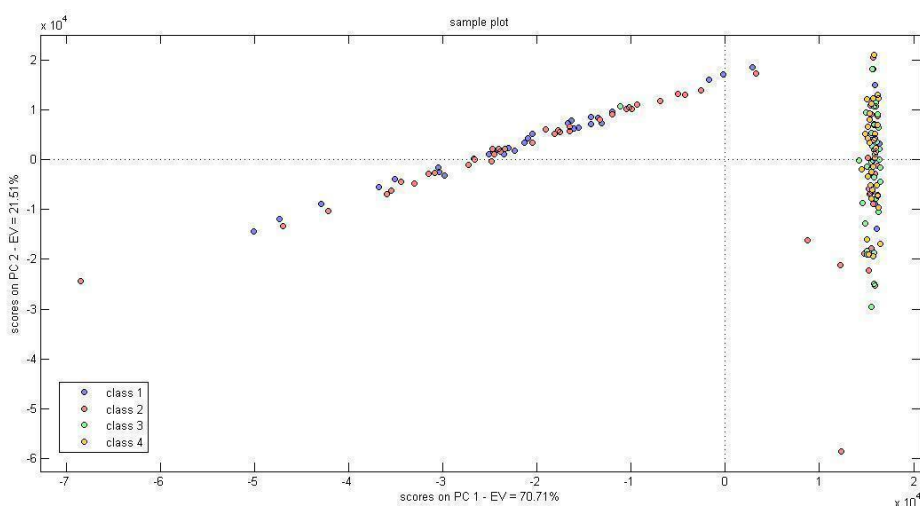
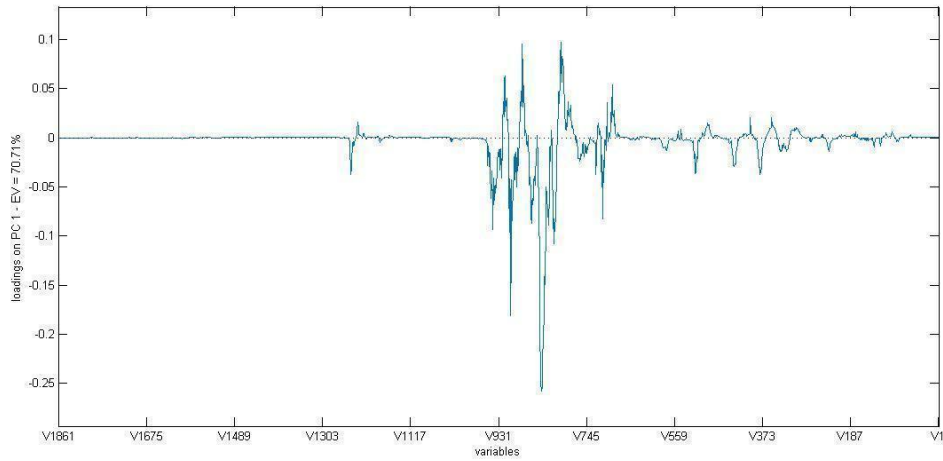


Figura 11: Gráfico de pesos da PC1 em relação a que variáveis no espectro estão relacionados.

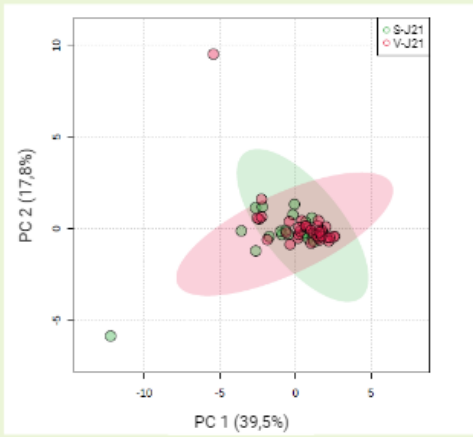


As variáveis das mudas de *P. grandiflorum* cultivadas em solo tem um comportamento muito semelhante ao do conjunto inicial, o que sugere que as variáveis de modo de cultivo em solo regem o modelo proposto na figura 9. Diante desta análise exploratória consideramos os dados das amostras coletadas em solo e em vaso nos meses de J-21 e A-22, uma vez que as condições de cultivo em solo estavam semelhantes em ambas os meses de coleta, período onde só havia cultivo de mudas *P. grandiflorum*.

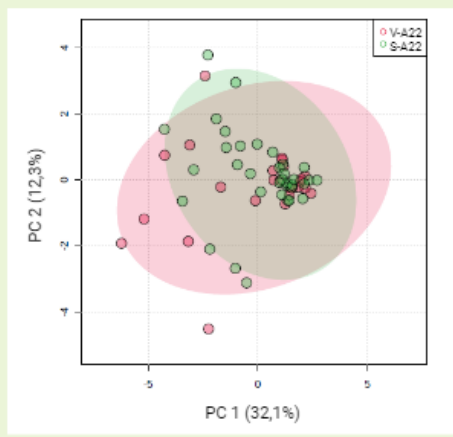
APÊNDICE E

Figura 3: No gráfico da PCA, os escores dos componentes principais 1 (PC1) e componentes principais 2 (PC2) representam os componentes mais importantes da informação original das cinco condições de agrupamento dos extratos dos rizomas de *P. grandiflorum*. Os meses de coleta são representados por julho 2021 (J21) e abril 2022 (A-22). As amostras do cultivo em solo (S) são representadas pelos pontos em verdes, enquanto as amostras do cultivo em vasos com substrato (V) são representadas pelos pontos vermelhos, para as condições I e II. Na Condição I) estão as amostras coletadas em J-21 cultivadas em solo (S-J21, verde) vs amostras cultivadas em vasos com substrato (V-J21, vermelho) em J-21; Condição II) amostras em solo (S-A22, verde) vs amostras cultivadas em vasos com substrato (V-A22, vermelho) no mês de A-22; Condição III) amostras cultivadas em solo em J-21 (S-J21, verde) vs amostras cultivadas em solo em A-22 (S-A22, vermelho); Condição IV) amostras cultivadas em vasos com substrato em J-21 (V-J21, verde) vs amostras cultivadas em vasos com substrato em A-22 (V-A22, vermelho); e Condição V) amostras cultivadas em solo + amostra cultivada em vasos com substrato em A-22 (A-22, vermelho) vs amostras cultivadas em solo + amostras cultivadas em vasos com substrato em J-21 (J-21, verde). Valores de $p > 0,05$ para as condições I e II e valores de $p < 0,05$ para as condições III, IV e V.

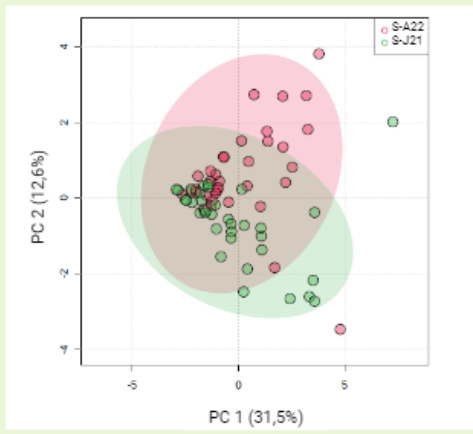
Condição I



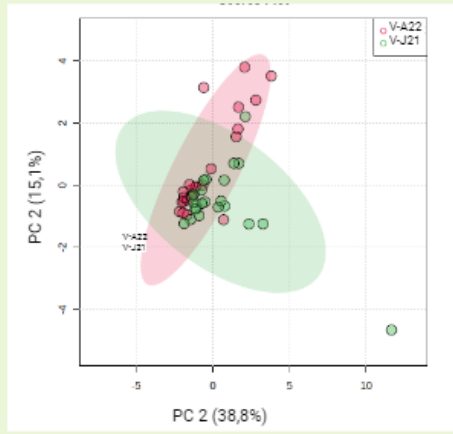
Condição II



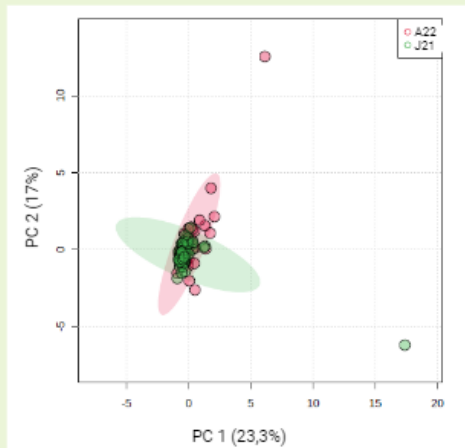
Condição III



Condição IV



Condição V





EESC • USP