

ISABELA CRISTINA GOMES HONÓRIO

**CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E TEOR DE FLAVONOIDES
EM CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

H774c
2013

Honório, Isabela Cristina Gomes, 1988-
Crescimento, desenvolvimento e teor de flavonoides em
calêndula (*Calendula officinalis* L.) / Isabela Cristina Gomes
Honório. – Viçosa, MG, 2013.
ix, 33f. : il. ; 29cm.

Orientador: Vicente Wagner Dias Casali
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 27-33

1. Plantas medicinais. 2. Metabólitos. 3. Época de colheita.
4. Flores - Cultivo - Aspectos econômicos. 5. Calêndula.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.
II. Título.

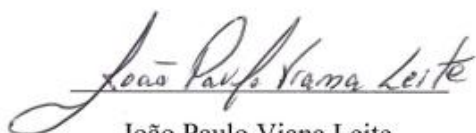
CDD 22. ed. 633.88399


ISABELA CRISTINA GOMES HONÓRIO

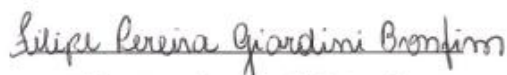
**CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E TEOR DE FLAVONOIDES
EM CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.)**

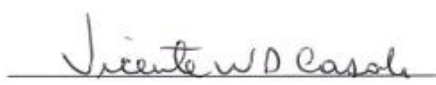
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de Fevereiro de 2013


João Paulo Viana Leite


Paulo Roberto Cecon


Filipe Pereira Giardini Bonfim


Vicente Wagner Dias Casali
(Orientador)

Aos meus pais Heloisa, João e padrasto
Walter, meu irmão Rodrigo, pelo amor
apoio e incentivo.

Dedico

Aos familiares e amigos da UFMG e UFV.

Ofereço

“Para ser exitoso no necessitas hacer cosas extraordinárias, solo haz cosas
ordinárias extraordinariamente bien.”

Autor desconocido

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Departamento de Fitotecnia (DFT), pela oportunidade de realizar o mestrado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa;

Ao professor Vicente Wagner Dias Casali, pela confiança, pelos conselhos e pela orientação;

Aos professores João Paulo Viana Leite, Filipe Pereira Giardini Bonfim e Ernane Ronie Martins, pela atenção e ajuda dada na execução do trabalho;

Ao professor Paulo Roberto Cecon, pela ajuda na execução das análises estatísticas;

As meninas do laboratório de Homeopatia, Adalgisa, Adriana, Iná e Steliane pelos momentos especiais de convivência durante todo o mestrado;

Aos amigos Adalvan, Christiane e Fernanda pelos ótimos momentos passados juntos;

Ao Sebastián Giraldo Montoya, pela ajuda em todas as etapas do trabalho, pela companhia e amizade incondicional;

Enfim, a todos que de alguma forma colaboraram para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Isabela Cristina Gomes Honório, filha de João Batista Honório e Heloisa Helena Gomes, nasceu em 24 de março de 1988 em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Ingressou, em 2006, no curso de Agronomia da Universidade Federal de Minas Gerais, graduando-se Engenheira Agrônoma em janeiro de 2011. Em março de 2011, iniciou o mestrado em Produção Vegetal pelo Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa da dissertação em 28 de fevereiro de 2013.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.1. As sementes	11
2.2. Escolha dos tratamentos	11
2.3. Semeadura e plantio das mudas	12
2.4. Condução do experimento	13
2.5. Variáveis.....	15
2.6. Teor de Flavonoides Totais	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4. CONCLUSÃO	27
5. BIBLIOGRAFIA	27

RESUMO

HONÓRIO, Isabela Cristina Gomes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2013. **Crescimento, desenvolvimento e teor de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.)**. Orientador: Vicente Wagner Dias Casali.

Os usos de plantas medicinais estão aumentando vertiginosamente entre a população brasileira. As pesquisas envolvendo essas plantas também estão crescendo, no entanto, a maioria das informações disponíveis atualmente ainda não atende ao mínimo necessário que garanta a eficácia e segurança dessa terapia. Os compostos fármaco-ativos estudado no trabalho, os flavonoides, de maneira geral, estão localizados na parte aérea das plantas. São pigmentos naturais presentes nos vegetais e protegem o organismo do dano por agentes oxidantes. O organismo humano não é capaz de produzir flavonoides, tendo, portanto, que obtê-lo através da alimentação ou em forma de suplementos. A calêndula (*Calendula officinalis* L.) possui em sua composição, grande quantidade de flavonoides, sendo a flor a parte mais utilizada com fins ornamentais, cosméticos e medicinais. O extrato de calêndula pode ser utilizado na produção de cremes hidratantes e na medicina, como cicatrizante, antisséptica, sudorífica, analgésica, colagoga, anti-inflamatória, antiviral e vasodilatadora. A época de colheita, fator importante no cultivo de plantas medicinais, ainda é incerta. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a melhor época de colheita de capítulos florais de calêndula visando maior produtividade de flores e maior teor total de flavonoides. O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram as épocas de colheita: zero, três, seis, nove e doze dias após a antese (DAA). Foram avaliadas a altura da planta (mm), o diâmetro do caule (mm), o número de folhas e o teor total de flavonoides (% - p/p). Foi realizada a curva de crescimento da calêndula e seu comportamento quanto à altura, diâmetro e número de folhas ao longo do tempo de avaliação. A época de colheita influenciou positivamente no teor total de flavonoides e na produtividade média dos capítulos florais, sendo que aos três DAA foi encontrado maior teor de

flavonoides. A resposta foi heterogênea entre as épocas de colheita (0, 3, 6, 9 e 12 dias após a antese) quanto à produtividade média das flores e o acúmulo de flavonoides. Aos três dias após a antese obteve-se a maior produtividade de flavonoides, portanto aconselha-se que a colheita das inflorescências seja feita a cada três dias.

ABSTRACT

HONÓRIO, Isabela Cristina Gomes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2013. **Growth, development and tenor of flavonoids in calendula (*Calendula officinalis* L.)**. Adviser: Vicente Wagner Dias Casali.

The uses of medicinal plants are increasing dramatically among the Brazilian population. Researches involving these plants are also growing, however, most of the information currently available does not meet the minimum required to ensure the efficacy and safety of this therapy. The pharmaco-active compounds studied at this work, flavonoids, in general, are located in the shoots. Are natural pigments present in plants and protect the body from damage by oxidizing agents. The human body is unable to produce flavonoids, and therefore they get it through diet or as supplements. Calendula (*Calendula officinalis* L.) has in its composition, large amount of flavonoids, the flower being the most used with ornamental purposes, cosmetic and medicinal. The extract of calendula may be used in the production of moisturizing creams and medicine, such as wound healing, antiseptic, sudorific, analgesic, bile duct, anti-inflammatory, antiviral and vasodilator. The harvest season, an important factor in the cultivation of medicinal plants is still uncertain. The aim of this work was to evaluate the best harvest time of marigold flowers seeking greater productivity and higher total content of flavonoids. The experiment was conducted in the greenhouse of the Fitotecnia Department, Federal University of Viçosa (UFV), Viçosa, MG. The experimental design was completely randomized with five treatments and five replications. The treatments were the harvest period: zero, three, six, nine, and twelve days after anthesis (DAA). The height of the plant (mm), stem diameter (mm), number of leaves and total flavonoid content (% - w / w). We performed growth curve of calendula and their behavior in relation to height, diameter and number of leaves over time assessment. The harvest season positively influenced the total content of flavonoids and the average productivity of flowers, and the three DAA was found higher content of flavonoids. The response was heterogeneous among harvest times (0, 3, 6, 9 and 12 days after anthesis) and the average productivity of the flowers and the accumulation of flavonoids. Three days after anthesis obtained the

highest yield of flavonoids, so it is advisable to harvest inflorescence is made every three days.

1. INTRODUÇÃO

Desde o princípio das civilizações, os vegetais têm sido utilizados não só como fonte alimentícia, mas também com fins medicinais. As mais diversas enfermidades têm sido tratadas com chás (infusão, decocto, macerados), sucos, tinturas, banhos, cataplasmas e unguentos, preparados a partir das plantas (Almeida, 1993). Estudos arqueológicos têm mostrado por meio da análise de polens e de outros indicadores que os humanos das cavernas já utilizavam plantas medicinais (Rodrigues-das-Dôres; Casali, 2007).

O uso de plantas com fins medicinais é prática difundida principalmente entre os antigos povos da China, Egito, Ásia e Roma. Com base em conhecimentos da época foram classificadas numerosas espécies vegetais, com a respectiva indicação do uso medicinal. Posteriormente, os Gregos instituíram o emprego racional das plantas na prática médica, sendo seguidos pelos clínicos da Europa Ocidental (Volpato, 2005).

Hipócrates (460-377 a. C), denominado o “Pai da Medicina”, reuniu em sua obra “Corpus Hipocraticum” a síntese dos conhecimentos médicos de seu tempo, indicando por enfermidade o remédio vegetal e o tratamento adequado. No início da Era Cristã, Dioscórides abordou no seu tratado, “De Materia Medica”, aproximadamente 500 drogas de origem vegetal, descrevendo o emprego terapêutico de muitas delas (Martins et al., 2004). No processo de evolução, a arte de curar recebeu poderoso impulso dos alquimistas. Neste contexto destaca-se Paracelso, que lançou as bases da medicina natural e foi um dos principais responsáveis pelo avanço da terapêutica (Martins et al., 2004).

A história revela que na arte da cura foi praticado o empirismo, e as descobertas foram por tentativas, com erros e acertos. Desse modo, o ser humano primitivo iniciou a identificação dos vegetais que satisfazem a suas necessidades mais urgentes como dores abdominais, intoxicações, indisposições, buscando instintivamente correlacionar o ambiente ao período de colheita (Rodrigues-das-Dôres; Casali, 2007). Quanto à utilização, plantas medicinais brasileiras no

tratamento de doenças, houve principalmente, influência indígena, africana e européia (Martins et al., 2004).

O conhecimento clássico de grupos sociais e de suas comunidades que usam as plantas é essencial na descoberta dos compostos e moléculas ativas, capazes de exercer alguma ação de cura. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população mundial faz uso de algum tipo de erva na busca de alívio de algum sintoma desagradável. Desse total, pelo menos 30% foi por indicação médica (Martins et al., 2004). A OMS divulgou, no início da década de 1990, que 65 a 80% da população, nos países em desenvolvimento, dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (Volpato, 2005). No conhecimento tradicional sobre biodiversidade está este importante recurso, visando novos produtos farmacêuticos de combate a doenças que assolam a população mundial (WHO, 2003).

A opção de conduzir pesquisas a partir da indicação de plantas utilizadas por comunidades diminui o tempo de obtenção de uma nova droga, já que os pesquisadores dispõem, antes mesmo de iniciarem os estudos científicos, da indicação de qual atividade biológica poderia ocorrer.

Até a década de 50, os medicamentos utilizados eram quase que exclusivamente de origem vegetal. Depois, aos poucos foram substituídos por medicamentos contendo substâncias ativas purificadas de plantas e microrganismos (antibióticos) ou derivados sintéticos. Em consequência desta prática, poucas plantas medicinais foram estudadas, sendo que a maioria das informações atualmente disponíveis ainda não atende ao mínimo exigido de modo a garantir a eficácia e segurança deste tipo de terapia (Simões et al., 1999).

Embora a medicina moderna seja considerada desenvolvida na maioria dos países, a OMS reconhece que nos países em desenvolvimento grande parte da população depende da medicina tradicional na atenção primária, tendo em vista que 80% das pessoas utilizam plantas diretamente ou preparações vegetais (Brasil, 2006).

É importante definir e esclarecer o que seja saúde. Segundo a OMS é o estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas ausência de doença. O uso de plantas medicinais como prática alternativa pode contribuir na saúde dos indivíduos, mas deve ser parte do sistema integral que torne a pessoa realmente saudável e não simplesmente “sem doença”.

Tem havido grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam conhecer novos compostos com propriedades terapêuticas. Nas plantas o metabolismo é extremamente variável, devido às condições gerais a que são submetidas (Corrêa Junior, 2004).

O Brasil, pela grande extensão territorial, possui características edafoclimáticas peculiares em cada região, as quais podem interferir no desenvolvimento das espécies nativas ou introduzidas, mesmo que as condições sejam semelhantes ao local de origem de cada espécie. Assim, o cultivo de plantas medicinais, em áreas específicas, deve estar dentro dos padrões agrônômicos demandados pela espécie a ser explorada, visando melhorar a produtividade e a qualidade da matéria prima produzida, de forma a garantir a qualidade fitoquímica e farmacológica.

O primeiro aspecto a ser observado na produção de plantas medicinais com qualidade, além do cultivo de modo natural, sem agroquímicos é, sem dúvida, o plantio e a colheita no momento correto.

Nas espécies medicinais, há alta variabilidade quanto à produção de substâncias com atividade terapêutica. O momento ideal de colheita pode variar de acordo com o órgão da planta, estágio de desenvolvimento, a época do ano e hora do dia (Martins et al., 2004). A colheita deve ser realizada quando as plantas estiverem com a melhor qualidade possível. A determinação do momento ideal de colheita depende de três elementos inter-relacionados. O estágio de maior produção de biomassa, o estágio de maior biossíntese de compostos bio-ativos e por fim, a variação sazonal no teor dos princípios ativos ao longo das fases de desenvolvimento da planta (Corrêa Junior ; Scheffer, 2009).

Tarnai et al. (1994) determinaram a variabilidade do teor de polifenóis em diversos tecidos da planta *Prunus avium*. Variações no conteúdo fenólico em

partes distintas de *Taraxacum officinale* foram observadas por Willians et al. (1996). Segundo Hasler e Meier (1993), o conteúdo de flavonoides e de terpenos em *Ginkgo biloba* é variável em intervalos quinzenais de colheita. Court et al. (1993), estudando épocas de colheita de *Mentha piperita* detectaram diferenças por época quanto à produção e conteúdo do óleo essencial. As concentrações de mentol, neomentol e metil acetato aumentaram com o desenvolvimento da planta, enquanto que a mentona e a isomentona tiveram maiores concentrações em plantas imaturas e o mentofurano e pulegona estiveram mais presentes no florescimento.

A distribuição de substâncias ativas nas plantas pode ser relativamente irregular. Alguns grupos de substâncias estão localizados preferencialmente em partes específicas da planta. Os flavonoides, de maneira geral, estão mais concentrados na parte aérea da planta. Segundo Vila et al. (1997), a *Aristolochia elegans* possui 58 constituintes no óleo, sendo que 80% estão nas folhas e talos e o restante está na raiz. Dois cultivares de *Chrysanthemum parthenium* (Aureum e Schneeball) têm esteróis em todos os órgãos, mas com teores variáveis (Whkomirski; Dubielecka, 1996).

A colheita das plantas em determinado ponto tem como objetivo o máximo teor do fármaco-ativo. No entanto, na maioria das vezes, nada impede que as plantas sejam colhidas antes ou depois do estágio ideal, visando uso imediato. O maior problema será a redução do valor terapêutico da amostra e em alguns casos, há predominância de compostos tóxicos. No entanto, esse procedimento é muito utilizado em cultivos caseiros (Martins et al., 2004).

Os metabólitos secundários são produzidos pelo vegetal e tem funções bem específicas dentro da planta. Na maioria das vezes são sintetizadas pelo metabolismo secundário, tendo, portanto, função ligada a ecoatividade da planta, ou seja, à relação da planta com o ambiente que a envolve (Martins et al., 2004).

O metabolismo secundário é diferenciado basicamente do metabolismo primário (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e lipídeos) pela ausência de reações e produtos comuns, sendo específicos de determinadas espécies. Os metabólitos secundários, na maioria das vezes, não são vitais ao metabolismo das plantas, são a expressão da individualidade química, diferem entre espécies, qualitativamente e

quantitativamente e são produzidos em pequenas quantidades. Estão presentes na planta durante todo o ciclo ou são produzidas mediante estímulos específicos. A regulação do metabolismo secundário depende da base genética da planta, da capacidade de responder a estímulos internos ou externos e da presença desses estímulos no momento apropriado (Martins et al., 2004). Estão envolvidos em processos não essenciais à vida vegetal, mas garantem vantagens na sobrevivência, perpetuação e diferenciação de espécies, além de atuar na defesa contra herbívoros e microrganismos, proteção contra raios ultravioleta, atração de animais polinizadores, ação alelopática e resposta ao estresse devido ao ataque microbiano (Martins et al., 2004).

Recentemente foi publicado no Diário Oficial da União - Seção 1, nº 46 de 10 de março de 2010, a lista de 71 plantas medicinais de interesse no Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil, sendo a calêndula uma delas. É de extrema importância conhecer especificidades da colheita e da qualidade dessas flores, além do método que mais produza os flavonoides, uma vez que são escassas na literatura informações a esse respeito.

Portanto, antes do início de algum cultivo em escala comercial, é necessário conhecer o comportamento da espécie com relação à época de colheita, aos efeitos climáticos da região de plantio, os tratos culturais e os fatores bióticos que são responsáveis pelo desenvolvimento da espécie.

Entre os constituintes químicos potencialmente ativos da calêndula (*Calendula officinalis* L.), são citados o óleo essencial, saponinas, flavonoides, carotenoides, mucilagens, resinas e princípio amargo. Os flavonoides têm função importante na atividade metabólica das flores de calêndula, representados na grande maioria pelos compostos rutina e quercetina, também usados como marcadores da qualidade da matéria prima (Bilia et al., 2002; Rodrigues et al., 2004).

Os flavonoides são pigmentos naturais dos vegetais e que protegem o organismo do dano produzido por agentes oxidantes, como os raios ultravioleta, a poluição ambiental e substâncias químicas dos alimentos. O organismo humano não produz essas substâncias protetoras e por isso deve obtê-las através da alimentação ou em forma de suplementos. Os flavonoides estão amplamente

distribuídos em plantas e frutos, e representam componentes substanciais não energéticos da dieta humana (Martínez-Flórez et al., 2002).

Eles foram descobertos por Szent-György, que em 1930 isolou da casca de limão, a citrina, que regula a permeabilidade dos capilares. Eles primeiramente foram denominados vitamina P (pela característica de permeabilidade) e também vitamina C (porque foi comprovado que alguns flavonoides tinham propriedades similares à vitamina C). Contudo, o fato deles serem considerados vitaminas não foi confirmado, e ambas as denominações foram abandonadas aproximadamente em 1950 (Martínez-Flórez et al., 2002).

Esse metabólito secundário constitui a maior classe de compostos fenólicos vegetais. O esqueleto de carbono dos flavonoides contém 15 carbonos organizados em dois anéis aromáticos, ligados pela cadeia de três carbonos (Taiz; Zeiger, 2004). Esta estrutura é resultante de duas rotas biossintéticas separadas: a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico (Figura 1).

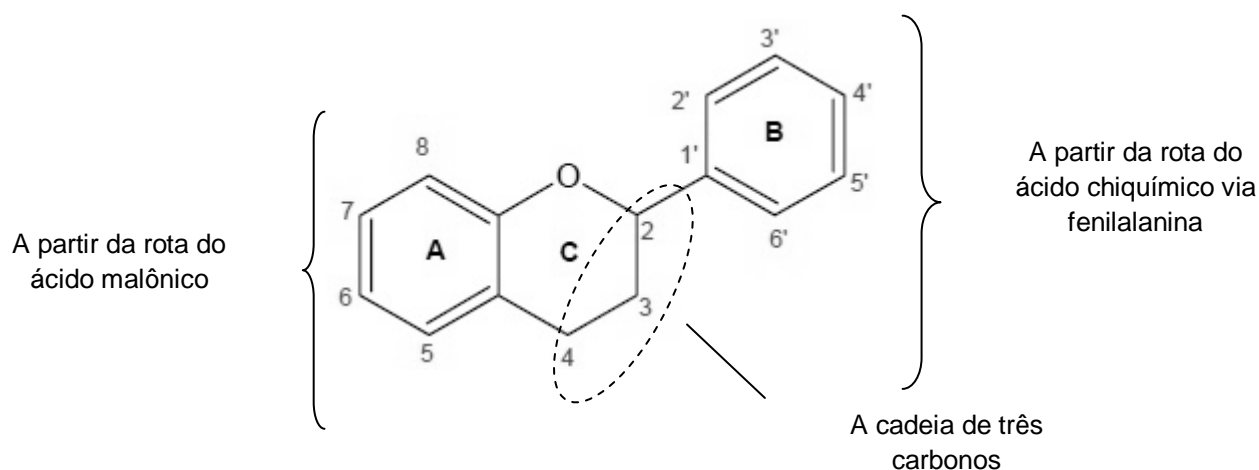


Figura 1: Estrutura do núcleo fundamental dos flavonoides. Fonte: Taiz; Zeiger, 2004.

Esses compostos contêm em sua estrutura química variável número de grupos hidroxilas fenólico e excelentes propriedades de quelação de ferro e outros metais de transição, que conferem grande capacidade antioxidante (Taiz; Zeiger, 2004).

Os flavonoides são classificados em grupos, pelo grau de oxidação da cadeia de três carbonos: as antocianinas, as flavonas, os flavonóis e as isoflavonas. O esqueleto de carbono dos flavonoides pode ter vários substituintes. Os grupos hidroxila estão normalmente nas posições quatro, cinco e sete, mas também podem ser encontrados em outras posições. Os açúcares são também muito comuns e de fato, a maioria dos flavonoides ocorre naturalmente, como glicosídeos (Taiz; Zeiger, 2004).

Enquanto os grupos hidroxila e açúcares aumentam a solubilidade dos flavonoides em água, outros substituintes, tais como éteres metílicos ou unidades isopentilas modificadas tornam os flavonoides lipofílicos. Os tipos de flavonoides (Figura 2) desempenham funções diversas nos vegetais, incluindo pigmentação e defesas (Taiz;Zeiger, 2004).

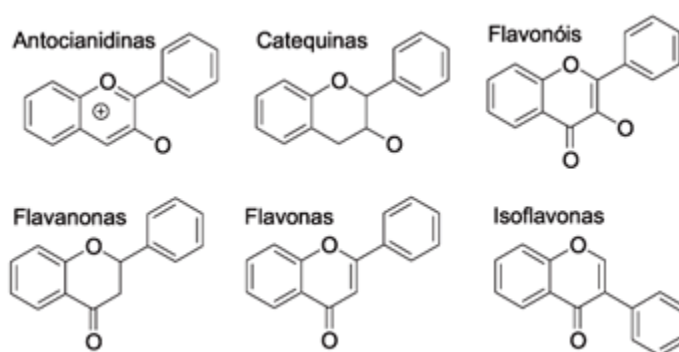


Figura 2: Estrutura química dos principais tipos de flavonoides. Fonte: Março et al., 2008.

As propriedades antirradicais livres são fundamentadas principalmente pelos radicais hidroxila e superóxido, que são altamente reativos e estão envolvidos no início da cadeia de peroxidação lipídica, sendo capazes de modificar a síntese de eicosanoides (com respostas anti-prostanoide e anti-inflamatória), de prevenir a agregação de plaquetas (efeitos antitrombóticos) e de proteger as lipoproteínas de baixa densidade da oxidação.

A idade e o estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar não apenas na quantidade de metabólitos secundários produzidos, mas na proporção relativa destes compostos. Há variações sazonais no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários como óleos essenciais, lactonas

sesquiterpênicas, ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, saponinas, alcaloides, taninos, graxas epicuticulares, iridoides, glucosinolatos e glicosídeos cianogênicos (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Silva et al. (2003) avaliaram a relação entre o estágio de desenvolvimento e o teor de óleo essencial de *Ocimum basilicum*. Foram realizadas colheitas aos cinco e aos dez meses após o plantio. Os autores afirmam que a maior produtividade foi na colheita realizada aos dez meses após o plantio.

A calêndula, pertencente à classe Equisetopsida, ordem Asterales, está inserida na família das Asteraceae, sendo que o gênero *Calendula* tem o nome derivado da palavra latina *Calendae*, que significa “primeiro dia de cada mês”. Neste gênero com 29 espécies (Mobot, 2010) está incluída a *Calendula officinalis* L. A planta é herbácea e amplamente cultivada em vários países com fins ornamentais, cosméticos e medicinais (Ramos et al., 1998). No Brasil é popular e conhecida como malmequer e maravilha-dos-jardins. Tem como origem a região do mar Mediterrâneo (Silva Junior, 2006; Lorenzi; Matos, 2008), e atualmente é considerada planta cosmopolita, ou seja, cultivada em várias partes da Terra, inclusive o Brasil (Bertoni et al., 2006).

A planta é anual, varia de 30 a 60 cm de altura, com raízes fasciculadas, ligeiramente amareladas e cilíndricas; caule anguloso, curto e sólido, ereto ou prostrado, pubescente; as folhas são ligeiramente denteadas, alternas, lanceoladas, com pelos glandulares em ambas as faces, com 10 a 20 cm de comprimento e 1 a 4 cm de largura; brácteas involucrais com 7 a 15 cm de comprimento, revestidas de longos pelos glandulares (PDR, 2000; WHO, 2002; Lorenzi; Matos, 2008).

As flores são dispostas em capítulos de 3 a 7 cm, envolvidas pelo involúcro de duas séries de brácteas. As flores da periferia estão em formas liguladas, pistiladas de 1,5 a 3,0 cm de comprimento e 0,5 a 0,7 cm de largura. As corolas variam de amarelo-claro a alaranjado, com limbo tridentado, possuindo de 4 a 5 nervuras (Farmacopéia Brasileira, 2002). Possui odor característico, de fraco a forte, com sabor amargo e aromático (PDR, 2000; WHO, 2002).

A calêndula é utilizada com fins cosméticos em cremes hidratantes, produtos de pré e pós-exposição solar, pela quantidade de saponinas que a planta

possui e porque as gomas e mucilagens têm grande capacidade umectante (Nardi et al., 1991). Possui ação cicatrizante e antisséptica, é sudorífica, analgésica, colagoga, anti-inflamatória, antiviral, anti-emética, vasodilatadora e tonificante da pele (Martins et al., 2004). De acordo com Pagnano et al. (2008), a tintura de calêndula a 5% influencia positivamente na geração de novas células envolvidas no processo cicatricial, os fibroblastos, propiciando resposta mais satisfatória na cicatrização que os outros tratamentos aplicados sobre feridas cutâneas experimentais em coelho.

Alguns constituintes químicos da calêndula também estão associados à atividade tumoral (Elias et al., 1990). Jimenez-Medina et al. (2006) relataram que o extrato de calêndula ativado por raios laser (LACE) inibe o crescimento *in vitro* de várias linhagens de células tumorais, além disso, possui atividade antitumoral *in vivo* em ratos sem pêlos. O extrato de calêndula induz a formação de vasos sanguíneos, resultado importante no processo de granulação (PDR, 2000; Schulz et al., 2002). Resultados de Kalvatchev et al. (1997) indicam que o extrato orgânico das flores possui interessante atividade anti-HIV.

A análise de crescimento, segundo Magalhães (1986), descreve as condições morfofisiológicas da planta nos intervalos de tempo, permitindo acompanhar a dinâmica da produtividade, avaliada por meio de índices fisiológicos e bioquímicos. A análise de crescimento possibilita conhecer fenômenos ecológicos do crescimento, como a adaptabilidade das espécies em ecossistemas diversos, efeitos de competição, diferenças genotípicas da capacidade produtiva e influência das práticas agronômicas sobre o crescimento. A determinação da área foliar é importante, pois as folhas são as responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica, através da fotossíntese.

Desenvolvimento e crescimento das plantas são processos independentes, que podem ocorrer simultaneamente ou não (Wilhelm; McMaster, 1995). Desenvolvimento refere-se à diferenciação celular, iniciação e aparecimento de órgãos, e se estende até a senescência da cultura, enquanto que crescimento é o aumento irreversível de grandezas físicas como massa, área, altura, diâmetro e volume (Hodges, 1991; Wilhelm; McMaster, 1995). Como exemplo de variáveis de desenvolvimento, tem-se a velocidade de emissão de folhas, que, ao ser

integrada no tempo, fornece o número de folhas acumuladas na haste principal, a qual é uma excelente medida de desenvolvimento vegetal (Streck, 2002).

Variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas de metabólitos secundários em plantas ocorrem em vários níveis (sazonais e diárias; interplanta, inter e intraespecífica) e, apesar do controle genético, na expressão pode haver modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. Os metabólitos secundários representam a interface química entre as plantas e o ambiente circundante, significando que a síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (Gobbo Neto; Lopes, 2007).

Vários fatores influenciam a qualidade da planta e a produção de metabólitos secundários na colheita. A época em que a planta é coletada é de grande importância, visto que a quantidade e a natureza dos constituintes ativos são variáveis. Assim, a época propícia significa quantidade máxima de metabólitos secundários, além de qualidade da parte coletada. A colheita de plantas medicinais e aromáticas tem particularidades diferenciando das outras culturas, pois objetiva conciliar a máxima produção de biomassa com o maior teor do composto ativo da espécie. Martins et al. (2004) enfatizaram o empirismo quanto à determinação do momento adequado de colheita de plantas medicinais e aromáticas, enquanto que Von Hertwig (1991) recomenda, nas espécies de alto valor comercial, a coleta de amostras espaçadas no tempo e a realização de análises que identifiquem o maior teor de princípios ativos ou o momento propício da coleta.

A época ideal de colheita de espécies medicinais produtoras de flores é bastante variável. São colhidos botões florais, ainda fechados, como em *Arnica Montana* Hook.; semiabertos, como em malva (*Malva sylvestris* L.), e até flores completamente abertas, como em *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, (Mattos, 1996). Portanto, deve ser levado em conta os teores de compostos fármaco nas estruturas reprodutivas de cada espécie.

Pela variabilidade de substâncias que a calêndula possui, é importante estabelecer procedimentos corretos em relação ao cultivo, priorizando a produção de grande quantidade de droga vegetal com níveis satisfatórios dos compostos

ativos, de modo que possa ser utilizada pelos Programas de Fitoterapia com segurança e eficácia.

As plantas estão adaptadas a uma enorme variação na incidência luminosa. Há crescente preocupação com os efeitos do aumento de radiação ultravioleta (UVB, 280-320 nm), decorrente da depleção da camada de ozônio. Há correlação positiva bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e a produção de metabólitos secundários. Os flavonoides propiciam proteção contra a fotodestruição ao absorver ou dissipar a energia solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UVB (Gobbo - Neto; Lopes, 2006).

Diante do contexto e considerando poucos os estudos sobre o melhor momento para a realização da colheita da calêndula visando à qualidade e teor total de flavonoides além de conhecer a época de maior produtividade dos capítulos florais da espécie, realizou-se esse trabalho, para que a coleta da espécie seja feita de forma eficiente e viável.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. As sementes

Sementes de calêndula comerciais foram adquiridas livres de defensivo (sementes nuas), da marca Isla, cultivar bonina dobrada sortida, lote: 28442; origem: França; porcentagem de germinação 75% e pureza 99,1%.

2.2. Escolha dos tratamentos

Os tratamentos foram escolhidos de acordo com a abertura do botão floral da calêndula e da longevidade dos capítulos. À medida que as inflorescências começavam a se abrir, cada capítulo foi marcado com fita colorida diferenciada

das demais no momento da colheita. Foi devidamente documentado o dia de abertura e da colheita de cada inflorescência.

2.3. Semeadura e plantio das mudas

A semeadura foi feita em julho de 2011, em bandeja de isopor com 128 células (40 cm³ por célula), usando substrato comercial Tropstrato HA Hortaliças®, sendo realizada a 1,0 cm de profundidade com a distribuição de duas sementes de calêndula por célula. Decorridos dez dias foi realizado o desbaste, deixando uma planta por célula. As características do substrato comercial utilizado constam da Tabela 1.

Tabela 1 - Características do substrato comercial Tropstrato HA Hortaliças® fornecida no site da empresa fabricante.

Umidade* (% p/p)	CRA ^{1*} (% p/p)	Densidade* Base seca Kg/m ³	Densidade* Base úmida Kg/m ³	pH Proporção água: substrato		CE (MS/cm) Proporção água:substrato	
				1,5:1	5:1**	1,5:1	5:1**
60	130	200	500	5,8(±)0,3	5,8(±)0,3	1,5(±)0,3	0,5(±)0,3

¹CRA= Capacidade de retenção de água. * De acordo com a metodologia da IN 17/2007 do MAPA. ** Proporção de água destilada adicionada por volume de substrato na determinação do pH e Condutividade Elétrica (CE). Natureza física: Sólido (sem especificação granulométrica).

Fonte: <http://www.vidaverde.agr.br/produtos.htm>

Um mês após a semeadura, as mudas foram transplantadas aos vasos com capacidade de nove litros da mistura, sendo colocadas duas mudas por vaso. Foi realizada a mistura de solo (terra pura), esterco bovino curtido e areia. As análises do solo puro e da mistura de solo constam da Tabela 2.

Tabela 2 - Análise do solo puro e substrato formulado (solo + esterco bovino curtido + areia, na proporção de 3: 2: 1) utilizado no cultivo de calêndula em Viçosa, MG, realizada no Laboratório de Física do Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

Tipos de solo	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC(t)	V	m	M.O
		-----mg dm ⁻³ -----				-----cmolcdm ⁻³ -----				-----%-----		dag kg ⁻¹
Solo (terra pura)	4,65	2,1	22	0,43	0,13	0,88	8,9	0,62	1,5	6,5	58,7	2,32
Substrato formulado (3:2:1)	6,81	120,2	1027	1,57	0,81	0	4,2	5,01	5,01	54,4	0	5,02

2.4. Condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no município de Viçosa, na Zona da Mata Mineira, com classificação climática, segundo Koppen (1948) tipo “Cwa” e coordenadas geográficas 42° 52’W e 42° 50’W de longitude e 20° 44’S e 20° 47’S de latitude, Brasil, no período de julho a dezembro de 2011. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições. Cada unidade experimental constituiu-se de um vaso, totalizando 25 unidades experimentais. Os tratamentos foram:

- 1- 0 dias após a antese (DAA);
- 2- 3 dias após a antese;
- 3- 6 dias após a antese;
- 4- 9 dias após a antese;
- 5- 12 dias após a antese.

Quando as plantas completaram uma semana de plantio foram iniciadas as avaliações semanais. Após um mês do transplântio as plantas iniciaram a floração, e também a marcação das flores.

Os capítulos foram colhidos diariamente desde o início da floração, logo após a abertura da inflorescência, com o tempo seco, no período da manhã, durante três meses, assim como recomendado por Pinto e Bertolucci (2002).

A umidade do substrato nos vasos foi mantida, permanentemente, próxima a capacidade de campo por meio de irrigações. Os índices de radiação e temperatura da cidade de Viçosa no período de condução do experimento contam nas Figuras 1 e 2:

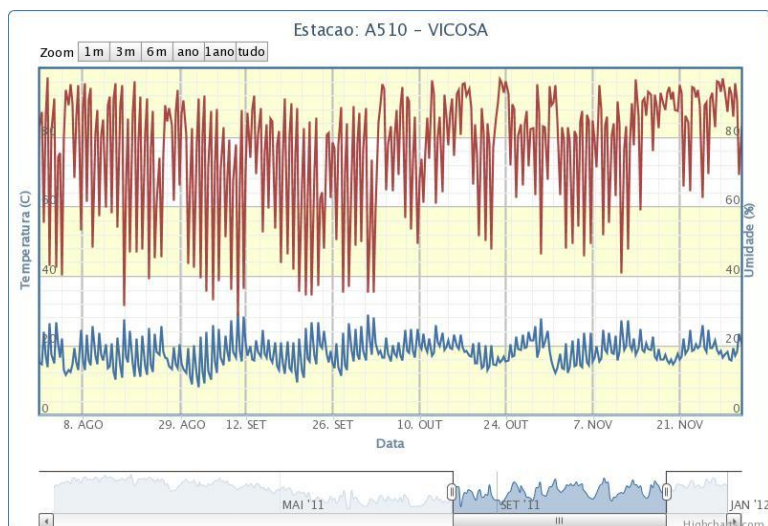


Figura 1-Temperatura média no período entre 01 de Agosto de 2011 a 01 de Dezembro de 2011 em Viçosa-MG. Fonte: INMET

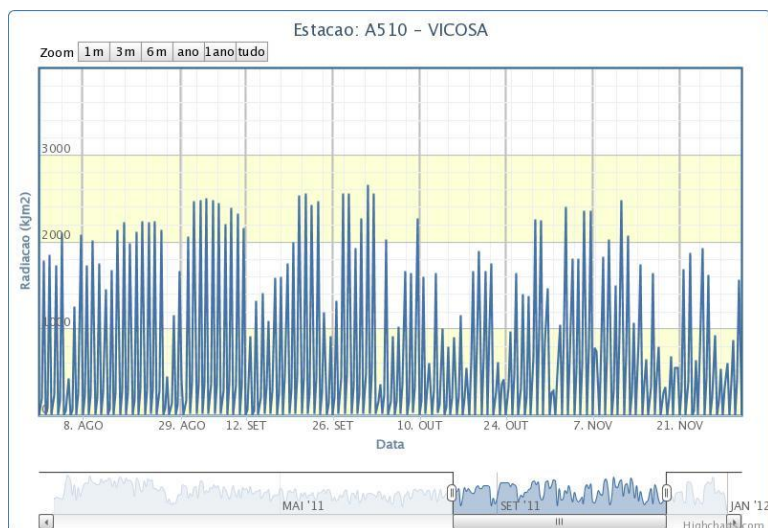


Figura 2 - Radiação média no período entre 01 de Agosto de 2011 a 01 de Dezembro de 2011 em Viçosa-MG. Fonte: INMET

O controle de plantas espontâneas foi manual e periódico visando reduzir os impactos que possivelmente poderiam causar às plantas, pois o menor contato do solo com a parte aérea das plantas minimiza a contaminação microbiológica (Martins et al., 2004), proporcionando melhor qualidade sanitária dos capítulos colhidos.

No cultivo de calêndula o ataque de pulgões é muito comum e foi realizado o controle manual, ou seja, a retirada manual dos pulgões. Além disso, foi feita a aplicação do preparado homeopático *Staphysagria* 6CH, que de acordo

com Brunini e Arenales (1993), aumenta a resistência das plantas ao pulgão e ocasiona melhor condição geral. Além disso, esse preparado homeopático pode ser recomendado nos distúrbios fisiológicos das plantas. Não foi possível a retirada completa dos pulgões, no entanto, as plantas de calêndula conseguiram conviver bem com a população desses insetos sem danos maiores, visto que a produção de compostos fármaco-ativos das plantas medicinais tem como destacada função, a proteção contra ataque de pragas.

2.5. Variáveis

As avaliações semanais e finais foram feitas com o objetivo de acompanhar o crescimento das plantas de acordo com as fases de desenvolvimento.

As variáveis foram: número de folhas, diâmetro do caule (mm) e altura das plantas (mm), medidas com paquímetro digital marca Starrett 727, área foliar (cm²) (AF), peso das inflorescências frescas (g) (PFFL), peso das inflorescências secas (g) (PSFL), peso do caule fresco (g) (PFC), peso do caule seco (g) (PSC), peso das folhas frescas (g) (PFF), peso das folhas secas (g) (PSF) e teor de flavonoides totais (%) (TTF). A massa do caule seco e das folhas foi obtida por meio de secagem em estufa de circulação forçada de ar a 75°C, até peso constante. A massa das inflorescências secas foi avaliada após a secagem em estufa de circulação forçada de ar à 40°C. A área foliar foi estimada por meio do medidor LI-Cor (modelo LI-3000). Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão utilizando o programa estatístico SAEG.

2.6. Teor de Flavonoides Totais

A extração dos flavonoides foi realizada no Laboratório de Biodiversidade do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Viçosa no período de janeiro de 2012.

Após secagem e pesagem, as inflorescências foram submetidas à manipulação e separadas de acordo com o que a Farmacopéia Brasileira 4ª Ed. (Farmacopéia Brasileira, 2002) preconiza como droga de *Calendula officinalis*: “A droga vegetal consiste de flores liguladas inteiras ou trituradas, acompanhadas de escassas flores tubulosas, separadas do receptáculo e das brácteas involucrais, secas”. Depois da separação, foi moída em moinho de facas, obtendo a droga vegetal pulverizada com granulometria menor ou igual a 0,8 mm.

O teor de flavonoides foi determinado conforme a monografia de calêndula descrita na farmacopéia brasileira (Farmacopéia Brasileira, 2002), com algumas modificações. Todo o procedimento foi realizado em triplicata, totalizando assim 75 amostras.

Foram pesados 0,4 g da droga pulverizada (flores de calêndula moídas) e colocadas em um balão de fundo achatado de 500 mL. Foi acrescentado 1 mL da solução aquosa de hexametilenotetramina a 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Essa mistura foi aquecida sob refluxo por 30 minutos. A amostra foi filtrada em algodão, em balão volumétrico de 100 mL, e o resíduo da droga retornado juntamente com o algodão ao mesmo balão de fundo achatado, adicionando mais 20 mL de acetona e levado em refluxo por mais 10 minutos. Esse procedimento foi repetido duas vezes. Após o resfriamento a solução foi filtrada no mesmo balão volumétrico de 100 mL. Após essa primeira extração, o volume do balão foi completado com acetona. Assim, foi obtido o extrato cetônico de calêndula.

A segunda etapa para a obtenção do extrato flavônico foi feita em funil de separação, tratando 20 mL do extrato acetônico com 20 mL de água e em seguida, foram extraídos 15 mL de acetato de etila (por partição), repetindo esse procedimento três vezes, com porções de 10 mL de acetato de etila. Posteriormente, a fração em acetato de etila foi lavada com duas porções de água destilada, transferindo essa nova solução do acetato de etila ao balão volumétrico de 50 mL, e o volume completado com acetato de etila (solução-mãe, SM). Com essa nova etapa foi obtido o extrato flavônico da calêndula.

Na última etapa de extração, foram pipetados 10 mL da solução flavônica de calêndula juntamente com 1 mL do reagente de cloreto de alumínio (foi

dissolvido 1g de cloreto de alumínio com solução metanólica de ácido acético a 5% -v/v- em balão volumétrico de 50 mL e completado o volume.

Na leitura em espectrofotômetro o controle foi preparado diluindo 10 mL do extrato flavônico em 25 mL em balão volumétrico com solução metanólica de ácido acético a 5% (v/v). Após 30 minutos, foi medida a absorvância da solução a 425 nm, em cubeta de 1 cm, utilizando o controle no ajuste do zero.

A porcentagem de flavonoides foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$TTF (\%; p/p) = \frac{A \times 62.500}{500 \times m \times (100 - PD)}$$

Onde:

A= absorvância medida;

m= massa da droga (g);

PD= perda por dessecação (%; p/p).

A perda por dessecação foi realizada em secagem direta em estufa a 105°C. Foi pesado 2g da amostra da calêndula moída em placas de petri previamente pesadas e taradas e aquecidas em estufa de circulação forçada a 105°C por quatro horas, em seguida foi pesada a amostra que foi levada novamente em estufa até peso constante.

O cálculo de perda por dessecação foi feito por meio da seguinte fórmula:

$$PD = \frac{100 \times N}{P}$$

Onde:

N= gramas de umidade (perda de massa em g);

P= gramas da amostra.

O resultado é expresso em porcentagem (p/p) de flavonoides calculados como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Algumas variáveis foram avaliadas somente ao final do experimento, pois seriam avaliações destrutivas das plantas. Foi realizada a estatística descritiva dos dados observados (Tabela 3).

Tabela 3 – Estatística Descritiva dos Dados Observados:

Variável	Média	Desvio	CV(%)	Valor mínimo	Valor Máximo
AF (cm ²)	4466,7	1322,9	29,6	2059,5	7201,2
PFF (g)	184,7	74,1	40,1	52,3	378,7
PSF (g)	28,2	5,2	18,5	16,6	42,0
PFC (g)	187,0	38,1	20,4	110,4	258,1
PSC (g)	35,8	9,5	26,5	12,4	53,9
PFFL (g)	127,1	54,5	42,8	35,7	233,3
PSFL (g)	19,8	4,7	23,7	10,8	30,3

AF= Área Foliar; PFF= Peso da Folha Fresca; PSF= Peso da Folha Seca; PFC= Peso do Caule Fresco; PSC= Peso do Caule Seco; PFFL= Peso da Inflorescência Fresca; PSFL= Peso da Inflorescência Seca.

Pode-se observar o comportamento geral das plantas através dessas variáveis. Em relação ao peso das folhas e caule secos, observou-se que houve acúmulo de biomassa ao longo do período avaliado, porém a planta é constituída de grande quantidade de água. A área foliar demonstra grande área fotossinteticamente ativa que a planta possui, sendo que o solo pode ter influenciado positivamente no aumento do número de folhas e consequente na área foliar, além da disponibilidade de água.

Bertolino et al. (2001), utilizando três tipos de diásporos (alado, navicular e orbicular alado) verificaram que as plantas de calêndula provenientes de diásporos alados foram as mais altas (25,87 cm) e de maior área foliar (715 cm²), aos 75 dias após o transplântio.

A planta de calêndula cresceu exponencialmente ao longo do tempo (Figura 3), sendo que a altura alcançou o máximo (aproximadamente 37,0 cm) aos 53 dias após o transplântio e depois houve estabilidade de crescimento. De acordo com Gomes et al. (2006) as alturas das plantas de calêndula aumentaram linearmente no período em estudo. A altura máxima média aos 120 dias após o transplântio foi 34,02 cm. Os resultados foram coerentes com Vieira et al. (1999), que constataram alturas médias de 29,9 a 39,9 cm em plantas de calêndula

submetidas à adubação com fósforo e cama-de-aviário, no entanto, foi observado o crescimento linear no período de estudo de 90 dias de ciclo; e com Moreira (2002) que encontrou variações de 28,82 a 39,24 cm em plantas submetidas a cinco doses de nitrogênio e fósforo. O valor observado no presente trabalho e dos autores citados, são coerentes com aqueles obtidos por Sigedat et al. (1991) e citados por Martins et al. (1994), de que as plantas de calêndula podem alcançar até 45 cm de altura.

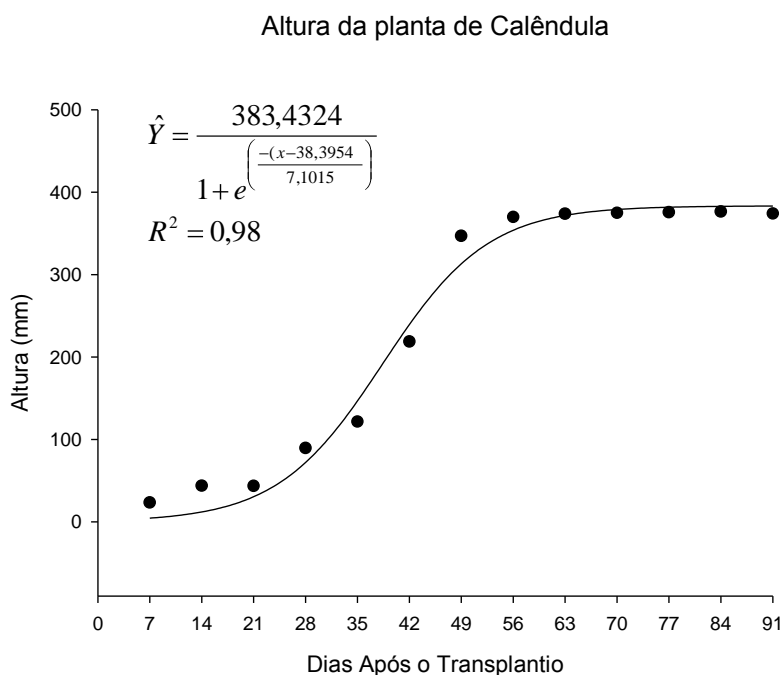


Figura 3- Altura da planta (mm) de calêndula (*Calendula officinalis* L.) durante o período de crescimento.

O início da floração coincidiu com o período de crescimento (aproximadamente 15 dias após o transplante) e favoreceu o crescimento das plantas em altura, devido à emissão de grande número de inflorescências, que são características da espécie (Ferri, 1986). Pelo fato das plantas de calêndula continuarem crescendo mesmo após o início da floração, indica que nessa espécie, a fase vegetativa e reprodutiva podem ocorrer simultaneamente. Fato semelhante foi observado por Bertolino et al. (2001), em plantas de camomila (*Matricaria chamomilla*) e por Castellani (1997), em *Tropaeolum majus* L.

Em relação ao diâmetro do caule, foi observado o maior diâmetro com 60 dias após o transplante, medindo 20,0 cm. De acordo com a Figura 4, o diâmetro

do caule continuou aumentando ao longo do tempo, e aos 60 dias após o transplântio ainda não atingiu o máximo. Seria necessário mais tempo de observação até detectar o maior diâmetro. É importante relacionar o diâmetro do caule com o crescimento da planta, pois este deve aumentar ao longo do crescimento do vegetal. O crescimento radial do caule é necessário como sustentação forte da parte aérea. Em alguns casos há o acúmulo de reservas nos caules, e a translocação de fotoassimilados deve ocorrer de forma constante visando à manutenção das atividades vitais da planta. Através do caule as plantas absorvem água e nutrientes provenientes do solo e assim, continuam o crescimento.

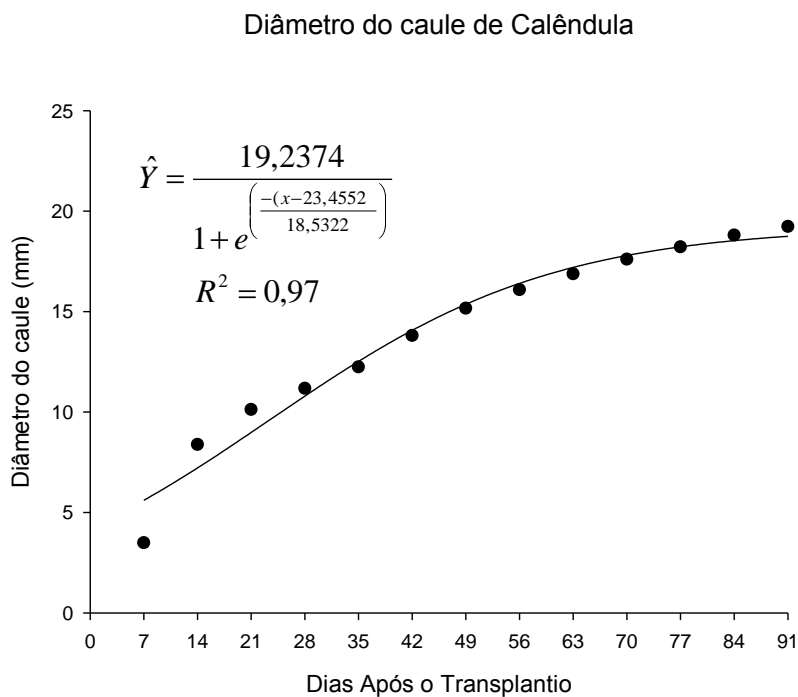


Figura 4- Diâmetro do caule (mm) de calêndula (*Calendula officinalis* L.) durante o período de crescimento.

O número de folhas da calêndula aumentou exponencialmente (Figura 5) e teve desempenho semelhante ao diâmetro do caule, sendo que aproximadamente aos 44 dias houve estabilidade no aumento das folhas. As folhas são um importante fator da produção e determina o uso da água pelas plantas. Essa variável é de extrema importância visto que está intimamente ligada com a

atividade fotossintética. Durante o desenvolvimento das plantas, a atividade fotossintética por área foliar aumenta com a idade da folha, até a sua expansão máxima, decrescendo após, até a sua senescência (Pimentel; Rossiello, 1995). Se no vegetal não há sinais de senescência e estando o solo na capacidade de campo, o fornecimento de nitrogênio às folhas ocorrerá normalmente, aumentando assim a taxa fotossintética da planta e conseqüentemente o crescimento. Berman e Pal (1994) observaram que o maior número de folhas por planta em calêndula foi 146,10, com a utilização de 40 g m⁻² de nitrogênio mineral, o que não foi observado no presente trabalho, já que não houve aplicação de nitrogênio no solo, e apenas a adubação orgânica.

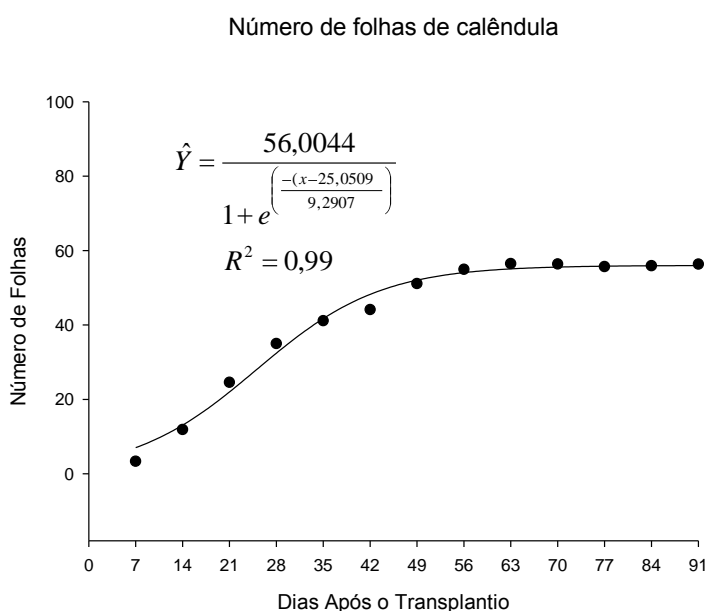


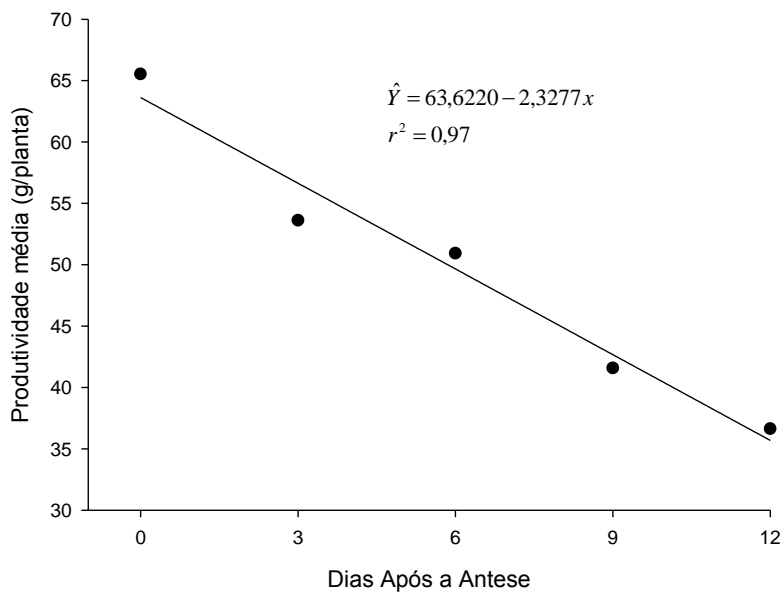
Figura 5- Número de folhas de calêndula (*Calendula officinalis* L.) durante o período de crescimento.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos em relação ao peso das inflorescências secas, no entanto, o peso de inflorescência fresca diferiu estatisticamente entre os tratamentos. A média do peso dos capítulos florais secos foi mantida aproximadamente igual entre os tratamentos o que pode demonstrar menor acréscimo de massa durante o período de crescimento da inflorescência (Figura 6B).

A produtividade de capítulos de calêndula em gramas por planta consta da figura 6. A maior produtividade de inflorescências ocorreu aos zero dias após a

antese (DAA), ou seja, logo após a antese, implicando em diminuição considerável da perda de características importantes dessas flores. Este fato sugere também que ao longo do tempo a produtividade diminui, pois há grande perda de partes ou total das flores, consequência do início do processo de senescência das flores, provocando perdas gradativas nas características qualitativas, como cor, aparência e integridade (Figura 6A). Na última época de colheita (12 DAA) foi evidente a queda das flores liguladas e o envelhecimento generalizado da flor, iniciando assim, o processo de formação das sementes.

Produtividade média dos capítulos florais de calêndula



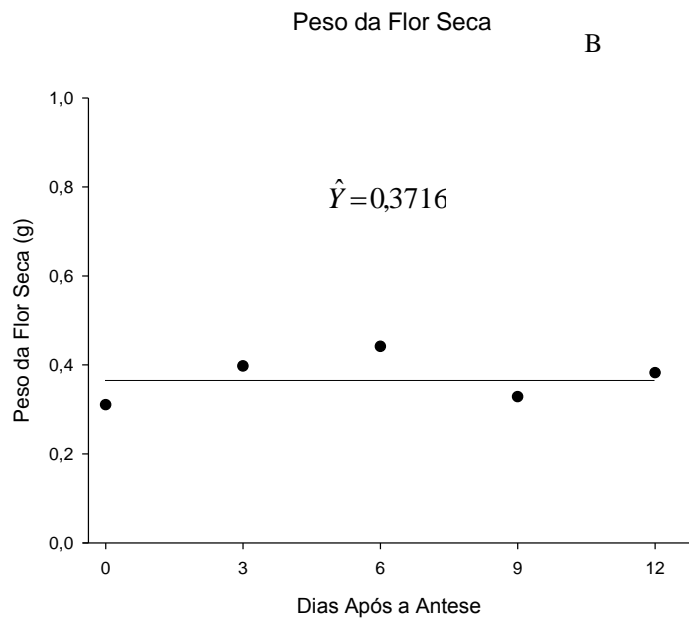
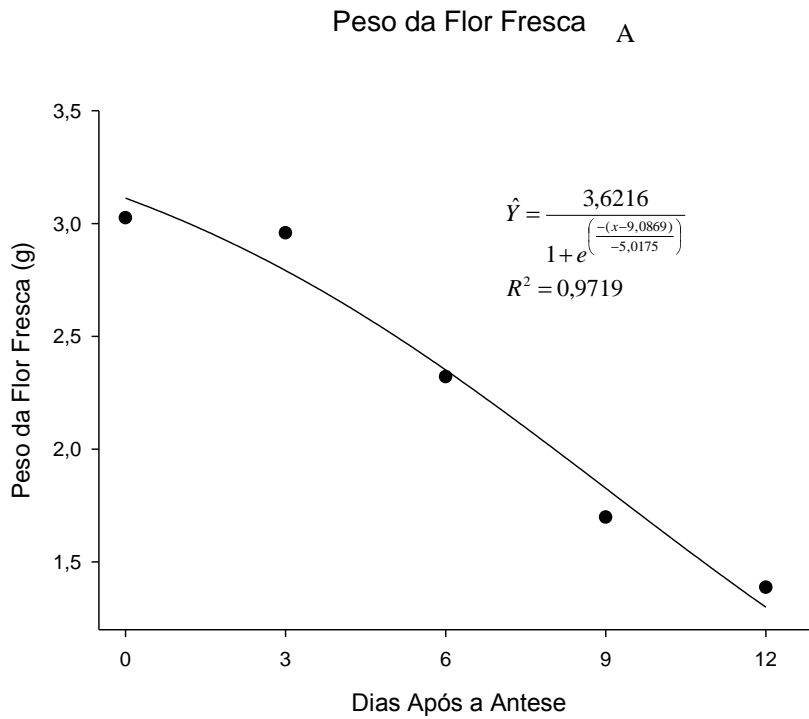


Figura 6- Peso (g) dos capítulos florais frescos (A) e secos (B) de calêndula (*Calendula officinalis* L.) em cinco épocas de colheita.

Com base nos resultados das inflorescências, a calêndula é considerada espécie de ciclo curto e deve ser colhida no tempo exato, ou seja, logo após a abertura da flor, evitando perdas que poderiam afetar a qualidade da matéria prima. A aplicação de práticas de pós-colheita aumentaria o período de

conservação das propriedades organolépticas dessas flores. Os objetivos das práticas de pós-colheita são a manutenção da qualidade, aumento da durabilidade e redução de perdas das inflorescências após a colheita. Os principais procedimentos pós-colheita das flores são resfriamento, limpeza, hidratação, classificação e embalagem (Loges et al., 2005). No entanto, em plantas medicinais, as práticas de pós-colheita são mais simples, em calêndula seria resumida à secagem das flores. A secagem tem como objetivo impedir a deterioração por meio da redução do teor de água da matéria prima, atuando negativamente na ação das enzimas, pela desidratação (Martins et al., 2004) e pode ser feita natural ou artificialmente.

De acordo com Pedroni et al. (2002), a duração da flor é o balanço entre o tempo que fica exposta aos polinizadores, o custo de sua produção e manutenção e o risco de ser parasitada. Flores de curta duração devem ocorrer em plantas onde é alta a probabilidade de serem visitadas no mesmo dia e ficarem rapidamente saturadas com pólen suficiente de modo a produzir muitas sementes (Primack, 1985).

Moreira et al. (2005), verificaram que a massa dos capítulos florais secos de calêndula variou em função das doses de P, sendo a máxima (4,70 g vaso⁻¹) obtida com o uso de 271,7 mg vaso⁻¹ de P. Já a massa dos capítulos florais secos variou com função das doses de N, sendo a máxima (0,52 g vaso⁻¹) obtida sob dose de 199,2 mg vaso⁻¹ de N.

O maior teor total de flavonoides na calêndula foi constatado aos 3,04 dias após a antese, totalizando aproximadamente 0,70% de flavonoides totais (Figura 7), calculados como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂). De acordo com a monografia da calêndula, descrita na farmacopéia brasileira (Farmacopéia Brasileira, 2002) a droga vegetal da calêndula consiste de flores liguladas inteiras ou trituradas, juntamente de escassas flores tubulosas, separadas do receptáculo e das brácteas involucrais, secas. Não deve conter menos de 0,4% de flavonoides totais, calculados como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂) em relação à amostra dessecada. Portanto, no presente trabalho todas as amostras de calêndula produzidas atendem o limite preconizado pela farmacopéia.

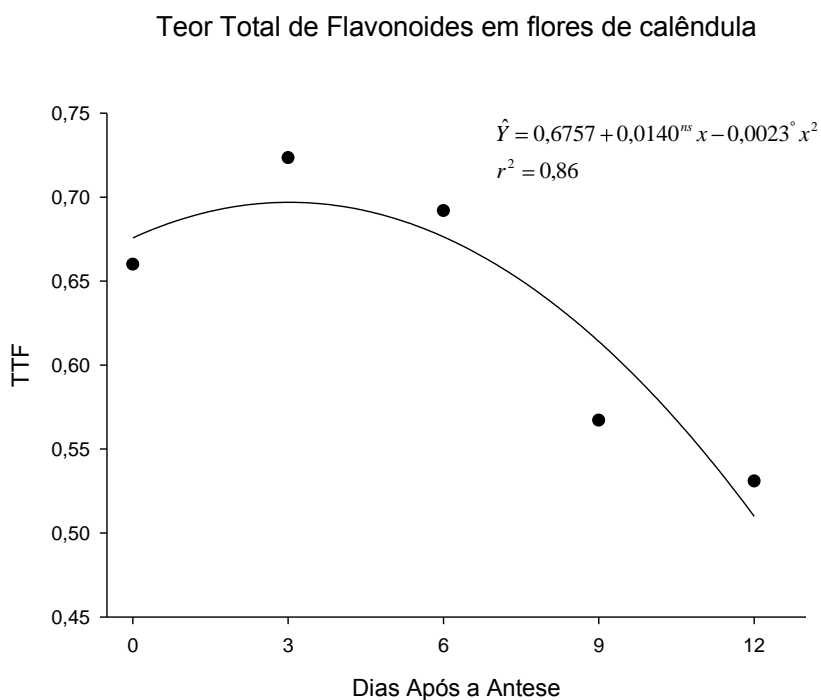


Figura 7- Teor total de flavonoides em capítulos florais de calêndula (*Calendula officinalis* L.) em cinco épocas de colheita.

Houve comportamento quadrático na curva de flavonoides, o que permite inferir que logo quando as flores abriram não estavam na capacidade máxima de produção. Na próxima data foi possível observar maior produção de flavonoides pela planta. Isso pode ser explicado pela grande atividade biossintética dos tecidos mais jovens, aumentando assim a produção de vários compostos, dentre eles os flavonoides. Todavia, com o início da senescência das flores, diminuiu gradativamente o acúmulo de flavonoides. Mesmo assim, na última data de avaliação (aos 12 dias após a antese) ainda foram constatadas quantidades suficientes de flavonoides (aproximadamente 0,53%) na forma de hiperosídeos possibilitando a calêndula ser classificada como droga vegetal.

Bartolo et al. (2009) estudando lâminas de irrigação em calêndula submetidas ao estresse hídrico, observaram que a variação na disponibilidade hídrica testada no experimento não foi suficiente em promover o redirecionamento de carbono fixado fotossinteticamente da síntese de metabólitos primários, tais como celulose, lipídeos e proteínas, até a síntese de metabólitos secundários, como os flavonoides.

Em relação aos flavonoides da calêndula, estão na faixa de 0,88 e 0,33% de flavonoides totais em flores liguladas e receptáculos respectivamente (Hadson, 1985). Segundo Masterová (1991), os flavonoides glicosídicos são os principais constituintes com efeito anti-inflamatório da calêndula.

A época de colheita de folhas de *Tournefortia paniculata* Cham promoveu variações nos teores médios de flavonoides, demonstrando que a produção destes constituintes pode estar restrita a algum estágio específico do desenvolvimento da planta ou a determinadas condições ecológicas ou ambientais (Moraes et al., 2007).

Leite et al. (2005), em cultivo com várias doses de adubo orgânico, observaram a produção de 0,52% de flavonoides com 60 t ha⁻¹, no entanto ressaltaram que acima desta proporção pode aumentar a ocorrência de ataque de pulgões e outros artrópodes à cultura. Resultado este que se comparado ao presente trabalho, mostra que com grande quantidade de adubo orgânico o teor de flavonoides fica próximo do menor teor encontrado. Araújo et al. (2009) utilizaram cobertura morta associada a níveis crescentes de adubação orgânica e obtiveram valores de 0,70% de flavonoides com 59 t ha⁻¹ de composto orgânico. Utilizando adubação química associada à cobertura morta Borella et al. (2011) observaram a produção máxima de 0,79% de teor total de flavonoides e 0,70% utilizando adubação orgânica associada à cobertura morta. O TTF quando esses autores avaliaram seus tratamentos estiveram dentro daquele intervalo encontrado neste trabalho.

Na maioria dos trabalhos encontrados relacionados com o teor de flavonoides foi aplicado algum tipo de tratamento visando o aumento da produção desse metabólito. No entanto, no presente trabalho isso não ocorreu, isto é, para a calêndula os tratamentos se referiam apenas à época de colheita dos capítulos florais, e mesmo assim altos índices de teor total de flavonoides foram encontrados, o que demonstra que nem sempre é necessária a aplicação de grandes quantidades de adubação orgânica na produção de flavonoides. Apenas com boa condução e corretos tratamentos culturais é possível produzir grandes quantidades de metabólitos secundários em plantas medicinais e assim serem classificadas como drogas vegetais.

Segundo Andrade et al. (1999) há algumas recomendações quanto a determinação do ponto ideal de colheita, as quais podem variar devido à características particulares de cada espécie. Assim, se a parte colhida são as flores, o ponto ideal de colheita será no início da floração.

Portanto, com base nos resultados a melhor época de colheita de capítulos florais de calêndula visando à produção de flavonoides é três dias após a antese. Objetivando maior produtividade de capítulos, tão logo ocorra a abertura dos botões florais a colheita deve ser realizada. A melhor época de colheita dependerá da finalidade.

4. CONCLUSÃO

Como as inflorescências de calêndula são amplamente requisitadas pela indústria farmacêutica, foi estabelecida uma melhor época para a colheita dessas inflorescências para que as mesmas possuam alto teor de flavonóides. Quando a área de cultivo é muito extensa é inviável a realização de coletas diárias das inflorescências da calêndula. Diante dos resultados, a melhor indicação de época de colheita é a cada três dias, sendo que assim há garantia para o produtor de que nesse período de colheita haverá flores com máxima produtividade e teor total de flavonoides.

5. BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras**. São Paulo: Hemus, 1993.341p.

ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário**. Viçosa-UFV. 1999.139p.

ARAÚJO, C.B.O.; SANTOS, A.M.; FERNANDES, L.A.; MARTINS, E.R.; SAMPAIO, R.A.; COSTA, C.A.; LEITE, G.L.D. Uso da adubação orgânica e cobertura morta na cultura da calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.11, n. 2, p.117-123, 2009.

BARMAN, D.; PAL, P. Effect of nitrogen and phosphorus on seed yield in calendula (*Calendula officinalis* L.). **Orissa Journal of Agricultural Research**, v. 7, p. 17 - 21, 1994.

BARTOLO, D. P. G.; MARQUES, P. A. A.; PACHECO, A. C. Teor e rendimento de flavonoides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada com diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 435 - 441, 2009.

BERTOLINO, A.Z.; VIEIRA, M.C.; HEREDIA, Z.; NÉSTOR, A. Crescimento de *Calendula officinalis* L. provenientes de três tipos de diásporos. In: Jornada Paulista de Plantas Mediciniais: Natureza, ciência e comunidade, 5, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP/UFB, p. 61. 2001.

BERTONI, B.W.; DAMIÃO FILHO, C.F.; MORO, J.R.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A.M.S. Micropropagação de *Calendula officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.48-54, 2006.

BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; GALLORI, S.; MAZZI, G.; VINCIERI, F.F. Stability of the constituents of calendula, milk-thistle and passionflower tinctures by LC-DAD and LC-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.30, p. 613-624, 2002.

BORELLA, J. C.; RIBEIRO, N. S.; FREATO, A. M. R.; MAZZO, K. F.; BARBOSA, D. M. Influência da adubação e da cobertura morta na produtividade e no teor de flavonoides de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 235 - 239, 2011.

BRASIL. **Política Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60p.

BRUNINI, C.; ARENALES, M.C. Staphysagria. In: BRUNINI, C.; SAMPAIO, C. (Eds.). **Matéria médica homeopática**, v. 3. Mythus: São Paulo, p. 165 - 180, 1993.

CASTELLANI, D.C. **Crescimento, anatomia e produção de ácido erúico em *Tropaeolum majus* L.** Viçosa-MG. 108 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa.

CORRÊA JÚNIOR, C.; GRAÇA, L.R.; SCHEFFER, M.C. **Complexo Agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnóstico e perspectivas**. Sociedade Paranaense de Plantas Mediciniais: Embrapa Florestas. 2004.272p.

CORRÊA JUNIOR, C.; SCHEFFER, M.C. **Boas práticas Agrícolas (BPA) de Plantas Mediciniais, Aromáticas e Condimentares**. 2 ed. Curitiba: Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural-EMATER, 2009.52 p.

COURT, W.A.; ROY, R.C.; POCS, R. Effect of date on the yield and quality of the essential oil peppermint. **Canadian Journal of Plant Science**, v.73, n. 228, p. 815-824, 1993.

ELIAS, R.; DE MÉO, M.; VIDAL-OLLIVIER, R.; LAGET, M.; BALANSARD, G.; DUMENIL, G. Antimutagenic activity of some saponins isolated from *Calendula officinalis* L., *C. arvensis* L., and *Hedera helix* L. **Mutagenesis**, v. 5, n. 4, p. 327-331, 1990.

EMERENCIANO, V.P.; MILITÃO, J.S.L.T.; CAMPOS, C.C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M.A.C.; ZAMBON, M.; BRANT, A.J.C. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 947 - 957, 2001.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA: PARTE II, FASCÍCULO 3. **Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira**. 4 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. 263 p.

FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal**.v.1. São Paulo: Pedagógica e Universitária Ltda, 1986.,401 p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas Mediciniais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HADSON, V. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids in plant products of cosmetic interest. **Clujul Medical**. v. 58, n. 4, p. 378-381, 1985.

HASLER, A.; MEIER, B. *Ginkgo biloba* - content of flavonoids and terpenes from leaves during the harvest time and from full extracts determined by chromatographic and biological methods. **Planta Medica**, v. 59, p. 632, 1993.

HODGES, T. F. Predict crop phenology. **Boca Ration**: CRC. 2001. 233 p.

JIMENEZ-MEDINA, E.; LLAMAS, M.; PACO, L.; ALGARRA, I.; GARCIA-LORCA, A.M.; GARRIDO-TORRES-PUCHOL PUCHOL, F. A new immune modulatory acting on Lymphocyte cell proliferation. **Genes and Immunity**, Supplement. p.1, v. 70, 2004.

KAVALTICHEV, Z.; WALDER, R.; GARZARO, D. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. **Biomedical Pharmacotherapy**, v. 51, n. 4, p. 176-180, 1997.

KOEPPEN, W. **Climatologia**. Buenos Aires: Gráfica Panamericana, 1948. 478 p.

LEITE, G.L.D.; ARAÚJO, C.B.O.; AMORIM, C.A.D.; PÊGO, K.P.; MARTINS, E.R.; SANTOS, E.A.M. Níveis de adubação orgânica na produção de calêndula e artrópodes associados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2, p. 227 - 233, 2005.

LOGES, V.; TEIXEIRA, M. C. F.; CASTRO, A. C. R.; COSTA, A. S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 699 - 702, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, M.; TUÑÓN, M.J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospotalaria**, v. 6, p. 271-278, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa, UFV. 2004. 220 p.

MASTEROVÁ, L.; GRANCAIOVÁ, S.; UHRINOVÁ, V.; UBIK, K.; NAGY, M. Flavonoids in flowers of *Calendula officinalis* L. **Chemical papers**, v. 45, n. 1, p. 105 - 108, 1991.

MATTOS, J. K. A. **Plantas Medicinais: aspectos agronômicos**. Brasília: Edição do Autor. 1996. 51p.

MOBOT. Missouri Botanical Garden. **W3 tropics**. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/2709695>. Acesso em: 10 jan.2013.

MORAES, L.; SOUSA, O. V.; YAMAMOTO, C. H. Pesquisa e quantificação de flavonoides em folhas de *Tournefortia paniculata* Cham. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p.1596-1599, 2007.

NANNIPIERI, O. et al. Proprietá biochimiche e fisiologiche della sostanza orgânica. In: NANNIPIERI, P. **Ciclo della sostanza orgânica del suelo**. Bologna: Pátron, p. 67 - 78, 1993.

PAGNANO, L.O.; BARALDI-ARTONI, S.M.; PACHECO, M.R.; SANTOS, E.; OLIVEIRA, D.; LUI, J.F. Morfometria de fibroblastos e fibrócitos durante o processo cicatricial na pele de coelhos da raça Nova Zelândia Branco tratados com calêndula. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, p.1662-1666, 2008.

PDR FOR HERBAL MEDICINE. 2nd Ed. New Jersey: Montvale, p.497-499, 2000.

PIMENTEL, C.; ROSSIELO, R. O. P. Entendimento sobre relações hídricas. In: Simpósio Internacional sobre estresse ambiental: O milho em perspectiva, 1995, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Embrapa/CNPMS, v. 1, 449 p, p.131 - 146, 1995.

PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. UFLA, Lavras, Brasil, 2002.169 p.

RAMOS, A.; EDREIRA, A.; VIZOSO, A.; BETANCOURT, J.; LÓPEZ, M.; DÉCALO, M. Genotoxicity of na extract of *Calendula officinalis* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v.61, p.49-55, 1998.

RODRIGUES DAS DÔRES, R. G; CASALI, V. W. D. **Plantas Medicinais e Aromáticas: Controle de Qualidade**. Viçosa: UFV, DFT, 2007.160 p.

RODRIGUES, P. O.; CONÇALVES, T. C.; SILVA, W. B. Influência de diferentes sistemas de solventes no processo de extração de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 23, n. 1, p. 27-31, 2004.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde**. São Paulo: Ed. Manole, 2002.316p.

SHARP, H.; BARTHOLOMEW, B.; BRIGTH, C.; LATIF, Z.; SARKER, S. D.; NASH, R. J. 6-Oxygenated flavones from *Baccharis trinervis* (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p.105 - 107, 2001.

SILVA JUNIOR, A. A. **Essentia herba**. v.2, Florianópolis: EPAGRI, 2006. 633p.

SILVA, F.; SANTOS, R. H. S.; DINIZ, E. R.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R. Teor e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, p. 33-38, 2003.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P. E.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade/ UFRGS. 1999.

STRECK, N. A. A generalized non linear air temperature response function for node appearance rate in muskmelon (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 10, n. 1, p. 105-111, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, R. **Fisiologia Vegetal**. 3ed- Porto Alegre. 719 p. 2004.

TARNAI, E. A.; PAGLIUCA, G.; PIRETTI, M. V. Systematic investigation of polyphenol compounds from different parts of cherry tree (*Prunus avium*). **Fitoterapia**, v. 65, n. 6, p. 541- 548, 1994.

VILA, R.; MUNDINA, M.; MUSCHIETTI, L.; PRIESTAP, H. A.; BANDONI, A.L.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Volatile constituents of leaves, roots and stems from *Aristolochia elegans*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 6, p. 1127 - 1129, 1997.

VOLPATO, A. M. M. **Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (ASTERACEAE) para seu emprego como fitoterápico**. 2005. 137 p.Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

VON HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem, comercialização**. 2ed. São Paulo: Ícone. 1991. 414 p.

WHKOMIRSKI, B.; DUBIELECKA, B. Sterol content as a similarity marker of different organs of two varieties of *Chrysanthemum parthenium*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 6, p. 1603-1604, 1996.

WHO - World Health Organization. Draft WHO guidelines on safety monitoring and pharmacovigilance of herbal medicines. Amsterdam: World Health Organization. 2003.

WHO - World Health Organization. **Monographs on selected medicinal plants**, 2. Geneva, 2002. 356 p.

WILHELM, W. W.; McMASTER, G. S. Importance of the phyllochron in studying development and growth in grasses. **Crop science**, v. 35, n. 1, p. 1-3. 1995.

WILLIAMS, C. A.; GOLDSTONE, F.; GREENHAM, J. Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. **Phytochemistry**, v. 42, n.1, p.121 - 127, 1996.