

SARA ANIZELLI MANGANOTTI

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR DE FLAVONOIDES E QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) EM DOIS
SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Agrárias do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias. Área de concentração em Agroecologia.

Orientador: Prof. Ernane Ronie Martins

Montes Claros

2011

Manganotti, Sara Anizelli.

277p
2011 Produção de biomassa, teor de flavonoides e qualidade microbiológica de calêndula (*Calendula officinalis* L.) em dois sistemas de irrigação e três coberturas de solo / Sara Anizelli Manganotti. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2011.

88 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

Orientador: Prof. Ernane Ronie Martins.

Banca examinadora: Henrique Maia Valério, Anna Christina de Almeida, Ernane Ronie Martins.

Inclui bibliografia: f. 68-88.

1. Plantas medicinais. 2. Calêndula – Flavonoides. I. Martins, Ernane Ronie. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 633.88

Elaborada pela Biblioteca Comunitária do ICA/UFMG

SARA ANIZELLI MANGANOTTI

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR DE FLAVONOIDES E QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA DE CALÊNDULA (*CALENDULA OFFICINALIS* L.) EM
DOIS SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO**

Prof. Henrique Maia Valério
(UNIMONTES)

Prof.^a Anna Christina de Almeida
(ICA/UFMG)

Prof. Ernane Ronie Martins
Orientador (ICA/UFMG)

Aprovada em 23 de setembro de 2011

Montes Claros
2011

DEDICATÓRIA

A minha Família por estar comigo em cada passo da vida, certo ou errado, sempre me apoiando, motivando e ensinando a ser uma pessoa melhor. A vocês, exemplo de garra, coragem e esperança!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu refúgio e força, onde sempre encontrei respostas para os meus problemas. Pela companhia e força constante em todos os momentos.

À Universidade Federal de Minas Gerais, em especial ao Instituto de Ciências Agrárias, pela oportunidade oferecida para a realização deste curso.

Ao Prof. Ernane Ronie Martins, pela orientação lúcida e coerente; pela dedicação, incentivo, críticas, puxões de orelha que colaboraram para o meu amadurecimento; pelas inúmeras discussões, sempre valiosas; pela confiança em mim depositada; por mostrar-me a necessidade de paciência, e ao mesmo tempo a seriedade do que é fazer um mestrado; pela amizade além dos limites da universidade.

À Prof.^a Lourdes Silva Figueiredo, pelo carinho, ensinamentos, seriedade em minha coorientação; pela forma doce, meiga, que me ajudava a compreender melhor as pessoas e sabendo me ouvir nos momentos em que mais precisei; pela sua amizade e respeito.

Ao Prof. Cândido, pelo carinho, dedicação, atenção e incansável paciência.

À Prof.^a Anna Christina de Almeida, pelo seu carinho, simpatia, seu jeitinho meigo e imensa sabedoria me estimulou e me guiou no mundo da microbiologia; pelo aconchego e segurança encontrados em cada conversa e, sobretudo, pela inestimável amizade. Sem palavras, quero ser como você quando eu crescer!

Aos meus Pais, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, que iluminaram os meus caminhos pelo obscuro com afeto e dedicação para que eu pudesse trilhá-lo sem medo e cheia de esperança. A vocês que se doaram por inteiro e renunciaram aos seus sonhos, para que muitas vezes, eu pudesse realizar o meu. Pela longa espera e compreensão durante minha distância. A vocês meus pais, por opção e amor, não bastaria

dizer obrigada, pois, palavras não são o suficiente para agradecer tudo. Mas, o que acontece nesta fase da minha vida é graças ao seu amor. E essa emoção jamais seria traduzida por palavras. Amo vocês!

Aos meus avós, tios, primas e irmãos que sempre perguntavam: “*já acabou os estudos?*” mesmo sem saber ao certo o que é um mestrado, torceram e rezaram por mim.

A minha grande amiga Paty, por acreditar e confiar em mim, pelo companheirismo, pela dedicação, por me aceitar, por me ajudar, por me acalmar quando muitas vezes o desespero falou mais alto, ah se não fosse você! Jamais vou te esquecer, essa vitória também é sua!

Aos alunos do PET/SESU, Cinthya, Willer, Pedro e Juliana, que sempre me ajudaram nos incansáveis dias de avaliações, pelo carinho, paciência, determinação e, o mais importante, a amizade.

Ao meu namorado, Adriano, pelo amor, carinho, compreensão, paciência, apoio e dedicação.

A todos do laboratório de Plantas Mediciniais e de Microbiologia do ICA, em especial, Vitor, Messulan, Maria Clara, Bel e Larissa, pelos inúmeros favores prestados.

Aos meus amigos Gerson, Harlen, Cidinho, Aline, e Cibele, pela disponibilidade, bom humor, pelas inúmeras conversas recheadas de papos-cabeça ou sem nenhuma utilidade aparente, mas que desanuviaram muitas vezes minhas angústias. Pessoas especiais, admiráveis e amigas que guardarei para sempre.

Aos meus queridos amigos Manoel, Marco Túlio, Josefina, Otávio, Vanessa, Héliida, Hugo e Larissa, pelo companheirismo, amizade, cumplicidade e alegria durante todo o nosso período de convivência diária.

Aos demais amigos que passaram pelo laboratório de Plantas Medicinais e Microbiologia do ICA/UFMG.

A todos os alunos do PET/SESU, Professores, Colegas do Mestrado, e Funcionários da UFMG/ICA, agradeço pelo carinho, ajuda e atenção.

A o CNPq pela bolsa concedida e pela oportunidade de executar o projeto.

A todos meu carinho e muito obrigada. Grande beijo.

*“Ando devagar
Porque já tive pressa
E levo esse sorriso
Porque já chorei demais*

*Hoje me sinto mais forte,
Mais feliz, quem sabe
Só levo a certeza
De que muito pouco sei,
Ou nada sei*

*Conhecer as manhas
E as manhãs
O sabor das massas
E das maçãs*

*É preciso amor
Pra poder pulsar
É preciso paz pra poder sorrir
É preciso à chuva para florir*

*Penso que cumprir a vida
Seja simplesmente
Compreender a marcha
E ir tocando em frente...”*

*(Tocando em Frente)
(Almir Sater)*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 -	Núcleo fundamental de um flavonoide.....	22
Figura 2 -	Inflorescência de Calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.).....	29
Figura 3 -	Estrutura química da luteína.....	30

CAPÍTULO 2 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE FLAVONOIDES DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) CULTIVADA EM DOIS SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO.

Gráfico 1 -	Litros de água por kg de inflorescências secas de (<i>Calendula officinalis</i> L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG	45
Figura 1 -	Croqui da área experimental com calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas mortas, em Montes Claros – MG.....	39
Figura 2 -	Croqui da disposição das plantas na parcela útil do experimento com calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas mortas, em Montes Claros – MG.....	40

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE FLAVONOIDES DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) CULTIVADAS EM DOIS SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO

1 - Dados climatológicos durante o período experimental, julho a outubro de 2010 – Montes Claros – MG – 2011	38
2 - Resumo da análise de variância das características número de folhas, altura da planta (AL), diâmetro do caule (DC), massa fresca de capítulos florais (MF), massa seca dos capítulos florais (MS), teor de flavonoides (T) e rendimento de flavonoides (REND) em calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.) cultivada em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação, Montes Claros – MG – 2011	43
3 - Produtividade de capítulos florais frescos ($t\ ha^{-1}$) de calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011.....	44
4 - Produtividade de capítulos florais secos ($t\ ha^{-1}$) de calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011.....	44
5 - Teor de flavonoides totais (%) de calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG – 2011	48
6- Rendimento (g) de flavonoides por planta de calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011	49

**CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE
CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) SUBMETIDA A DOIS
SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO**

1 - Contagem de coliformes totais (NMP/g) de amostras de calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas de solo, em Montes Claros – MG.	59
2 - Valores representativos da contagem de microrganismos no solo e na água utilizados no cultivo de calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.), Montes Claros – MG – 2011	62
3 - Valores representativos da contagem total de bolores e leveduras de amostras de calêndula (<i>Calendula officinalis</i>) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas de solo, em Montes Claros – MG, pela técnica do UFC/g, Montes Claros – MG – 2011	63

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Caracterização da região Norte de Minas Gerais.....	16
2.2	As plantas medicinais no contexto mundial.....	18
2.3	Metabólitos ativos.....	21
2.4	Engenharia ecológica e cultivo orgânico de plantas medicinais.....	23
2.5	Qualidade microbiológica nas plantas medicinais.....	26
2.6	Calêndula (<i>Calendula officinalis</i> L.).....	28
2.6.1	Botânica.....	28
2.6.2	Atividade Biológica.....	29
2.6.3	Cultivo.....	31
2.7	Objetivo Geral.....	33

CAPÍTULO 2 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE FLAVONOIDES DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) CULTIVADA EM DOIS SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO

	RESUMO	34
	ABSTRACT	35
1	INTRODUÇÃO	36
2	MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1	Cultivo.....	37
2.2	Análise de flavonoides totais.....	41
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4	CONCLUSÃO	50

**CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA
DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) SUBMETIDA A DOIS
SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO**

	RESUMO	51
	ABSTRACT	52
1	INTRODUÇÃO	53
2	MATERIAIS E MÉTODOS	55
2.1	Cultivo	55
2.2	Amostras e análise microbiológica do cultivo de calêndula.....	56
2.3	Coliformes totais e termotolerantes.....	57
2.4	Bolores e leveduras.....	57
2.5	<i>Samonella</i> sp.....	58
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	68

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

A calêndula (*Calendula officinalis* L.) é uma espécie que pertence à família Asteraceae, e caracteriza-se pela sua variabilidade morfológica (LORENZI; MATOS, 2002). Essa planta produz flores heterogêneas em cores, tamanhos e número de capítulos florais e sementes (VIEIRA *et al.*, 2006). A espécie possui origem mediterrânea, cujas inflorescências são empregadas para fins terapêuticos, com ação cicatrizante, antisséptica, analgésica, anti-inflamatória, antiviral, vasodilatadora e tonificante da pele (LEITE *et al.*, 2005; SILVEIRA *et al.*, 2002).

Devido às propriedades químicas e morfológicas, a calêndula tem importância econômica tanto na indústria alimentícia e farmacêutica, quanto no setor ornamental (GOMES *et al.*, 2007; VOLPATO, 2005; PARENTE *et al.*, 2002). Segundo Naiverth e Faria (2007), o valor comercial de plantas medicinais, aromáticas e condimentares vem crescendo, devido ao grande interesse e investimento das indústrias, tornando-se assim uma oportunidade de negócios para propriedades rurais baseadas na agricultura familiar. Estima-se que o crescimento anual do mercado mundial de fitoterápicos é de 10 a 20% para derivados de substâncias ativas à base de plantas medicinais (SOUSA; MIRANDA, 2010). Com isso, o Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, sobre a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, vem incentivando em suas diretrizes a produção de matéria-prima, promovendo o acesso das plantas medicinais e fitoterápicos ao mercado mundial, e reconhecendo as práticas populares da utilização de remédios caseiros e estimulando o manejo adequado de cultivo e manipulação das mesmas (BRASIL, 2006b).

Com a demanda por medicamentos crescendo mundial e anualmente, a normatização do setor e a implementação se faz necessária, bem como a constante revisão de normas técnicas para a produção e comercialização desses medicamentos no intuito de garantir a segurança, a eficácia terapêutica e a qualidade dos produtos fitoterápicos (FREITAS *et al.*, 2007).

De acordo com Silveira *et al.* (2002), a calêndula é uma espécie promissora como alternativa para as pequenas propriedades que utilizam mão de obra familiar pois, usualmente, a colheita e o respectivo beneficiamento são manuais, devido à escassez de máquinas para esse fim, o que tem sido um dos entraves à produção em larga escala. O estudo dos sistemas de produção para a calêndula, no que se refere ao seu desempenho agrônômico e aos custos do cultivo é de importância à agricultura nacional, uma vez que boa parte da matéria-prima é utilizada na produção de fármacos. Dentre as necessidades primárias do estudo, tem-se o sistema de irrigação e de cobertura do solo, os quais podem contribuir para uma maior produção de biomassa e metabólitos secundários (ARAÚJO *et al.*, 2009).

As práticas de manejo e conservação, como o emprego de cobertura, são relevantes para a manutenção ou melhoria das características químicas, físicas e biológicas dos solos (PERIN *et al.*, 2004). Um dos requisitos para garantir a eficiência desse sistema é a escolha adequada de cobertura para a cultura (HERNANI; SALTON, 2001; ANDREOTTI *et al.*, 2008), a qual deve ter elevada produção de biomassa e grande durabilidade sobre o solo (KLIEMANN *et al.*, 2006), para que possa atuar efetivamente na proteção contra processos erosivos durante os períodos de excesso de água. Além disso, essas espécies devem favorecer maior retenção de umidade em condições de déficit hídrico, e disponibilizar nutrientes às culturas por meio de ciclagem (NUNES *et al.*, 2006). A camada de palha sobre a superfície do solo funciona como atenuadora ou dissipadora de energia, protege o solo contra o impacto direto das gotas de chuva, atua como obstáculo ao movimento do excesso de água, que não infiltra no solo, e impede o transporte de partículas minerais e orgânicas pela enxurrada (HECKLER *et al.*, 1998).

A escolha do sistema de irrigação adequado para uma cultura depende das mais variadas condições de clima, solo, cultura e socioeconomia. Não existe um sistema de irrigação ideal, capaz de atender satisfatoriamente todas essas condições e interesses envolvidos (ANDRADE *et al.*, 2001). Em consequência, deve-se selecionar o sistema de irrigação mais adequado para a cultura, sendo esse processo dependente de uma análise detalhada das

condições apresentadas, em função das exigências de cada sistema de irrigação, de forma a permitir a identificação das melhores alternativas (ANDRADE *et al*, 2001)

Além dos sistemas de manejo das espécies medicinais, deve-se considerar a qualidade microbiológica do cultivo. Segundo Farias (2001), a qualidade da matéria-prima não garante a eficácia do produto, mas é fator determinante da mesma. Estudos relatam a incidência de inúmeros fatores contaminantes nas amostras de origem nacional, de forma que não se encontravam dentro dos padrões de qualidades exigidos, sendo observado em algumas pesquisas elevado grau de contaminação (ARAÚJO; OHARA, 2000; BRANDÃO *et al.*, 2004). Visando uma melhoria das condições sanitárias dos medicamentos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária regulamentou, por meio da RDC n° 12, de 2 de Janeiro de 2001, os procedimentos para as análises da matéria-prima vegetal no Brasil, porém a fiscalização ainda é insuficiente (BRASIL, 2001). O monitoramento constante da qualidade sanitária da matéria-prima é imprescindível para garantir a segurança, reduzir as perdas econômicas, assim como os riscos à saúde humana. Cada etapa da cadeia de produção, desde o plantio até o consumo final, influencia as características microbiológicas, químicas e produtivas das plantas medicinais comercializadas (MAISTRO, 2001).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização da região Norte de Minas Gerais¹

O Norte do Estado de Minas Gerais situa-se entre os meridianos de 41º e 46º de longitude oeste e entre os paralelos de 14º e 18º de latitude sul. Atualmente apresenta 92 municípios (IBGE, 2011). O período chuvoso estende-se de outubro a abril e, o período seco, de maio a setembro. Os veranicos são frequentes nessa região, ocorrendo geralmente em janeiro/fevereiro. O município de Montes Claros está situado na Bacia do Alto Médio São Francisco, com uma área de 3.582,034 km², cujos 38,7000 km² constituem a zona urbana e os 3.543,334 km² restantes constituem a zona rural. Situa-se a 16°44'06" de latitude sul e 43° 51' 43" de longitude oeste. Está situado a 422 quilômetros a leste da capital mineira (IBGE, 2011).

O ponto central do município de Montes Claros tem uma altitude média de 655,21 metros. O ponto culminante do município é o Morro Vermelho, onde a altitude chega aos 1.075 metros¹. Em Montes Claros predomina o relevo ondulado, com mares de morros e montanhas. A altitude mínima, que é de 502 metros, encontra-se na foz do Ribeirão do Ouro¹. Cerca de 60% do terreno municipal é ondulado, 30% são de áreas planas e os 10% restantes são zonas montanhosas. O solo predominante é uma formação pré-cambriana antiga, com ocorrência de siltito, ardósia, calcários, filitos, calcita, galena, minério de ferro, azotato de potássio, cristal de rocha e ouro de aluvião¹.

O clima é caracterizado como tropical tipo Aw conforme Köppen, com diminuição de chuvas no inverno e temperatura média anual de 22,65 °C, tendo invernos secos e amenos (raramente frios em excesso) e verões chuvosos com temperaturas altas. O mês mais quente, fevereiro, conta com temperatura média de 24,5 °C, cuja média máxima é de 30,0 °C e a mínima

¹ Os dados sobre a caracterização do Norte de Minas Gerais foram fornecidos pela Secretaria de Coordenação e Planejamento – Prefeitura Municipal de Montes Claros – MG, 2011.

de 19,0 °C. Por outro lado, o mês mais frio, julho, com temperatura média de 19,5 °C, quando a média máxima é de 27,0 °C, e a mínima de 12,0 °C. A precipitação média anual é de 1085,0 mm, sendo julho o mês mais seco, quando ocorrem apenas 3 mm. Em dezembro, o mês mais chuvoso, a média fica em 236,0 mm (INPE, 2011). Nos últimos anos, entretanto, os dias quentes e secos durante o inverno têm sido cada vez mais frequentes, não raro ultrapassando a marca dos 30 °C, especialmente entre junho e setembro. Segundo dados do Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC) e do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), desde abril de 1999 a temperatura mínima registrada na cidade foi de 2,5 °C no dia 18 de julho de 2000. Já a máxima registrada neste período foi de 41,5 °C, no dia 28 de outubro de 2008 (INPE, 2011).

O crescimento econômico do Norte de Minas foi possível com a presença ativa do Estado. De 1985 até 1995, o PIB da região cresceu com taxas superiores à da economia brasileira e do estado de Minas Gerais. Nesse período, a taxa média anual de crescimento do PIB brasileiro foi de 2,28%; de Minas Gerais 2,45% e, do Norte de Minas 3,70% (RODRIGUES, 2000). Na década de 90, a região passou por mudanças estruturais em sua composição setorial, com perda relativa de participação do setor agropecuário de 22% em 1985 para 12% em 2000, e incremento do setor industrial, de 33% para 45% (FJP, 2000).

Além da agricultura comercial, em algumas regiões do Norte de Minas existem populações tradicionais denominadas de Geraizeiros, que possuem uma forma singular de apropriação da natureza regida por um sistema peculiar de representações, códigos e mitos. Seus sistemas de produção consistem no plantio de lavouras diversificadas de mandioca, feijões, milho, cana, abóboras, batata doce, associadas com a criação de gado bovino, aves e suínos. Essas populações tradicionais complementam sua alimentação através do extrativismo feito nas terras gerais, terras sem dono, e de domínio público (DAYRELL, 1998).

2.2 As plantas medicinais no contexto mundial

O uso dos produtos naturais iniciou-se há milhares de anos por populações de vários países e, apesar dos grandes avanços observados na medicina moderna, as plantas medicinais continuam sendo utilizadas para tratamentos de diversas patologias, estimando-se que cerca de 30% de todas as drogas avaliadas como agentes terapêuticos são derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005; VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008). Uma forma de terapia que vem crescendo notadamente nestes últimos anos é a fitoterapia, cujo mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de 22 bilhões de dólares. O uso dessas plantas medicinais, na manipulação dos fitoterápicos, traria vantagens para o país, como redução da importação de medicamentos, promovendo, assim, a autossuficiência e proporcionando à população medicamentos mais baratos e que permitam maior valorização do conhecimento tradicional (VIEIRA *et al.*, 2010).

No Brasil, as informações acerca das plantas medicinais abrangem conhecimentos dos indígenas, europeus e africanos, baseados em espécies tropicais desde a colonização. Esta inter-relação do homem com as plantas e seu ambiente é de grande utilidade para a medicina moderna ocidental (MING, 2009). Essa sabedoria está cada vez mais pesquisada e está em constante modificação pela cultura moderna (SILVA, 2002; SANTOS *et al.*, 2008). O uso das plantas medicinais aumentou significativamente desde a década de 90. Alguns países têm dado maior atenção ao uso dessas plantas em sistemas nacionais de cuidados primários com a saúde, que é resultado de iniciativas da Organização Mundial de Saúde-OMS (TOMLINSON, 1998). Há comprovação de que 91,9% da população brasileira de baixa renda utiliza as plantas medicinais como automedicação e 45,6% cultivam em domicílio seus próprios medicamentos (ABIFISA, 2007).

Ferreira *et al.* (2008) enfatizam que 5,5% dos medicamentos vendidos em farmácias de todo o Brasil eram de produtos contendo exclusivamente princípio ativo de origem vegetal. Araújo *et al.* (2006) e Santos (2002) relatam que cerca de 80% de toda população mundial depende das plantas para as necessidades básicas, e um dos motivos é a busca de uma vida mais natural.

Nos Estados Unidos, estima-se que 25% dos medicamentos comercializados contêm extratos de plantas ou princípios ativos preparados de vegetais (FARNSWORTH *et al.*, 1986). Na Europa, de acordo com Graça (1990), o uso de medicamentos de origem vegetal é maior do que o de quimiossintéticos, sendo este valor acima de 40% em países como China e Índia.

O crescimento anual do mercado mundial de fitoterápicos é estimado em 10 a 20%, com estimativa do mercado de fármacos de US\$ 300 bilhões em 2010, sendo US\$ 20 bilhões derivados de substâncias ativas de plantas medicinais. No âmbito nacional, a estimativa do mercado de medicamentos é de US\$ 8 bilhões/ano, com US\$ 1,5 bilhão/ano derivado de plantas medicinais (SOUSA; MIRANDA, 2010). O estado do Paraná é responsável pelo abastecimento de 90% da demanda nacional de produtos à base de plantas medicinais, faturando cerca de R\$ 25 milhões por ano (NAIVERTH; FARIA, 2007).

Com os avanços químicos, farmacológicos e industriais, esses compostos secundários presentes nas plantas sofreram modificações na forma de uso, passando, alguns deles, a ser reproduzidos artificialmente e as substâncias ativas isoladas. Com isso o uso de plantas ficou em segundo plano, voltando a ser reconhecidas recentemente como recursos terapêuticos (SCHEFFER *et al.*, 1998; MENEGHELLO *et al.*, 2002). Atualmente, o governo federal aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que será fundamental para as políticas públicas de saúde, sendo capaz de promover melhorias na qualidade de vida da população (BRASIL, 2006a). Tais ações propiciarão desenvolvimento industrial, tecnológico, promovendo a segurança alimentar e nutricional, além de estabelecer técnicas de manejo da biodiversidade e desenvolver a cadeia produtiva e a indústria nacional (BRASIL, 2006b).

Com a demanda por medicamentos à base de plantas crescendo mundial e anualmente, a normatização do setor se faz necessária, bem como a constante revisão de normas técnicas para a produção e comercialização desses medicamentos, com intuito de garantir a segurança da eficácia terapêutica e qualidade dos produtos fitoterápicos (FREITAS *et al.*, 2007). O

desenvolvimento de um fitomedicamento custa, em média, US\$ 50 milhões, enquanto que um medicamento sintético pode custar 10 vezes mais, ou seja, US\$ 500 milhões, não raro dependendo dez vezes mais tempo para chegar ao mercado. Isso esclarece o porquê do interesse crescente de empresas internacionais na biodiversidade de países tropicais e subtropicais (SOUSA; MIRANDA, 2010). Considerando este fato, pode-se dizer que o uso das plantas medicinais no Brasil é uma alternativa para a maior parte da população, principalmente em função da falta de acesso à medicina convencional e não necessariamente pela preferência por medicamentos de origem natural. Não obstante, a demanda da indústria por substâncias extraídas de plantas medicinais tem crescido nos últimos 20 anos (VERLET, 1993 citado por MARTINS *et al.*, 2000).

A cada ano há um grande aumento do interesse das indústrias farmacêuticas, cosméticas e alimentícias na utilização de novas substâncias bioativas, como por exemplo, os óleos essenciais, que vêm sendo comercializados no mercado mundial, se tornando um produto rentável economicamente (DEANS; WATERMAN, 1993). O Brasil se posiciona como o 3º maior exportador de óleos essenciais, com aproximadamente US\$ 147 milhões, apenas perdendo para os EUA e França, tendo ultrapassado o Reino Unido em 2007. Apesar de o Brasil se destacar na produção mundial de óleos essenciais, ele sofre de problemas crônicos como a falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor, que levam ao quadro estacionário observado.

O mercado de plantas medicinais no mundo está em pleno crescimento, onde a maior parte das espécies utilizadas é nativa, obtidas por meio do extrativismo, sendo somente algumas espécies cultivadas e, quase sempre em pequena escala (MING, 1998). Portanto, constata-se aumento do número de programas oficiais de saúde, implantados pelos governos estaduais e municipais, com intuito de distribuir e recomendar o uso de fitoterápicos à população mais carente, assim como incentivar o cultivo agroecológico de plantas medicinais (SOUSA; MIRANDA, 2010).

2.3 Metabólitos ativos

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão, tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas. O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado em 350.000 a 550.000 no mundo (DIAS, 1996). Considera-se que mais da metade das espécies se encontra nas florestas tropicais, cuja área corresponde a 7% da superfície da terra (SOEJARTO, 1996).

Várias empresas nacionais vêm empregando matéria-prima vegetal diretamente na elaboração de seus medicamentos (FARIAS *et al.*, 1994). Neste contexto, os produtos químicos produzidos pelos vegetais podem ser divididos em dois grupos. Os primeiros, essenciais a todos os seres vivos, são metabólitos primários ou macromoléculas. Nesse grupo estão incluídos os lipídios, proteídeos e glicídios, com funções vitais bem definidas. Os produtos do metabolismo primário, por meio de rotas biossintéticas diversas e frequentemente desconhecidas, originam, à custa de energia, o segundo grupo de compostos químicos, os metabólitos especiais ou secundários ou, ainda, micromoléculas, que geralmente apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas que são encontrados em concentrações relativamente baixas em determinados grupos de plantas (SIMÕES *et al.*, 2004). Esses metabólitos secundários não são considerados essenciais, porém são importantes para a sobrevivência das plantas que os produzem. Muitos deles funcionam como sinais químicos que permitem à planta responder a estímulos ambientais; outros funcionam em defesa da planta contra herbívoros, patógenos ou competidores, enquanto alguns fornecem proteção contra a radiação solar e outros contribuem para a dispersão de pólen e sementes (RAVEN *et al.*, 2001).

Em meio aos metabólitos secundários é que se encontram os metabólitos ativos, ou seja, com atividade farmacológica, denominados de princípios ativos (SANTOS, 1998). Durante muitos anos, a importância adaptativa da maioria dos metabólitos secundários vegetais era

desconhecida. Considerando-se tais compostos como produtos finais de metabolismo sem função aparente ou mesmo resíduos. Estudos dessas substâncias foram iniciados por químicos orgânicos no século XIX e início do século XX, interessados nessas substâncias pela sua importância como drogas medicinais, venenos, aromatizantes e materiais industriais (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Dentre os compostos secundários podem-se destacar os flavonoides (FIG. 1) que compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural; entretanto, tais compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar sobre sistemas biológicos (QUEIROZ *et al.*, 2002). Conseqüentemente, muitas dessas propriedades atuam de forma benéfica para a saúde humana.

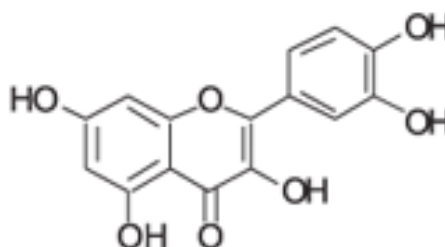


FIGURA 1 - Núcleo fundamental de um flavonoide
Fonte - SIMÕES *et al.* (2004).

Atualmente, já foram identificadas mais de quatro mil substâncias pertencentes ao grupo dos flavonoides (PETERSON; DWYER, 1998). Estruturalmente, os flavonoides constituem substâncias aromáticas derivadas de benzo-gama-pirona de origem vegetal (YOKOZAWA *et al.*, 1997).

Os flavonoides existem naturalmente em uma grande variedade de alimentos de origem vegetal como frutas, sementes, flores e folhas, e fazem parte integral da dieta humana. Sua distribuição no reino vegetal fica mais acentuada no grupo das angiospermas, enquanto que é praticamente ausente em algas, pouco presente em briófitas e pteridófitas (YUNES *et al.*, 2001). Podem-se encontrar flavonoides em diversas formas estruturais; contudo, a maioria dos representantes dessa classe possui 15 átomos de

carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas (SIMÕES *et al.*, 2004). Estes podem se apresentar ligados a açúcares, são denominados *O*-heterosídeos quando a ligação se dá por intermédio de uma hidroxila, e de *C*-heterosídeos quando a ligação se dá com um átomo de carbono. Quando o metabólito (flavonoides, antraquinonas, terpenos, etc.) encontra-se sem o açúcar, é chamado de aglicona (SIMÕES *et al.*, 2004).

Segundo Ratty e Das (1998), os flavonoides possuem atividade sobre os sistemas biológicos humano, como: capacidade antioxidativa, atividades anti-inflamatória e de efeito vasodilatador, ação antialérgica, atividade contra o desenvolvimento de tumores, anti-hepatotóxica, antiulcerogênica, atuação antiplaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais. Em estudo realizado por Lin *et al.* (1997), foi possível observar que alguns flavonoides atuavam na inibição da replicação viral do agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Humana (HIV). Enfim, as propriedades farmacológicas dos flavonoides ainda não foram totalmente avaliadas, sendo necessários avanços nessa linha de pesquisa, por meio de estudos toxicológicos e farmacológicos, bem como avaliar a capacidade de interação desse com outras substâncias (ANTON; BERETZ, 1990).

2.4 Engenharia ecológica e cultivo orgânico de plantas medicinais

Para o alcance de uma matéria-prima de qualidade que será destinada a produção de medicamentos, é importante a atenção em todos os processos, do cultivo à colheita. O princípio ativo determina o valor da planta, pois esse possui um papel fundamental sobre os efeitos farmacológicos, aumentando a estabilidade da substância e possibilitando melhor efeito terapêutico, como ocorre com os polissacarídeos na camomila (*Matricaria recutita*), aumentando a atividade anti-inflamatória da apigenina e luteolina, dentre outras flavononas (TUROLLA, 2004).

Vários fatores poderão alterar a quantidade e a qualidade do princípio ativo produzido pelas plantas, como metabólitos secundários. Esses fatores podem ser de ordem genética e fitotécnica como: a forma de plantio,

adubação, tratos culturais e época de colheita. Os fatores fitossanitários e as condições ambientais também influenciam na qualidade da planta como: o fotoperíodo, umidade do solo, temperatura, disponibilidade de nutrientes, época do ano, vento e poluição atmosférica, variações circadianas, latitude e altitude (STEFANINI *et al.*, 2002; ROSAL, 2008). A idade de colheita da planta é muito importante, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e ou reelaborados para expressar respostas biológicas (CORREA JÚNIOR *et al.*, 1994; MAY *et al.*, 2008).

A busca da população por plantas medicinais e por produtos ecologicamente corretos incentivou os pesquisadores e a indústria farmacêutica a investirem mais nas pesquisas de novos fármacos (SOUSA *et al.*, 2010). A variação no conteúdo de princípios ativos pode ocorrer ao longo de diferentes eixos temporais e espaciais, tanto genéticos quanto ecológicos e fisiológicos (TÉTÉNYI, 1970, citado por CORRÊA JÚNIOR, 1994). O cultivo, quando mal conduzido, pode gerar plantas de uso medicinal com princípios ativos em quantidades pequenas, tornando a sua comercialização inviável ou de maneira oposta, incrementar a quantidade de substâncias consideradas tóxicas, tornando o produto nocivo e, portanto, de utilização terapêutica imprópria (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1998).

No cultivo de plantas medicinais recomenda-se a adubação orgânica devido à sua ação nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, sendo geralmente usado um composto orgânico ou esterco de curral curtido. Ming (1998), em seus experimentos usando adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba*, obteve maior quantidade de biomassa utilizando 8 kg de esterco bovino por m². Também observou que, na etapa agrônômica do seu experimento, o incremento de biomassa foliar e floral foi significativo quando incorporados diferentes e crescentes teores de matéria orgânica. Carvalho *et al.* (2005) observaram o efeito da adubação orgânica e química em *Cymbopogon citratus*, tendo registrado produtividade de 2,033 t ha⁻¹ no tratamento com adubação química e 2,596 t ha⁻¹ no tratamento com adubação orgânica, apresentando-se como opção economicamente viável. Borella *et al.* (2011), avaliando a influência da adubação e da cobertura morta na produtividade em *Calendula officinalis*, observaram que a espécie possui

boa produção de droga vegetal, cerca de 210 kg ha⁻¹, na região de Ribeirão Preto – SP, utilizando-se adubação orgânica (esterco bovino curtido 50t ha⁻¹), sem necessidade de cobertura do solo com grama seca. Silva *et al.* (2007), trabalhando com *Macrotyloma axillare*, averiguaram que a maior produção foi obtida nos tratamentos que receberam esterco bovino, desenvolvendo melhorias das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, visto que os nutrientes foram aplicados na forma inorgânica em todos os tratamentos estudados.

O conhecimento das respostas regulatórias e evolutivas das plantas e as diversas pressões e variações ambientais, fornecem subsídios para manejar melhor a cultura e canalizar os esforços para a produção dos princípios químicos desejáveis. Correa Júnior *et al.* (1994) salientam a polêmica do uso de agroquímicos (agrotóxicos e adubos químicos) no cultivo destas espécies. Não se conhecem bem os efeitos dos adubos químicos sobre os metabólitos secundários, principalmente em plantas medicinais. Além disso, Martins *et al.* (2000) desaconselhavam o uso de agrotóxicos, pois, além de não estarem devidamente registrados para tal fim, podem deixar resíduos tóxicos na planta.

O uso de cobertura morta também pode ser excelente alternativa no cultivo orgânico, pois protege o sistema poroso do solo, auxilia na infiltração de água, aeração e manutenção da temperatura do solo. A cobertura também ajuda a reduzir a quantidade de plantas invasoras e contribui na redução do impacto das gotas de chuva evitando a exposição do solo à radiação solar (PRIMAVESI, 1988; RADAİK *et al.*, 1998; MARTINS *et al.*, 1994).

Além da cobertura do solo e adubação orgânica, a irrigação é uma prática comum na produção de plantas medicinais, visto que favorece o melhor desenvolvimento de algumas culturas cuja origem é europeia. A temperatura e a umidade são condições ambientais que interferem na produção de biomassa e capítulos florais de calêndula (FURLAN, 1998), sendo a água fornecida por meio de sistemas de irrigação a solução para o cultivo da espécie em regiões semiáridas (BARROS *et al.*, 2003). Conforme Sartório *et al.* (2000), mesmo sendo necessária a utilização da irrigação, deve-se manter controle rigoroso, uma vez que isso garante que as plantas

tenham a quantidade necessária de água para o seu desenvolvimento, sem encharcamento do solo, que propicia o desenvolvimento de doenças e dificulta o crescimento das plantas em regiões mais secas.

Uma planta medicinal, quando cultivada sob diferentes temperaturas e condições hídricas, pode apresentar alterações qualitativas e quantitativas no metabolismo secundário (BORTOLO *et al.*, 2009). Em práticas agrícolas, a deficiência hídrica pode ser compensada com a irrigação. Porém, por ser um método caro, e a irrigação deve ser feita de maneira correta para evitar o desperdício e não prejudicar o desenvolvimento da planta (ARMSTRONG *et al.*, 1994). Portanto, é imprescindível o controle adequado do manejo das culturas de plantas medicinais, pois, se o cultivo for conduzido apropriadamente, privilegia-se a produção, melhora o aproveitamento do solo, os processos biológicos, a manutenção da biodiversidade, o desenvolvimento econômico, bem como a qualidade de vida humana.

2.5 Qualidade microbiológica nas plantas medicinais

Para a comercialização de matéria-prima vegetal é importante o controle microbiológico devido, principalmente, à segurança, eficácia e aceitabilidade desses produtos, que podem gerar graves consequências à saúde do consumidor, pelo uso em desacordo com suas características de qualidade estabelecidas, ocasionando danos aos pacientes (SIMÕES *et al.*, 2004; YAMAMOTO *et al.*, 2004).

Pesquisas têm apontado a presença de diversas irregularidades que comprometem a eficácia e colocam em risco a saúde humana. Uma das causas para esse panorama tem sido o fato de as indústrias responsáveis pela fabricação desses produtos serem basicamente constituídas por empresas de pequeno porte que funcionam precariamente (ZUCCOLOTTO *et al.*, 1999).

A falta de boas práticas na produção e comercialização de plantas medicinais e fitoterápicos, associada à ausência de farmacovigilância, contribui para significativas quedas na qualidade (BARBOSA *et al.*, 2010). Essa ausência de uma fiscalização efetiva desses produtos deve-se à

carência da legislação vigente e exclusiva no que se refere à produção, uso e comercialização de produtos derivados de espécies vegetais (BRANDÃO *et al.*, 1998; ZUIN *et al.*, 2004). De acordo com Azevedo *et al.* (1988), com a avaliação microbiológica da planta, torna-se possível fazer uma estimativa de sua vida útil ou vida de prateleira, bem como avaliar quais os microorganismos que acometem a produção.

Pesquisas realizadas no Brasil, principalmente na região sul e sudeste, têm mostrado que a situação dos produtos à base de plantas medicinais é precária (DUARTE; BARDAL, 2002; BRANDÃO *et al.*, 2002; AMARAL *et al.*, 2003; BELLO *et al.*, 2002; DUARTE; LIMA, 2003; SOUSA *et al.*, 2003; BRANDÃO *et al.*, 1998; ZUIN *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2004; ZUCCOLOTTO *et al.*, 1999). Foram encontradas diversas irregularidades como: características organolépticas impróprias para a espécie, contaminação microbiológica, adulterações, informações inadequadas, elevado teor de impurezas, ausência ou baixa concentração dos constituintes ativos, elevado teor de umidade e a presença de resíduos de pesticidas nos produtos. Estudos realizados por Santos *et al.* (1995); Kneifel *et al.* (2002) e Rocha *et al.* (2004) demonstraram uma considerável contaminação microbiana em plantas medicinais. A contaminação por *Escherichia coli* e fungos aflatoxigênicos tem sido relatada na literatura (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005). Ações preventivas têm sido citadas nas pesquisas visando diminuir a contaminação microbiana de plantas, por meio de processos de qualificação de fornecedores de matérias-primas, em que ocorrem procedimentos de boas práticas agrícolas, especialmente relacionadas aos processos de colheita, secagem e armazenamento (DALL'AGNOL, 2001). Veiga-Junior e Pinto (2005) enfatizam que as pesquisas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, como também a fiscalização do comércio por parte dos órgãos competentes. Zaroni *et al.* (2004), estudando contaminação no estado do Paraná, verificaram que 79% das amostras de plantas medicinais não atendiam aos parâmetros estipulados para a utilização das plantas avaliadas como fitoterápicos.

Quando se trata de medicamentos fitoterápicos deve-se considerar o mesmo rigor dos medicamentos sintéticos. A fiscalização e a obediência às instruções normativas devem ocorrer nas etapas de extração, processamento, conservação e do armazenamento, de modo a evitar contaminação microbiana com conseqüente perda das suas propriedades químicas, diminuindo com isso os riscos a pacientes, ou consumidores desses produtos (SOUZA; MACIEL, 2010).

2.6 Calêndula (*Calendula officinalis* L.)

2.6.1 Botânica

A calêndula (*Calendula officinalis* L.) pertence à família Asteraceae, uma planta ornamental e medicinal que produz grande número de inflorescências coloridas e brilhantes por um longo período, também conhecida popularmente como malmequer, maravilha, malmequer-dos-jardins e margarida-dourada. Planta herbácea, originária da Europa, possui cerca de 30 a 60 cm de altura, com folhas simples, alternadas, pouco espessas, oblongas, inteira ou minúscula, remotamente denticulata, capítulos solitários, caule robusto, vistoso 3,75-5 cm de diâmetro, raios plano, estendida amarelo-branca a laranja, FIG 2 (VALDÉZ; GARCÍA, 1999). As partes usadas como terapêuticas são as folhas ou as inflorescências (capítulos florais), que apresentam coloração amarelada, alaranjada, esverdeadas ou amarelas com o centro avermelhado (BARBOZA *et al.*, 2009).



FIGURA 2 – Inflorescência de calêndula (*Calendula officinalis* L.)
Fonte – Arquivo pessoal da autora.

O estágio inicial da planta é composto de uma roseta basal de folhas, seguida de caules anguloso pubescentes, que se desenvolvem, frequentemente, em ramificação desde a base. As folhas são do tipo oblongo lanceolado ou espatulado. As hastes são em capítulos florais, possuem intervalos de diâmetro de 3 a 6 cm e consistem de flores liguladas marginais e tubulares no centro. Sua propagação é por sementes, cuja germinação chega a 85% e, se armazenadas corretamente, podem durar por um período de dois anos (LA LUZ *et al.*, 2001)

2.6.2 Atividade Biológica

A composição das inflorescências de *C. officinalis* é muito utilizada na perfumaria. O aroma característico das flores de calêndula é associado à presença dos sesquiterpenos na fração volátil, dentre esses o d-cadineno que confere as notas verdes, doces e refrescantes; e o a-cadinol responsável pelas notas amadeiradas (REZNICEK; ZITTERL-EGLSEER, 2003). Além de sua importância na perfumaria, há interesses também nas indústrias alimentícia, medicinal e no setor ornamental. Seu extrato pode ser utilizado

para colorir manteiga, queijo, sorvete, tinta para cabelos e lã (PARENTE *et al.*, 2002). A oleorresina de calêndula é uma mistura complexa de vários componentes, que tem sido muito utilizada na fitoterapia (BRESCIANI, 2003), sendo a luteína (FIG 3) um dos principais compostos bioativos encontrados em suas flores e utilizados pela indústria farmacêutica. Este carotenóide, além de ser um potente antioxidante que protege os tecidos de danos causados por radicais livres (SILVA, 2003), destaca-se, por exemplo, pelo seu efeito preventivo da aterosclerose, catarata e câncer (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004).

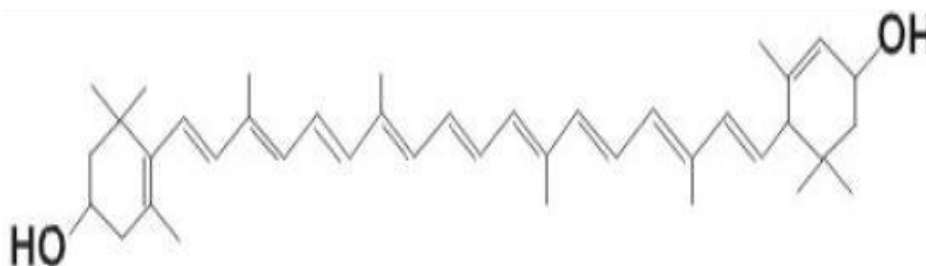


FIGURA 3 – Estrutura química da luteína
Fonte - SIMÕES *et al.*, 2004.

A calêndula confere ação medicinal como cicatrizante, antiinflamatória, laxativa, expectorante e antiespasmódica (DELLA LOGGIA *et al.*, 1994; VENIKAR; JANDGE, 1993). Observou-se em estudos com o extrato de *C. officinalis* a formação de vasos sanguíneos, sendo fortalecedor dos mesmos. Outras atividades farmacológicas têm sido reportadas tais como: imunomodulatória (AMIRGHOFAN *et al.*, 2000) por estimulação na granulocitose, antitumoral (ELIAS *et al.*, 1990); antimutagênica, antiviral (KALVATCHEV *et al.*, 1997; PDR, 2000); e antimicrobiana (GRACZA, 1987; HSIEH *et al.*, 2001). Também indicada no tratamento de acne, eczemas, abscessos, impetigo, prevenção de assaduras de crianças e como protetor contra os raios UVA e UVB. A tintura é empregada no tratamento de

ferimentos na cavidade bucal, hemorragia nas gengivas, regulação do ciclo menstrual, controle de verrugas e do câncer de pele (BERTONI *et al.*, 1998; FONT QUER, 1993; SINGEDAR *et al.*, 1991; TESKE; TRENTINE, 1995). Além de atividade como moluscicida (HELALY *et al.*, 1999) e o óleo essencial, é considerada nematocida (PEREZ *et al.*, 2003).

Pesquisas correlacionam a atividade biológica da calêndula com sua estrutura química, ou seja, saponinas triterpênicas (ALONSO, 1998); flavonoides (PIETTA *et al.*, 1992, 1994); hidroxycumarinas (PDR, 2000); carotenoides (STEVENSON, 1961; ALONSO, 1998); triterpenos pentacíclicos trihidroxil alcoois (WILKOMIRSKI, 1985); taninos; poliacetilenos; esteróis; sesquiterpenos (PDR, 2000); e um óleo volátil (0,1-0,2%) muito abundante em sesquiterpenos hidrocarbonetos e álcoois (CHALCHAT *et al.*, 1991; PDR, 2000; RADULESCU *et al.*, 2000; CRABAS *et al.*, 2003).

2.6.3 Cultivo

É uma planta anual que se desenvolve bem em solos férteis, úmidos e permeáveis, ricos em matéria orgânica, (LA LUZ *et al.*, 2001), mais produtivas, resistentes a pragas e doenças e com maiores teores de fármacos. É muito sensível à falta de água nos períodos de estiagem, o que acarreta o comprometimento da sua produtividade (SILVA JÚNIOR, 1997), daí a necessidade de sistemas de irrigação na área de plantio. A calêndula se desenvolve melhor e é mais produtiva quando cultivada no inverno (MONTANARI JÚNIOR, 2000). Esta espécie, originária da Europa, desenvolve-se em solos bem drenados e argilosos, e em clima temperado (BARKLEY, 2009), sendo o Sul do Brasil um território com potencial a ser explorado para o seu cultivo. Moreira *et al.* (2005) observaram que a adição ao solo de nitrogênio e de fósforo, na forma de ureia e de superfosfato triplo, possibilitou a obtenção de plantas mais altas. Os rendimentos de massa seca da parte aérea e dos capítulos florais ocorrem, no geral, sob a dose de 292 mg vaso⁻¹ de P₂O₅. Na presença das doses mais elevadas de N, Vieira *et al.* (1999) observaram que a altura média final das plantas de calêndula variaram de 29,9 a 39,9 cm, quando cultivadas, respectivamente com 50 kg

ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples e 7 t ha⁻¹ de cama de frango + 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅.

Gazim *et al.* (2007), analisando o cultivo de *Calendula officinalis* na região Noroeste do Paraná, onde foi aclimatada, verificaram semelhança entre a composição química da fração volátil com as produzidas em seu hábitat natural, quando comparada com dados da literatura. Os autores concluíram que a planta em condições ideais de plantio, de coleta, de secagem e extração, pode ser cultivada no Brasil. O rendimento de biomassa de *Calendula officinalis* é relatado em alguns trabalhos realizados pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em Dourados/MS, onde diferentes tipos de adubação, diásporos, colorações de capítulos florais, densidades e arranjos de plantas são avaliados. A produção variou entre 112,16 kg ha⁻¹ a 4532,38 kg ha⁻¹ de matéria seca de capítulos florais de calêndula (BARBOZA *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2007, VIEIRA *et al.*, 2006; VIEIRA *et al.*, 1999). Em Montes Claros - MG, algumas pesquisas realizadas pelo Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais mostram a viabilidade da produção da espécie na região. Araújo *et al.* (2009), pesquisando o uso da adubação orgânica e cobertura morta na cultura da calêndula, observaram maior biomassa e flavonoides totais com o aumento das doses de composto orgânico. Nesse estudo a matéria fresca de capítulos chegou a 1,49 t ha⁻¹, obtida na dose correspondente a 67 t ha⁻¹ de composto, e para flavonoides totais, a ausência de cobertura favoreceu o maior teor, que foi de 0,58%, obtido na dose correspondente a 59 t ha⁻¹ de composto orgânico. Valadares *et al.* (2010) avaliaram o efeito de níveis de adubação orgânica na produção de calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada sobre cobertura viva de grama batatais e verificaram produção de capítulos secos de 30,4 kg ha⁻¹ na dose de 9 kg dm⁻³ com esterco bovino curtido. Não há relatos na literatura da produção de calêndula em diferentes sistemas irrigados, portanto existe a necessidade de pesquisas que possam servir de subsídio para estudos e visem à produção de biomassa e metabólitos secundários em regiões áridas e semiáridas.

2.7 Objetivo Geral

Avaliar a produtividade, o teor e o rendimento de flavonoides e a qualidade microbiológica de calêndula (*Calendula officinalis* L.) em dois sistemas de irrigação (gotejamento e microaspersão) e três coberturas de solo (sem cobertura, palha e lona plástica) em sistema orgânico na cidade de Montes Claros, região Norte de Minas Gerais.

CAPÍTULO 2. PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE FLAVONOIDES DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) CULTIVADA EM DOIS SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO

RESUMO

A calêndula é uma espécie medicinal que possui muitas atividades farmacológicas atribuídas, com potencial econômico para a agricultura familiar. Objetivou-se com este estudo avaliar a produção de biomassa de capítulos florais, o teor e o rendimento de flavonoides de *Calendula officinalis* L. cultivada em sistema orgânico, submetidas a três tipos de coberturas e dois sistemas de irrigação, Montes Claros, Minas Gerais. O experimento foi conduzido na área experimental do Horto Medicinal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros – MG, utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados, utilizando esquema em faixas (dois sistemas de irrigação: microaspersão e gotejamento x três coberturas do solo: testemunha, cobertura morta vegetal e cobertura plástica). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. A produção de biomassa fresca dos capítulos florais foi maior nos tratamentos sem cobertura e com palha, com produtividade de 6,48 t ha⁻¹ e 5,42 t ha⁻¹, respectivamente. Para biomassa seca, observou-se maior produtividade também nos tratamentos sem cobertura e com palha, sendo 2,49 t ha⁻¹ e 1,57 t ha⁻¹. Não houve diferença significativa para a altura da planta, o diâmetro do caule e o número de folhas. O teor e o rendimento de flavonoides variaram significativamente, com maior rendimento de flavonoides (0,256 g por planta) no tratamento com cobertura de lona plástica nos dois sistemas de irrigação.

Palavras-chave: Produção. Plantas medicinais. Cultivo orgânico. Qualidade química.

CHAPTER 2 - BIOMASS PRODUCTION AND LEVEL FLAVONOID LEVEL OF CALENDULA (*Calendula officinalis* L.) CULTIVATED UNDER TWO IRRIGATION SYSTEMS AND SOIL COVERAGE

ABSTRACT

Calendula is a medicinal species that has many pharmacological activities attributed to the economic potential for subsistence farmer. This study aimed to evaluate the production of biomass of flower capitula, level and yield of flavonoids of *Calendula officinalis* L. submitted to three types of coverage and two irrigation systems in the conditions of the North of Minas Gerais. The experiment was carried out at experimental area of the Medicinal Garden of the Institute of Agricultural Sciences of the Federal University of Minas Gerais, Montes Claros – MG, using the experimental design in randomized blocks, in a factorial 2x3 with four repetitions, arranged in strips (two irrigation systems: micro sprinkling and drip x three soil covers: control treatment, mulching and plastic cover). The results were submitted to analysis of variance and the average result compared to the Tukey test to 5% of probability. The production of fresh biomass of the capitula was greater in the treatments without coverage and with husk, with productivity of 6.48 t ha⁻¹ and 542 t ha⁻¹, respectively. Concerning to dry biomass, it was observed larger productivity also in the treatments without covers and with husk, being 2.49 t ha⁻¹ and 1.57 t ha⁻¹. There was no significant difference in plant height, stem diameter and number of leaves. The level and yield of flavonoids varied significantly, with larger yield of flavonoids (0.256 per plant) in the treatment with plastic sheet cover in both irrigation systems

Keywords: Production, medicinal plants, organic cultivation, chemical quality.

1 INTRODUÇÃO

A calêndula (*Calendula officinalis* L.) é uma planta herbácea, que produz capítulos florais coloridos e brilhantes (LORENZI; MATOS, 2002). O uso medicinal dessa planta remonta à antiguidade (ALONSO, 1998). Muitas propriedades farmacológicas têm sido atribuídas à calêndula, dentre elas: coléretica, anti-inflamatória, analgésica, antitumoral, bactericida, diurética, cicatrizante, sedativa e imunomoduladora (BLUMENTHAL; BUSSE, 1998; FRANCO, 1996; BROWN; DATTNER, 1998; RAMOS *et al.*, 1998, ZITTERLEGGLESSER *et al.*, 1997). Os capítulos florais de calêndula têm grande importância na medicina popular, sendo utilizada para o tratamento de condições inflamatórias de órgãos internos como úlcera gástrica, dismenorréia, em infecções urinárias, e inflamações na mucosa oral e faríngea (YOSHIKAWA *et al.*, 2001). Algumas pesquisas correlacionam a atividade biológica da calêndula com sua composição química, ou seja, saponinas triterpênicas, flavonoides, hidroxycumarinas, carotenoides, triterpenos pentacíclicos tri-hidroxiálcoois taninos, poliacetilenos, esteróis, sesquiterpenos e óleo volátil (WILKOMIRSKI, 1985; ALONSO, 1998; PIETTA *et al.*, 1994; PDR, 2000). No Brasil o uso da calêndula já está regulamentado pela RE nº 89 de 16 de março de 2004 da ANVISA como anti-inflamatório e cicatrizante de uso tópico em doses diárias de 8,8 a 17,6 mg de flavonoides (BRASIL, 2004).

Os mercados interno e externo de fitoterápicos estão em crescimento, em torno de 15% ao ano (RODRIGUES *et al.*, 2008), demonstrando a necessidade de organização do setor produtivo, principalmente da Agricultura Familiar, que poderá criar novas possibilidades de geração de renda dentro da unidade produtiva agropecuária. Todavia, o conhecimento das exigências nutricionais e aspectos relacionados à produção de matéria-prima em quantidade e qualidade devem ser mais bem estudados, estabelecendo uma base de atuação nacional forte, alicerçada em pesquisas científicas que facilitarão a posterior busca de mercados internacionais (ARAÚJO *et al.*, 2009). A calêndula é uma planta muito sensível à falta de água nos períodos de estiagem, o que acarreta um comprometimento da sua produtividade

(SILVA JÚNIOR, 1997) e exige sistemas de irrigação e cobertura na área de plantio, especialmente em regiões semiáridas. Assim, o manejo da irrigação é um fator indispensável para o sucesso na produção. Além da irrigação, o uso de cobertura morta protege o sistema poroso do solo, auxiliando na infiltração de água, aeração e manutenção da temperatura do solo, também reduz a quantidade de plantas invasoras e ameniza o impacto das gotas de chuva, evitando a exposição do solo à radiação solar (PRIMAVESI, 1988; RADAIK *et al.*, 1998; MARTINS *et al.*, 1994). Nessa perspectiva, o objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento e a produção de biomassa de *Calendula officinalis* L. submetida a três tipos de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cultivo

O experimento foi conduzido nos meses de julho a outubro de 2010, na área experimental do Horto Medicinal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Regional de Montes Claros (ICA/UFMG). Localizado nas coordenadas geográficas: latitude 16°40'50.87"S e longitude 43°50'22.52"W, na altitude de 630 m. O clima da cidade de Montes Claros, segundo a classificação de Köppen, é Aw tropical de savana, com inverno seco e verão chuvoso (INMET, 2009). Os dados climatológicos durante a condução do estudo foram fornecidos pelo Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG). As médias dos dados climatológicos e pluviométricos estão dispostas na TAB. 1.

TABELA 1

Dados climatológicos durante o período experimental, julho a outubro de 2010 – Montes Claros – MG - 2011.

Meses	T. méd. (°C)	T. min. (°C)	T. máx. (°C)	U.R (%)	Precip. Méd. (mm/mês)
Julho	19,53	11,4	29,7	66,81	0,032
Agosto	28,5	12,8	34,8	59,25	0,00
Setembro	27,38	19	31,20	50,40	0,22
Outubro	22,32	12,5	30,7	47,33	2,76

Fonte: http://www.ica.ufmg.br/gemisa/index.php?option=com_content&view=article&id=22&Itemid=57. Data de acesso: 15 out. 2011.

As mudas foram produzidas em bandejas de isopor com 128 células, utilizando o substrato Bioplant[®]. As sementes de calêndula, utilizadas na produção de mudas, foram da marca Top Seed[®]. As bandejas com as mudas foram mantidas em casa de vegetação por um mês, em seguida transplantadas para a área do Horto Medicinal do ICA/UFMG. A amostra de solo foi coletada na camada superficial (0-20 cm), e levada para o laboratório de solos do ICA/UFMG, sendo classificado conforme Embrapa (1997) como argiloso, cujas características químicas e físicas foram: pH em água = 7,7; K = 10 mmolc dm⁻³; Ca = 8,9 mmolc dm⁻³, P Mehlich = 80,1 mg kg⁻¹, P remanescente = 35 ml L⁻¹, K = 679 mg kg⁻¹, Mg = 2,6 mmolc dm⁻³; Al = 0 mmolc dm⁻³; SB = 13,2 mmolc dm⁻³; T = 14 mmolc dm⁻³; V = 95%; MOS = 8,61 g kg⁻¹; areia = 67,5 g kg⁻¹; silte = 16 g kg⁻¹; argila = 462 g kg⁻¹.

Inicialmente realizaram-se na área gradagens, análise de solo e adubação com 15 kg m⁻² de composto orgânico obtido a partir de resíduos vegetais e esterco bovino. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições, dispostos em faixas. Em seguida, foram erguidos os canteiros e instalados nas faixas os tratamentos, que foram constituídos por dois sistemas de irrigação: microaspersão e gotejamento. Ao longo das faixas foram alocadas, aleatoriamente, as coberturas do solo: testemunha (sem cobertura), cobertura morta vegetal (utilizando palha de grama batatais) e cobertura plástica com superfície branca perfurado na área das covas (FIG 1). Em cada

parcela experimental de 1,50x1,0 m², foram cultivadas as plantas no espaçamento de 25 cm entre plantas e linhas. Utilizaram-se quatro repetições, sendo as parcelas constituídas por vinte e quatro plantas, desconsiderou-se a bordadura, avaliando-se apenas as oito plantas centrais, considerando a parcela útil de 0,5 m² (FIG 2).

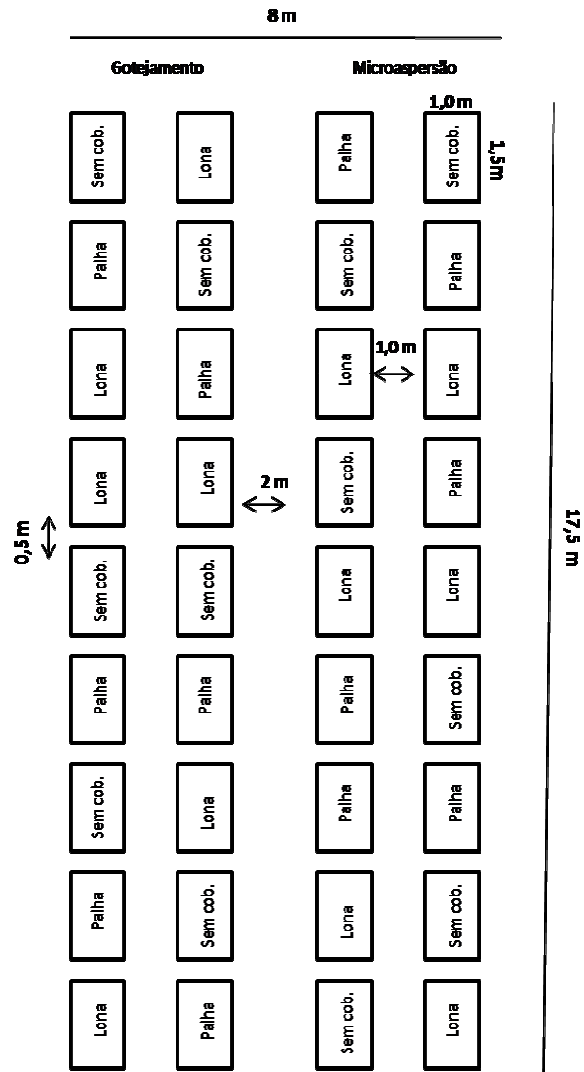


FIGURA 1 - Croqui da área experimental com calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas mortas, em Montes Claros – MG

Fonte: Elaborado pela autora.

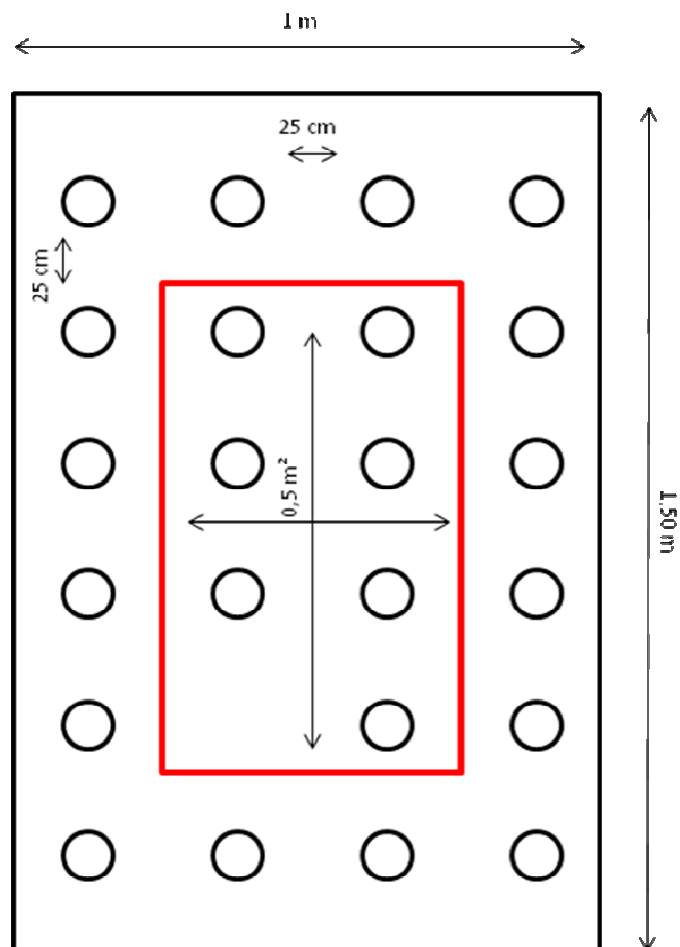


FIGURA 2 – Croqui da disposição das plantas na parcela útil do experimento com calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas mortas, em Montes Claros – MG

Fonte: Elaborado pela autora.

O sistema de irrigação foi constituído de: motor com potência de 1,5 CV-HPO, vazão média de 2 a 10 m³ h⁻¹, e altura manométrica de 33-25 mca, um filtro Spin (Arkal), linhas de microaspersores (vazão de até 130 l.h⁻¹), linhas de gotejadores (vazão de 4 l.h⁻¹). O consumo de água foi registrado em hidrômetro instalado no início dos dois sistemas de irrigação (gotejamento e microaspersão). Nas primeiras três semanas após o plantio, as irrigações

foram diárias (fase de pegamento), já que as plantas ainda não tinham o seu sistema radicular desenvolvido. Em seguida, a água foi aplicada sempre que houve necessidade, gastando no total para o cultivo 116.102 l para microaspersão e 116.206 l para o gotejamento. No controle das plantas espontâneas, foram realizadas capinas manuais sempre que necessário.

A colheita dos capítulos florais iniciou-se no 35º dia de cultivo e terminou no mês de outubro de 2010, com intervalo de coleta de 7 dias, logo após a abertura das inflorescências, com tempo seco, no período da manhã. Os capítulos colhidos tinham a massa fresca determinada em balança analítica, em seguida eram acondicionados em estufa de circulação forçada, a 40 °C, até peso constante. Neste estudo a produção de massas seca e fresca dos capítulos florais foi transformada em t ha⁻¹. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de médias, em esquema fatorial disposto em faixas 2x3 (dois sistemas de irrigação e três coberturas, incluindo a testemunha), utilizando o software SAEG (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

2.2 Análise de flavonoides totais

As inflorescências de calêndula foram coletadas em outubro/2010. A amostragem constituiu-se das oito plantas centrais, resultando em 24 amostras. A dosagem de flavonoides foi adaptada de Santos e Blatt (1998), em que se utilizou rutina como padrão, em solução de cloreto de alumínio. As inflorescências foram secas a 40 °C em estufa de circulação forçada, até peso constante, em seguida foram moídas em moinho de facas e congeladas até o momento da análise. Foram utilizadas amostras com 0,8 g de inflorescências, sendo a extração com 50 ml de metanol 70% (MeOH), seguido de aquecimento por 30 minutos. O extrato foi filtrado em papel de filtro analítico e o volume completado para 100 ml. Uma alíquota de 15 ml foi colocada em balão volumétrico acrescida de 1 ml de solução de cloreto de alumínio a 5%, sendo o volume completado para 50 ml. Após repouso de 30 minutos, fez-se leitura a 425 nm em espectrofotômetro. A análise foi feita em triplicata. Os dados de absorbância das amostras foram comparados com

uma curva padrão construída a partir de soluções com concentrações crescentes de rutina. A solução padrão de rutina foi preparada com MeOH 70% numa concentração de $150 \mu\text{g ml}^{-1}$, e foram feitas cinco diluições com intervalos de $25 \mu\text{g ml}^{-1}$ ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$, $75 \mu\text{g ml}^{-1}$, $100 \mu\text{g ml}^{-1}$, $125 \mu\text{g ml}^{-1}$, $150 \mu\text{g ml}^{-1}$) para a confecção da curva-padrão, acrescidas de 1 ml de cloreto de alumínio e completadas para 50 ml com MeOH 70%. O teor de flavonoides foi calculado a partir da curva de calibração e da absorbância observada, sendo este resultado multiplicado pela massa da matéria seca das inflorescências, para determinar o rendimento de flavonoides por planta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura, o diâmetro do caule e o número de folhas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, conforme análise de variância (TAB. 2). O maior diâmetro do caule foi de 23,75 mm e o número de folhas variou entre 772 e 847. A altura média aos 120 dias após o transplântio foi de 45,4 cm. Resultados apresentados por Vieira *et al.* (1999) indicaram alturas médias de 29,9 a 39,9 em plantas de calêndula submetidas à adubação com fósforo e cama de aviário. Moreira (2002) observou uma variação de 28,82 e 39,24 em plantas submetidas a cinco doses de nitrogênio e fósforo. Sigedar *et al.* (1991) citado por Martins *et al.* (1994) citam que plantas de calêndula podem alcançar até 45 cm de altura, corroborando os resultados observados neste estudo.

TABELA 2

Resumo da análise de variância das características número de folhas, altura da planta (AL), diâmetro do caule (DC), massa fresca de capítulos florais (MF), massa seca dos capítulos florais (MS), teor de flavonoides (T) e rendimento de flavonoides (REND) em calêndula (*Calendula officinalis* L) cultivada em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação, Montes Claros – MG - 2011

QUADRADOS MÉDIOS								
FV	GL	NF	AL	DC	MF	MS	T	REND
Bloco	3	454,5	10,9	0,617	1001,2	1025,07	0,1923266E-03	3512,9
Irrigação	1	4648,16	60,5	100,12	44100,3	4546,0	0,1355606E-04	5698,9
Res (a)		0,172	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cobertura	2	5806,5	44,9	9,19	21180,4*	1025,0*	0,7060301E-02*	14608,6
Res (b)		2249,8	22,47	11,44	0,00	0,00	0,00	0,00
Irr x Cob		0,17	0,12	0,00	0,036	0,20	0,1923266E-03	5858,4
Resíduo	16	2852,5	26,91	2,96	11480,0	4227,3	0,1082746E-03	1427,0
Total	23	15,93	11,73	8,34	18,44	27,63	6,03	6,37

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: * significativo pelo teste de F a 5% de probabilidade.

As produções de biomassa fresca e seca de capítulos florais de calêndula foram influenciadas significativamente pelos tratamentos. Observou-se maior produção de biomassa fresca (TAB 3) e seca (TAB 4) no sistema de irrigação por microaspersão, nos tratamentos sem cobertura e cobertura vegetal (palha).

TABELA 3

Produtividade de capítulos florais frescos ($t\ ha^{-1}$) de calêndula (*Calendula officinalis* L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011

IRRIGAÇÃO	COBERTURAS		
	Sem cobertura	Palha	Lona
Microaspersão	6,48 Aa	5,42 Aa	4,85 Ab
Gotejamento	4,15 Ba	4,06 Ba	4,16 Ba
CV (%)	18,44		

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: * As médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4

Produtividade de capítulos florais secos ($t\ ha^{-1}$) de calêndula (*Calendula officinalis* L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011.

IRRIGAÇÃO	COBERTURAS		
	Sem cobertura	Palha	Lona
Microaspersão	2,49 Aa	1,57 Aa	0,84 Ab
Gotejamento	0,45 Ba	0,33 Ba	0,21 Ba
CV (%)	27,63		

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: * As médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Dentre as vantagens da irrigação por microaspersão, Scalopi (1986) cita-se a possibilidade de resfriamento das plantas, contribuindo no controle da temperatura do ar e do solo. Ainda que não tenha sido monitorada a temperatura e a umidade na superfície do solo neste experimento, é bastante provável que os melhores resultados atingidos nos tratamentos sob irrigação por microaspersão tenham ocorrido em decorrência dos efeitos benéficos da irrigação sobre a temperatura do ar e do solo, o que pode viabilizar o cultivo quando a temperatura do ar é elevada, visto que, originalmente, a calêndula é uma cultura típica de clima ameno.

Quando se relaciona o consumo de água, nos dois sistemas de irrigação, com a produção de capítulos florais, verifica-se que a irrigação por microaspersão, com ou sem cobertura morta, foi mais satisfatória do que o

gotejamento. O consumo de água por quilograma de massa seca de inflorescências está apresentado no GRAF. 1.

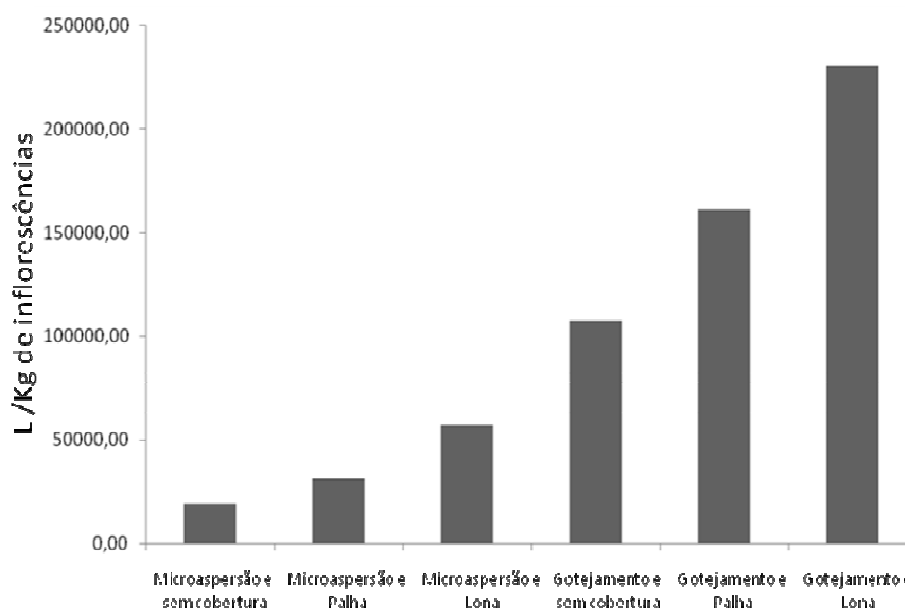


GRÁFICO 1 - Litros de água por kg de inflorescências secas de (*Calendula officinalis* L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011.

Fonte: Elaborado pela autora.

Segundo Christofidis (2002), o uso dos métodos de irrigação localizada são mais propícios para culturas hortícolas, que são de maior rentabilidade e condizentes com os custos dos sistemas. Para o autor, o sistema de irrigação por gotejamento é o de maior eficiência (acima de 90%), uma vez que as perdas de água por evaporação são as menores possíveis, pela própria posição do emissor no solo. Na irrigação localizada, a água é aplicada diretamente sobre o solo, umedecendo um volume restrito do sistema radicular da cultura. Caracteriza-se pela aplicação da água em pequena intensidade, não molhando a totalidade da área irrigada. Isso faz com que a evaporação da água, diretamente da superfície do solo, seja minimizada. A ir-

rigação localizada caracteriza-se, também, pela alta frequência, fazendo com que o solo mantenha-se sempre próximo da capacidade de campo (REIS *et al.* 2005). De acordo com Silva e Silva (2005), as perdas de água no sistema por microaspersão são, normalmente, maior do que na irrigação por gotejamento. Isso ocorre devido à maior superfície molhada de solo e porque, na microaspersão, a água é lançada ao ar. Mesmo operando próximo à superfície do solo, os microaspersores têm sua uniformidade afetada significativamente pelo vento, resultando em arraste das gotas numa determinada direção.

A eficiência de irrigação é definida pela relação entre a quantidade de água incorporada ao solo, até a profundidade efetiva do sistema radicular da cultura e a quantidade de água aplicada. Souza (2001) afirma que a eficiência é um parâmetro muito usado no dimensionamento e manejo de sistemas de irrigação.

Observa-se que o tratamento cobertura com palha não diferiu estatisticamente do testemunha, sendo que este foi numericamente superior (TAB. 3 e 4). Sabe-se que o balanço entre mineralização e imobilização do N do solo pode ser influenciado pelos fatores ambientais como temperatura e umidade do solo; fatores físicos do solo como textura; fatores químicos como o pH; parâmetros da qualidade do resíduo que está sendo decomposto, tal como a relação C/N, C/P, C/S e o teor de frações facilmente decomponíveis e recalcitrantes; o tipo de decompositores associados; a atividade e tamanho da biomassa microbiana e a disponibilidade de N inorgânico (MARY *et al.*, 1996; ANDERSEN, 1999; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Portanto, a distribuição de cobertura morta pode ter alterado o balanço de N, reduzindo sua disponibilidade neste primeiro cultivo de calêndula.

Corroborando os dados deste trabalho, Borella *et al.* (2011), estudando a utilização de cobertura e adubação em calêndula, observaram maior produção de biomassa seca de inflorescências no tratamento testemunha (sem cobertura), com produção máxima de 0,23 t ha⁻¹. Munaurin *et al.* (2010), em pesquisa com bardana (*Arctium lappa* L., Asteraceae), concluíram que a cobertura do solo com cama de frango de corte semidecomposta não

influenciou significativamente a produtividade, em comparação com as plantas sem cobertura de solo.

A utilização da cobertura com lona no cultivo pode ter criado um ambiente excessivamente quente e úmido para as plantas. O excesso de umidade prejudica o crescimento radicular por falta de arejamento, promovendo a lixiviação de nutrientes e favorecendo a transformação de amônia em nitrito, que é fitotóxico (EMBRAPA, 2003). Em estudo com *Melissa officinalis*, Biasi *et al.* (2009) observaram que a utilização de lona plástica proporcionou maior mortalidade das plantas.

Foram observadas diferenças significativas para os teores de flavonoides entre os tratamentos (TAB. 2). O maior teor foi observado no tratamento com cobertura de lona plástica, nos dois sistemas de irrigação (TAB. 5). Borella *et al.* (2011) observaram teores máximos de 0,79% de flavonoides em calêndula, sendo que a utilização de cobertura morta não influenciou nos resultados. No trabalho de Araújo *et al.* (2009), os capítulos florais de calêndula coletados até o 45º dia de cultivo apresentaram o maior teor de flavonoides no tratamento sem cobertura.

TABELA 5

Teor de flavonoides totais (%) de calêndula (*Calendula officinalis* L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011.

IRRIGAÇÃO	COBERTURAS		
	Sem cobertura	Palha	Lona
Microaspersão	0,142 Ab	0,152 Ab	0,197 Aa
Gotejamento	0,139 Ab	0,158 Ab	0,201 Aa
CV (%)	6,03		

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: * As médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), para o doseamento da calêndula é feita apenas a determinação de flavonoides totais, que deve conter mais de 0,4% de flavonoides totais, calculados como hiperosídeo (C₁₂H₂₀O₁₂), em relação ao material dessecado. Entretanto, Pacheco (2007) afirma que, no mercado brasileiro, a maioria da matéria-prima proveniente de calêndula apresenta teor de flavonoides entre 0,05 e 0,1%. Dessa forma, a matéria-prima obtida neste trabalho pode ser considerada similar ao observado no mercado. Vale ressaltar que os resultados obtidos são de flavonoides totais expressos em rutina, não em hiperosídeo

Para a característica rendimento de flavonóides, observou-se o mesmo comportamento que os teores. O maior rendimento foi observado nas plantas com cobertura de solo de lona plástica, nos dois sistemas de irrigação (TAB. 6).

TABELA 6

Rendimento (g) de flavonoides por planta de calêndula (*Calendula officinalis* L.), em três sistemas de cobertura do solo e dois sistemas de irrigação em Montes Claros – MG - 2011.

IRRIGAÇÃO	COBERTURAS		
	Sem cobertura	Palha	Lona
Microaspersão	0,179 Ab	0,191 Ab	0,256 Aa
Gotejamento	0,173 Ab	0,198 Ab	0,250 Aa
CV (%)	6,37		

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: * As médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

O fator luz solar pode ter influenciado o maior teor e rendimento de no cultivo de calêndula, pois houve reflexão da luz solar nas plantas por meio da lona de superfície branca. Alguns pesquisadores relatam que a classe dos flavonoides age na proteção das células contra o excesso de radiação UV-B (280-320 nm), e que o aumento da exposição de plantas à luz UV-B resulta na maior síntese de flavonoides (FERREIRA *et al.*, 2008; HORNER, 1990 citado por GOBBO-NETO: LOPES, 2007). Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonoides e fenilpropanoides correlatos, pela proteção contra a fotodestruição proporcionada por estes metabólitos ao absorver e dissipar a energia solar, dificultando, assim, a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B (WATERMAN; MOLE, 1994 citado por GOBBO-NETO: LOPES, 2007). O aumento na produção de tais metabólitos “protetores solares” é controlado por enzimas da rota biossintética dos fenilpropanoides, as quais podem ter sua expressão gênica induzida pela luz (CHAPPELL; HAHLBROCK, 1984 citado por GOBBO-NETO: LOPES, 2007).

Portanto, é evidente que a variação dos constituintes químicos em relação à produtividade depende de vários fatores ambientais e do sistema de manejo. Ainda são necessários estudos sobre o uso eficiente da água na cultura de calêndula, visando à disseminação da espécie e sua sustentabilidade, aliando a produção com a otimização do teor de princípio ativo, o que possibilita a adequação da espécie às condições climáticas do Norte de Minas Gerais.

4 CONCLUSÃO

O crescimento da calêndula não é afetado pelo sistema de irrigação ou cobertura do solo. A maior produtividade de biomassa é obtida no sistema de irrigação por microaspersão sem cobertura morta. A cobertura com lona plástica favorece o rendimento de flavonoides totais em calêndula. A microaspersão é mais eficiente que o gotejamento em relação ao consumo de água por massa de inflorescência produzida.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CALÊNDULA (*Calendula officinalis* L.) SUBMETIDA A DOIS SISTEMAS DE IRRIGAÇÃO E TRÊS COBERTURAS DE SOLO

RESUMO

A calêndula é uma espécie medicinal com atividades farmacológicas reconhecidas e de importância econômica para a agricultura familiar. Objetivou-se avaliar neste estudo a qualidade microbiológica de *Calendula officinalis* L. submetida a três tipos de coberturas e dois sistemas de irrigação em sistema agroecológico em Montes Claros - MG. Foram coletadas 24 amostras de calêndula obtidas do plantio conduzido na área experimental do Horto Medicinal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros – MG. As análises foram realizadas no mês de outubro de 2010. Os microrganismos pesquisados foram *Salmonella* spp., bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2x3 com quatro repetições, dispostos em faixas (dois sistemas de irrigação: microaspersão e gotejamento x três coberturas do solo: testemunha, cobertura morta vegetal e cobertura plástica). Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Na análise microbiológica das amostras foram observados níveis de contaminação acima dos limites tolerados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, nos dois sistemas de irrigação para o cultivo sem cobertura de solo. Houve presença de *Salmonella* sp. no cultivo submetido ao sistema de irrigação por microaspersão e sem cobertura do solo. Não foram detectados coliformes termotolerantes nas amostras. A contagem de bolores e leveduras estava dentro dos padrões observados em outros estudos. Portanto, independente da irrigação, o uso de cobertura proporcionou inflorescências com melhor qualidade sanitária, contrastando com os tratamentos-testemunha, afetado pela presença de *Salmonella* spp, e contagem elevada de coliformes totais.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Contaminação microbiológica. Agroecologia.

CHAPTER 3 - EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CALENDULA (*Calendula officinalis* L.) SUBMITTED TO TWO IRRIGATION SYSTEMS AND THREE SOIL COVERAGE

ABSTRACT

Calendula is a medicinal species with known pharmacological activities and economical importance for subsistence farm. This work aimed to evaluate the microbiological quality of *Calendula officinalis* L. submitted to three kinds of coverage and two irrigation systems in agro ecological system in Montes Claros-MG. They were gathered 24 samples of calendula obtained from the planting conducted in the experimental area of the Medicinal Garden of the Institute of Agricultural Sciences Federal University of Minas Gerais, Montes Claros – MG. The analyses were carried out in October, 2010. The studied microorganisms were *Salmonella* spp., moulds and yeast, total coliforms and thermotolerant ones. The experimental design was in randomized blocks, in a factorial scheme 2x3 with four repetitions, arranged in strips (two irrigation systems: micro sprinkling and drip x three soil covers: control treatment, mulching and plastic cover). The results were submitted to analysis of variance, and the average results compared to Tukey test to 5% of probability. In the microbiological analysis of the samples, levels of contamination above the tolerated levels by the National Agency of Sanitary Surveillance were observed, in the two systems of irrigation for the cultivation without soil coverage. There was presence of *Salmonella* spp. in the cultivation submitted to irrigation system of micro sprinkling and without soil coverage. They were not detected thermotolerant coliforms in the samples. The count of molds and yeasts was in the patterns observed in other studies. Therefore, regardless of the irrigation, the use of covers provided inflorescences with better sanitary quality, in contrast to the control treatment, affected by the presence of *Salmonella* spp, and high counts of total coliforms.

Keywords: Medicinal plants. Microbiological contamination. Agroecology.

1 INTRODUÇÃO

A calêndula (*Calendula officinalis* L.) pertence à família Asteraceae, produtora de capítulos florais amarelos, alaranjados e brilhantes (VALDÉZ; GARCÍA, 1999). A espécie é utilizada na medicina popular com funções terapêuticas, cujas inflorescências (capítulos florais) conferem ação medicinal como cicatrizante, anti-inflamatória, laxativa, expectorante, antiespasmódica, fortalecedora de vasos sanguíneos, imunomodulatória, antitumoral, antimutagênica, antiviral e antimicrobiana (GRACZA, 1987; HSIEH *et al.*, 2001; KALVATCHEV *et al.*, 1997; PDR, 2000; PDR, 2000; SCHULZ *et al.*, 2002; AMIRGHOFAN *et al.*, 2000; ELIAS *et al.*, 1990).

Avanços observados na medicina moderna estimam que cerca de 30% de todas as drogas avaliadas com fins terapêuticos são derivadas de produtos naturais (CALIXTO, 2005; VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008). Ferreira *et al.* (2008) enfatizam que 5,5% dos medicamentos vendidos em farmácias de todo o Brasil são de produtos contendo exclusivamente princípio ativo de origem vegetal. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que 80% da população depende da medicina tradicional (SPRINGFIELD *et al.*, 2005).

Com o aumento da demanda por medicamentos à base de plantas, a normatização do setor se faz necessária, bem como a constante revisão de normas técnicas para a produção e cultivo, no intuito de garantir a qualidade da matéria-prima dos produtos fitoterápicos (BENT;KO, 2004; CALIXTO, 2000; CHAN, 2003; DE SMET, 2004; ELVIN-LEWIS, 2001; GIVEON *et al.*, 2004; MAHADY, 2001). O Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, que institui a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, tem como algumas de suas diretrizes garantir e promover a segurança, a eficácia, a qualidade no acesso a plantas medicinais e fitoterápicos, e reconhecer as práticas populares de uso e remédios caseiros, incentivando a adoção de boas práticas de cultivo e manipulação (BRASIL, 2006c).

Pesquisas têm apontado a presença de irregularidades que comprometem a eficácia e colocam em risco a saúde humana. A falta de boas práticas na produção e na comercialização de plantas medicinais e fitoterápicos, associada à ausência de farmacovigilância, contribui para o

significativo aumento na comercialização de produtos com contaminação elevada por microrganismos (BARBOSA *et al.*, 2010). A deficiência na fiscalização efetiva de matéria-prima deve-se ao fato de não existir uma legislação específica para a regulamentação exclusiva, no que se refere à produção de espécies vegetais para fins fitoterápicos (ZUIN *et al.*, 2004). A presença elevada de carga microbiana pode estar relacionada com o manejo da cultura, o armazenamento, o transporte, a distribuição para o consumo, o uso de adubo orgânico, a utilização de águas contaminadas para a irrigação e a falta de higiene pessoal no momento da manipulação que representa uma fonte de contaminação e disseminação (PACHECO *et al.*, 2002).

A avaliação da qualidade permite aprovar ou recusar determinado tipo de alimento, comparando as características microbiológicas, sendo esta perspectiva uma tarefa complexa (DAROLT, 2003). Para a comercialização da matéria-prima vegetal é importante o controle microbiológico, devido, principalmente, à eficácia e à aceitabilidade desses produtos, permitindo ao consumidor a segurança na utilização de plantas medicinais (FARIAS, 2001; YAMAMOTO *et al.*, 2004).

O maior risco de contaminação de olerícolas é relatado nas práticas de agricultura envolvendo adubos de origem animal e vegetal (PACHECO *et al.*, 2002). A utilização de adubos naturais, ou parcialmente tratados na agricultura, aumenta o risco de contaminação microbiológica dos vegetais que crescem junto ao solo.

Estudos para avaliar a qualidade microbiológica de plantas medicinais estão sendo recomendados pela Organização Mundial da Saúde, visando analisar os riscos potenciais (BASTOS; MARA, 1995; BLUMENTHAL *et al.*, 1998). De acordo com a Centers for Disease Control (1999) há uma ampla diversidade de microrganismos patogênicos, visto que a bactéria do gênero *Salmonella* possui mais de 2.400 sorotipos. A ação desses depende da precariedade das condições de higiene do meio e do cultivo, o qual implica consequências graves. Estima-se que, anualmente, ocorra 1,5 bilhão de episódios de gastroenterocolite aguda em todo o mundo, dos quais 70% são causados pela ingestão de alimentos contaminados (SATCHER, 2000).

Enfim, é necessário levar em consideração as práticas de produção para a comercialização, e ressaltar a importância da manutenção da vigilância sanitária, visando um manejo adequado que proporcione melhores condições sanitárias das plantas medicinais. Desse modo, objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade microbiológica de *Calendula officinalis* L. submetida a três tipos de coberturas e dois sistemas de irrigação em sistema agroecológico em Montes Claros - MG.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cultivo

O experimento foi conduzido durante os meses de julho a outubro de 2010, na área experimental do Horto Medicinal no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Regional de Montes Claros (ICA/UFMG). Localizado nas coordenadas geográficas: latitude 16°40'50.87"S e longitude 43°50'22.52"W, na altitude de 630 m. O clima da cidade de Montes Claros, segundo a classificação de Köppen, é Aw tropical de savana, com inverno seco e verão chuvoso (INMET, 2010).

As mudas foram produzidas em bandejas de isopor com 128 células, utilizando o substrato Bioplant[®]. As sementes de calêndula utilizadas na produção de mudas foram da marca Top Seed[®]. As bandejas com as mudas foram mantidas em casa de vegetação por um mês e, em seguida, transplantadas para a área do Horto Medicinal do ICA/UFMG. A amostra de solo foi coletada na camada superficial (0-20 cm) e levada ao laboratório de solos do ICA/UFMG, sendo classificado conforme Embrapa (1997) como argiloso, cujas características químicas e físicas foram: pH em água = 7,7; K = 10 mmolc dm⁻³; Ca = 8,9 mmolc dm⁻³, P Mehlich = 80,1 mg kg⁻¹, P remanescente = 35 mg L⁻¹, K = 679 mg kg⁻¹, Mg = 2,6 mmolc dm⁻³; Al = 0 mmolc dm⁻³; SB = 13,2 mmolc dm⁻³; T = 14 mmolc dm⁻³; V = 95%; MOS = 8,61 g kg⁻¹; areia = 67,5 g kg⁻¹; silte = 16 g kg⁻¹; argila = 462 g kg⁻¹.

Inicialmente, realizaram-se na área gradagens, análise de solo e adubação com 15 kg m⁻² de composto orgânico obtido a partir de resíduos

vegetais e esterco bovino. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições, dispostos em faixas. Em seguida, foram erguidos os canteiros e instalados nas faixas os tratamentos, que foram constituídos por dois sistemas de irrigação: microaspersão e gotejamento. Ao longo das faixas foram alocadas, aleatoriamente, as coberturas do solo: testemunha (sem cobertura), cobertura morta vegetal (utilizando palha de grama batatais) e cobertura plástica com superfície branca perfurado na área das covas. Em cada parcela experimental de 1,50 x 1,0m², foram cultivadas as plantas no espaçamento de 25 cm entre plantas e linhas. Utilizaram-se quatro repetições, sendo as parcelas constituídas por vinte e quatro plantas, desconsiderou-se a bordadura, avaliando-se apenas as oito plantas centrais, considerando a parcela útil de 0,5 m².

2.2 Amostras e análise microbiológica de calêndula

As inflorescências de calêndula foram colhidas aleatoriamente no período da manhã, tendo sido observadas a uniformidade, a ausência de injúrias e de doenças. Para a colheita e o armazenamento das inflorescências, foram utilizados sacos plásticos esterilizados de primeiro uso, sem o contato manual, e as amostras imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do ICA/UFMG, Montes Claros, MG. As coletas e análises dos materiais foram realizadas no mês de outubro de 2010. Foram analisadas 24 amostras de inflorescências de calêndula colhidas nos canteiros do experimento. Todas as análises foram feitas em triplicatas. Para a confirmação da fonte de contaminação do cultivo, foram analisadas amostras da água utilizada na irrigação e do solo da área experimental. Avaliaram-se os níveis de contaminação microbiológica pela contagem de coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, e a presença *Salmonella* sp. pelo método descrito pela *American Public Health Association* (APHA, 2001). Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de

probabilidade, e interpretados pela RDC n° 12, de 2 de Janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

2.2.1 Coliformes totais e termotolerantes

Na determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes foi utilizado o método dos tubos múltiplos descrito pela APHA (2001). Em 12,5g da amostra de inflorescência de calêndula adicionaram-se 125 mL de água peptonada a 0,1% (Himedia®) e realizou-se homogeneização, obtendo a diluição 10^{-1} e, a partir desta, efetuaram-se as diluições 10^{-2} e 10^{-3} , adotando os mesmos procedimentos. Estas diluições foram utilizadas para todos os ensaios. Inoculou-se 1 mL de cada diluição em tubos contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (Himedia®), e incubou-se a $35 \pm 0,2$ °C, por 24 a 48 horas. Em seguida, houve inoculação por meio de alçadas do caldo lauril positivo, que é caracterizado pela formação de gás nos tubos de Duhran, e transferido para o Caldo *Escherichia coli* (EC) (Acumedia®) e Caldo Verde Brilhante (Himedia®), com incubação em temperatura seletiva de $45 \pm 0,2$ °C e $35 \pm 0,2$ °C, respectivamente, por 24 horas. O crescimento bacteriano nas diferentes temperaturas e a presença de gás nos tubos de Duhran evidenciaram a fermentação da lactose presente no meio, sendo considerado positivo para coliformes termotolerantes e coliformes totais.

2.2.2 Bolores e leveduras

Para determinar a contaminação por bolores e leveduras, inoculou-se 0,1 mL das diluições selecionadas sobre a superfície seca de ágar batata glicose 2% acidificado a pH 3,5 (Himedia®). Com o auxílio de alça espalhou-se o inóculo, cuidadosamente, por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. As placas foram incubadas, com inversão, a 25 ± 1 °C, por sete dias em estufa. Selecionaram-se as placas que continham entre 10 e 300 colônias. A contagem foi realizada conforme recomendações da técnica e os resultados foram expressos em UFC g^{-1} de acordo com *British Herbal*

Medicine Association (1996). Os gêneros fúngicos presentes nas amostras foram identificados de acordo com a sua morfologia, macroscopicamente e microscopicamente (BARNETT; HUNTER, 1998; ELLIS, 1971) no Laboratório de Fitopatologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros – MG.

2.2.3 *Samonella* sp.

A pesquisa de *Salmonella* sp foi realizada segundo a metodologia preconizada pela *American Public Health Association* (APHA, 2001). Foram coletados nos canteiros do experimento cerca de 100 g da amostra de inflorescências de calêndula e assepticamente pesados, sendo em seguida transferidos 25 g de inflorescências de calêndula, e acrescidos em 225 mL de meio pré-enriquecimento, em caldo lactosado (Acumedia®), procedendo-se então à homogeneização. Esta mistura foi incubada em estufa bacteriológica a 35 °C, por 24 horas. Em seguida, 1 mL do meio pré-enriquecido de cada amostra foi transferido para tubos com 10 mL de caldo Tetrathionato (Acumedia®) e caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) (Acumedia®) e incubados a 35 °C e 42 °C, respectivamente por 24 horas. A partir dos caldos de enriquecimento seletivo, foram realizadas estrias nas placas com ágar Sulfito de Bismuto (BS) (Himedia®), ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD) (Himedia®) e ágar Hektoen (HE) (Himedia®), sendo as mesmas a seguir incubadas em estufa bacteriológica por 24 ± 2 horas, a 35°C. A confirmação preliminar de *Salmonella* sp. foi realizada por meio de transferência das colônias com o auxílio de uma agulha de inoculação, removendo uma porção da massa de células do centro da colônia. Para confirmação das colônias, foi utilizado o meio presuntivo de identificação Rugai e Araújo Modificado por Pessoa e Silva (Meio de IAL), da Mbiolog®, que apresenta as seguintes determinações: teste de TSI, teste de LIA, teste lisina descarboxilase, teste de e Voges-Proskauer, teste de indol, teste de β-galactosidae, e teste de urease. Os resultados foram interpretados segundo a marca do fabricante e comparados com a RDC n° 12, de 2 de Janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises microbiológicas das amostras de calêndula não foi detectada a presença de coliformes termotolerantes (NMP/g). Considerando contaminação por coliformes totais, as plantas cultivadas nos dois sistemas de irrigação e sem cobertura do solo apresentaram contagem numericamente superior aos demais tratamentos. A Resolução nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 02 de janeiro de 2001 não determina limites ou o índice máximo para coliformes totais, porém a presença destes microrganismos pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias e, sendo assim, os tratamentos sem cobertura do cultivo de calêndula encontraram-se impróprios para consumo (TAB. 1).

TABELA 1

Contagem de coliformes totais (NMP/g) de amostras de calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas de solo, em Montes Claros – MG.

IRRIGAÇÃO	COBERTURAS		
	Sem cobertura	Palha	Lona
	Coliformes totais (35 ± 0,2°C) NMP/g	Coliformes totais (35 ± 0,2°C) NMP/g	Coliformes totais (35 ± 0,2°C) NMP/g
Microaspersão	> 2,3 x 10 ³ Bc	1,87 x 10 ² Bb	1,34 x 10 ² Ba
Gotejamento	> 1,1 x 10 ³ Ab	0,038 x 10 ² Aa	0,08 x 10 ² Aa
CV (%)	112,66		

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: * As médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

A pesquisa com os coliformes termotolerantes deve-se à sua presença frequente em alimentos de origem vegetal, pois a maioria deste grupo é proveniente de cultivo em sistema orgânico (LOTTO, 2008). As fezes de animais utilizadas como adubo apresentam bactérias como a *Escherichia coli* e *Salmonella* sp., as quais podem provocar surtos de toxinfecção alimentar quando atingem quantidades elevadas nos alimentos (BUAINAIN; BATALHA, 2007). Alguns pesquisadores associam a presença de coliformes termotolerantes como indicadores de poluição sanitária, mas o nível destes é

igualmente importante quanto à contagem de coliformes totais em alguns casos. Esse último grupo de bactérias também é utilizado para relacionar as condições higiênicas da produção, do processamento e da estocagem (CARDOSO *et al.*, 2001; SIQUEIRA, 1995).

Balioni *et al.* (2003), em Campinas – SP, ao analisar alface produzida em sistema agroecológico, registraram, em 75% das amostras, índice de coliformes acima do estabelecido. Ribeiro *et al.* (2005), ao analisaram 60 amostras de alface cultivada em sistema orgânico, observaram índice de coliformes termotolerantes acima dos limites máximos, atingindo 83,3% das amostras. Cabrini *et al.* (2002) demonstraram que, aproximadamente 98% das amostras analisadas de hortaliças provenientes de sistema orgânicos apresentavam contaminação por coliformes totais, com contagem elevadas. As plantas apresentam uma microbiota natural que provém do ambiente, sendo o nível de contaminação influenciado pela estrutura da planta, as técnicas de cultivo, o transporte e o armazenamento (PACHECO *et al.*, 2002; ROSA; CARVALHO, 2000).

De acordo com Takayanagui *et al.* (2000), em Ribeirão Preto, SP, hortas produtoras de hortaliças apresentaram elevada contagem de coliformes termotolerantes, e a presença de *Salmonella* sp. No ano seguinte, após ter sido regularizada as condições sanitárias desses locais, os pesquisadores analisaram as hortaliças provenientes dessas hortas, as quais eram comercializadas em estabelecimentos fixos e ambulantes. Essas análises demonstraram irregularidades como: a elevada concentração de coliformes termotolerantes, a presença de *Salmonella* spp. e de enteroparasitas. Takayanagui *et al.* (2001) relacionaram essa elevada contaminação ao contato direto da planta com o solo, enfatizando a influência da população microbiana do ambiente. O que provavelmente ocorreu neste estudo, se deve ao fato do cultivo sem cobertura favorecer o contato do solo com as plantas por meio da irrigação ou fatores ambientais, ao passo que, nos demais tratamentos, o uso das coberturas proporcionaram proteção para as plantas cultivadas, evitando assim, uma elevada carga microbiana nas inflorescências de calêndula.

Czech *et al.* (2001) avaliaram a contaminação microbiana em 131 espécies medicinais comercialmente disponíveis na Áustria e Alemanha, e detectaram populações de coliformes superiores a 10^3 UFC/g em todas as amostras. Outros estudos da qualidade microbiológica de drogas vegetais e preparações derivadas, como aqueles realizados por Alexander *et al.* (1997), que avaliaram produtos disponíveis no mercado inglês; por Kneifel e Berger (1994), que avaliaram produtos do mercado austríaco, e por Fischer *et al.* (1993), que avaliaram produtos disponíveis no Brasil. Esses autores observaram contagens superiores a 2×10^3 UFC/g em 52,7%, 94,5% e 70,3% das amostras analisadas, respectivamente, enquanto Santos *et al.* (1995), no Brasil, detectaram populações desta ordem em apenas 33,3% das amostras analisadas. Vale ressaltar que todas as amostras dessas pesquisas foram de plantas comercializadas que possuíam procedência de cultivo orgânico.

Foi observada a presença de *Salmonella* sp. no cultivo de calêndula submetida ao sistema de irrigação por microaspersão e sem cobertura do solo, não atendendo à RDC n° 12, de 2 de Janeiro de 2001 (ANVISA), na qual produtos de origem vegetal devem apresentar ausência de *Salmonella* sp. O gênero *Salmonella* está inserido na família *Enterobacteriaceae*, disseminado no ambiente principalmente pelo manuseio e práticas agrícolas em condições de higiene não satisfatórias e por processos de contaminação cruzada (LEITÃO, 2004). Rodrigues (2007) analisou 30 amostras de alface produzida no Distrito Federal cultivada nos sistemas convencional, orgânico e hidropônico, sendo 10 de cada sistema de cultivo. Todas as amostras apresentaram níveis de coliformes termotolerantes acima do recomendado pela ANVISA, o autor relaciona a presença de *Salmonella* sp. no cultivo orgânico com adubo de origem animal.

A diferença do número de coliformes totais e a presença de *Salmonella* sp., entre o cultivo com a cobertura e sem a cobertura, relaciona-se com a proteção oferecida à planta, isto é, plantas que crescem sem o contato direto com o solo apresentam menor carga microbiana (KNEIFEL *et al.*, 2002). Além das diferentes coberturas, o sistema de irrigação contribuiu para a maior contagem de microrganismos. Na irrigação por microaspersão, a água era fornecida à cultura em forma de chuva, molhando toda a planta,

favorecendo o contato do solo com as inflorescências no cultivo sem cobertura. Na produção de calêndula submetida ao sistema de irrigação por gotejamento, a água era aplicada superficialmente, ocorrendo apenas nas raízes das plantas; desta forma, os capítulos florais não entraram em contato direto com o solo por meio da água, diminuindo numericamente a contaminação.

Os microrganismos patogênicos podem chegar até a planta por inúmeras vias, sempre refletindo as condições de higiene durante a produção (FRANCO; LANDGRAF, 2002; SILVA JUNIOR, 2001). A adoção de boas práticas de manejo melhora a qualidade sanitária dos produtos agrícolas (ALMEIDA *et al*, 2004; MORETTI, 2003). Neste experimento, a contaminação poderia ser resultante da água fornecida por meio da irrigação ou pelo solo. Para verificar a fonte de contaminação, as mesmas análises microbiológicas feitas nas amostras foram realizadas no solo da área experimental e na água, conforme contagens apresentadas na TAB. 2.

TABELA 2

Valores representativos da contagem de microrganismos no solo e na água utilizados no cultivo de calêndula (*Calendula officinalis* L.), Montes Claros – MG - 2011

	MICRORGANISMOS			
	Bolors e Leveduras UFC/g	Coliformes		<i>Salmonella</i> sp.
		Coliformes totais (35 ± 0,2°C) NMP/g	Coliformes termotolerantes (45 ± 0,2°C) NMP/g	
Água	0,003 10 ²	<3,0	<3,0	Ausente
Solo	Inc.	> 2,1 x10 ⁶	> 2,4 x10 ³	Presente

Fonte: Elaborada pela autora.

Neste trabalho, a água apresentou contagens de microrganismos dentro dos níveis da legislação vigente, sendo o solo o principal veículo de contaminação do cultivo da calêndula. Consoante Fayer *et al.* (2000), o maior risco de contaminação de cultivos no meio rural é a água, devido à aproximação das fontes com contaminantes, como pastagens ocupadas por animais, deposição de resíduos orgânicos animais no solo e até mesmo pelo escoamento superficial durante o período de chuva, o qual é responsável

pelo transporte de dejetos indesejáveis para fontes de água utilizadas na irrigação. Do ponto de vista microbiológico, a presença de microrganismos no solo, como a *Salmonella* sp. e os coliformes totais e termotolerantes, fora dos níveis estabelecidos pela ANVISA, está relacionada com o ambiente físico. O solo é uma fonte importante de contaminação dos produtos agrícolas. Esta pode ser decorrente do uso anterior para atividades não agrícolas, tais como a criação de animais, e a existência de águas estagnadas ou a utilização de fertilizantes orgânicos (NEVES, 2004).

A contagem de bolores e leveduras nas amostras de calêndula foi influenciada pelo sistema de irrigação e cobertura do solo. Os valores variaram entre $0,76 \times 10^2$ a $1,95 \times 10^2$ UFC/g (TAB 3). O sistema de irrigação por gotejamento com a cobertura de solo com palha e lona e a microaspersão com cobertura com lona apresentaram menor contagem de microrganismos, comparado aos demais tratamentos.

TABELA 3

Valores representativos da contagem total de bolores e leveduras de amostras de calêndula (*Calendula officinalis*) cultivada em dois sistemas de irrigação e três coberturas de solo, em Montes Claros – MG, pela técnica do UFC/g, Montes Claros – MG – 2011.

IRRIGAÇÃO	COBERTURAS		
	Sem cobertura	Palha	Lona
	Contagem UFC/g	Contagem UFC/g	Contagem UFC/g
Microaspersão	$1,95 \times 10^2$ Bb	$1,26 \times 10^2$ Bb	$0,94 \times 10^2$ Ba
Gotejamento	$1,6 \times 10^2$ Ab	$0,98 \times 10^2$ Aa	$0,76 \times 10^2$ Aa
CV (%)	18,67		

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: * As médias seguidas da mesma letra minúscula, nas linhas, e maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

O maior risco de contaminação de olerícolas é relatado pelo uso de adubos de origem animal e vegetal, utilizados nas práticas da agricultura orgânica. O uso de fertilizantes naturais na agricultura aumenta o risco de contaminação microbiológica (PACHECO *et al.*, 2002). Entretanto, Wanderer e Barros (2007) constataram em estudo com *Melissa officinalis* que a matéria-prima obtida de tratamentos com uso de adubação orgânica e

coberturas possui melhor qualidade microbiológica, pois evita o contato da parte aérea da planta com o solo descoberto, ratificando os resultados observados neste estudo.

Embora não sejam especificados padrões para bolores e leveduras em produtos de origem vegetal na legislação em vigor (BRASIL, 2001), Reis *et al.* (2003) recomendam contagens menores que 10^3 UFC/g para garantir proteção à saúde do consumidor, uma vez que estas, acima de 10^4 UFC/g, podem ser potencialmente perigosas a saúde humana, em virtude da formação de micotoxinas. De acordo com a *World Health Organization* (1998), a contaminação por bolores e leveduras das drogas vegetais processadas deve atender às especificações, e a contagem máxima é de $5,0 \times 10^3$ UFC/g para materiais vegetais processados e destinados ao comércio para o uso na forma de chás e infusões. Portanto, os resultados observados neste estudo, para a contagem de bolores e leveduras, estão dentro dos padrões relatados por pesquisas e recomendações da OMS (1998).

Os gêneros fúngicos identificados no cultivo de calêndula neste estudo foram: *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp., sendo estes considerados os principais fungos toxigênicos em alimentos, capazes de produzir micotoxinas no campo, durante a colheita, o transporte e a armazenagem (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Dados semelhantes a esses foram verificados por Nunes *et al.* (2003), em trabalhos com arroz, e por Costa e Scussel (2002), ao avaliar os grãos de feijão, nos quais observaram *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. como os principais contaminantes.

Verificou-se que os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram detectados com maior frequência em análises de plantas medicinais, em conformidade com os resultados obtidos neste trabalho. Na literatura, alguns autores observaram a presença desses gêneros fúngicos, como Abou-Arab *et al.* (1999), Aziz *et al.* (1998) e El-Kady *et al.* (1992), que avaliaram amostras de drogas vegetais e fitoterápicos disponíveis no Egito; Chourasia (1995), na Índia; Efuntoyé (1996), na Nigéria; Elshafie *et al.* (1999, 2002), no Sultanato de Oman; Garrido *et al.* (1992), na Espanha; Halt (1998), na Croácia; Lutomski e Kedzia (1980), na Polônia; Mandeel (2005) em Bahrain; Martins *et al.* (2001) em Portugal; Rizzo *et al.* (2004), na Argentina, e Santos

et al. (1995), no Brasil. Populações de microrganismos superiores a 10^2 UFC/g foram detectadas em 93,5% das amostras de chás avaliadas por Martins *et al.* (2001), em Portugal, e em 100% das amostras analisadas por El-Kady *et al.* (1992), no Egito, e por Halt (1998), na Croácia. Czech *et al.* (2001), Garrido *et al.* (1992) na Espanha e Lutomski e Kedzia (1980) na Polônia detectaram estas populações fúngicas em 90,3%, 87,5% e 90% das amostras, respectivamente. Rocha *et al.* (2004), analisando a contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* e *Peumus boldus*, comercializadas na cidade de Campinas – SP, verificaram que cerca de 92,5% estavam contaminadas. Essas contaminações fúngicas podem estar direta ou indiretamente relacionadas com as condições climáticas da região, adubação, qualidade da água de irrigação e outros. A contagem elevada de fungos constitui um risco em virtude da possibilidade de esses serem produtores de micotoxinas, como a aflatoxina, substância cancerígena (ARAÚJO; OHARA, 2000). Hitokoto *et al.* (2002) observaram que fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Cladosporium* e *Aureobasidium* spp. encontram-se frequentemente associados às drogas vegetais. Os riscos microbiológicos são mais difíceis de controlar, pois os microrganismos fazem parte do ambiente natural, não se encontram homoganeamente distribuídos nos alimentos e o seu número pode variar ao longo de toda a cadeia de produção (FIRMINO *et al.*, 2005)

Segundo Gelli *et al.* (1979), a estrutura do vegetal também interfere no grau de contaminação microbiológica da cultura. Assim, plantas com folhas múltiplas, com grande área de contato, permitem maior fixação de formas parasitárias. Durante o cultivo, a menor carga microbiana pode estar relacionada à estrutura, cuja parte utilizada na comercialização de calêndula é o capítulo floral, que não entra em contato direto com o solo, sendo a qualidade sanitária das plantas beneficiada com o uso de cobertura, promovendo uma proteção.

Melo *et al.* (2000) afirmam que a contaminação de fitoterápicos pode ocorrer em várias etapas da cadeia de produção, inclusive na manipulação. Estudos realizados por Santos *et al.* (1995); Kneifel *et al.* (2002) e Rocha *et al.* (2004) investigaram e constataram uma considerável contaminação

microbiana em plantas medicinais. Os microrganismos podem acarretar deterioração por ser fonte de enzimas e de patógenos. Ainda não existe um parâmetro estabelecido para o controle microbiológico da matéria-prima destinada para drogas vegetais. Utiliza-se normalmente normas da RDC n° 12, de 2 de Janeiro de 2001, regulamentada pela ANVISA, indicada para avaliação das Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços, da aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC/HACCP) e da qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, incluindo a elucidação de Doença Transmitida por Alimentos (DTA), sendo considerada uma norma para o controle de qualidade microbiológico, como medicamentos não estéreis (BRASIL, 2001).

Ações preventivas têm sido citadas nas pesquisas para diminuir a contaminação microbiana de plantas medicinais, por meio de processos de qualificação de fornecedores de matérias-primas, que incluem procedimentos de boas práticas agrícolas, especialmente relacionadas aos processos de colheita, secagem e armazenamento (DALL'AGNOL, 2001).

Veiga-Junior e Pinto (2005) enfatizam a necessidade de pesquisas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil, como também a fiscalização do comércio por parte dos órgãos competentes. A contaminação por microrganismos pode acarretar deterioração do material por ser uma fonte de enzimas e de patógenos, podendo levar ao desenvolvimento de doenças. São produtos de alto risco, sendo necessário definir medidas adequadas de controle higiênico-sanitário para garantir a qualidade e segurança (KNEIFEL *et al.*, 2002).

O monitoramento constante da qualidade sanitária da matéria-prima é imprescindível para garantir a segurança, reduzindo as perdas econômicas, assim como os riscos à saúde humana. Cada etapa da cadeia de produção, desde o plantio até o consumo final, influencia as características microbiológicas e químicas das plantas medicinais comercializadas (MAISTRO, 2001).

4 CONCLUSÃO

A qualidade sanitária é superior nas plantas de calêndula cultivadas com cobertura de solo nos dois sistemas de irrigação, atendendo aos padrões exigidos pela ANVISA.

O cultivo sem cobertura e submetido ao sistema de irrigação por microaspersão apresentou microrganismos do gênero *Salmonella* e contaminação significativa com coliformes totais, inviabilizando a comercialização da matéria-prima para uso na produção de fitoterápicos.

REFERÊNCIAS

ABIFISA. Associação Brasileira das Empresas do Setor de Fitoterápicos, **Suplemento alimentar e de promoção da saúde**: introdução. 2007. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br>>. Acesso em: 20 jul. 2011.

ALEXANDER, R. G.; WILSON, D. A.; DAVIDSON, A. G. Medicines control agency investigation of the microbial quality of herbal products. **Pharmaceutical Journal**, Verwoodburg, n. 259, p. 259-261, Aug.1997.

ALMEIDA, R. M. A. A.; HUSSAR, G. J.; PERES M. R.; FERRIANI JUNIOR, A. L. Qualidade microbiológica do Córrego “Ribeirão Dos Porcos” no Município de Espírito Santo do Pinhal – SP. **Engenharia Ambiental**, Campo Grande, v. 1, n. 1, p. 51- 56, 2004.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina**: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis Ediciones, 1998. p. 327-330.

ALVES-RODRIGUES, A.; SHAO, A. The science behind lutein. **Toxicology Letters**, Boston, n. 150, p. 57-83, 2004.

AMARAL, F. M. M.; COUTINHO, D. F.; RIBEIRO, M. N. S.; OLIVEIRA, M. A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/ Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 13, n. 1, p.27-30, 2003.

AMIRGHOFRAAN Z; AZADBAKHT M; KARIMI M. H. Evaluation of the immunomodulatory effects of five herbal. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 72, n. 1-2, 167-172, 2000.

ANDERSEN, M. K. **Short term N mineralization-immobilization turnover in soil after incorporation of green manures as a function of plant litter quality and soil temperature**: comparison of analytical models with the numerical model FLUAZ. 1999. 73 f. Dissertation (Master in Microbial Ecology) - University of Aarhus, Denmark, 1999.

ANDRADE, C. L. T. **Seleção do sistema de irrigação**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. 18 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 14). <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS/13774/1/Circ_14.pdf>. Acesso: 5 maio de 2011.

ANDREOTTI, M.; ARALDO, M.; GUIMARÃES, V. F.; FURLANI JUNIOR, E.; BUZETTI, S. Produtividade do milho safrinha e modificações químicas de um latossolo em sistema plantio direto em função de espécies de cobertura após calagem superficial. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 109-115, 2008.

ANTON, R.; BERETZ, A. Flavonoids: antithrombotic agents or nutrients **Bulletin de l'Académie nationale de médecine**, Paris, v. 174, n. 6, p. 709-714, Juin-Juil. 1990.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, DC: APHA, 2002.

ARAÚJO, A. L. A.; OHARA, M. T. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feiras de São Paulo e de infusos derivados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 129-137, 2000.

ARAÚJO, A. A. S.; MERCURI, L. P.; SEIXAS, S. R. S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, J. R. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 270-277, 2006.

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 Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 117-123, 2009.

ARMSTRONG, W. BRÄNDLE, R.; Jackson, M. B. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v. 43, n. 4, p. 307-58, 1994.

AZIZ, A. A.; EDWARDS, C.A.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4'-O-b-glucoside and isorhamnetin-4'-O-b-glucoside by human volunteers after the consumption of onions. *Free Radical Research*, London, n. 29: p. 257-269, 1998.

BALIONI, G. A.; FERNANDES, F. V.; SOARES, M. M. S. R; RIBEIRO, M. C. Avaliação higiênicosanitária de alfaces agro-ecológicas e cultivadas com agrotóxico, comercializadas na região de Campinas – SP. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 112, p. 73-77, 2003.

BARBOSA, C. K. R.; COSTA, J. P. R.; BONFIN, G. F. P.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG. **Revista Biotemas**, Florianópolis v. 23, n. 1, p.77-81, mar. 2010.

BARBOSA, M. C. S.; BELLETTI, K. M. S.; CORRÊA, T. F.; SANTOS, C. A. M. Avaliação da qualidade de folhas de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) comercializadas em Curitiba, PR. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.11, n. 1, p. 1-4, 2001.

BARBOZA, V. C.; VIEIRA, M. C.; HEREDIA ZÁRATE, N. A.; BOTEGA, S. P.; PADILHA, N. S.; PAES, C. L. Produção de biomassa de *Calendula officinalis* L. adubada com fósforo e câmara-de-frango. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 478-483, 2009.

BARKLEY, S. Department of Agriculture, Food and Rural Development. Information, 2009. Alberta, Canadá. Disponível em: [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/crop803?](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/crop803?) Acesso em: 14 ago 2011.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Saint Paul, Minn.: APS, 1998. 218 p.

BARROS, M. F. C.; FONTES, M. P. F.; ALVAREZ V., V. H.; RUIZ, H. A. Aplicação de gesso e calcário na recuperação de solos salino-sódicos do estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, n. 3, p. 320-326, 2005.

BASTOS, R. K. X.; MARA, D. D. The bacterial quality of salad crops drip and furrow irrigated with waste stabilization pond effluent: an evaluation of the WHO guidelines. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 31, n. 12, p. 425-430, 1995.

BELLO, C. M.; MONTANHA, J. A.; SCHENKEL, E. P. Análise das bulas de medicamentos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 75-83, 2002.

BENT, S.; KO, R. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. **American Journal of Medicine**, New York, v. 116, n. 7, p. 478-485, 2004.

BERTONI, B. W.; DAMIÃO FILHO, C. F.; MORO, J. R.; PEREIRA, A. M. S.; FRANÇA, S. C. Estudo da viabilidade dos diásporos de *Calendula officinalis*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15. Águas de Lindóia, SP. **Programas e resumos**. Águas de Lindóia: SBPM, 1998. p. 181, 1998.

BLUMENTHAL, M.; BUSSE, W. R. **The complete German Commission E. Monographs**: therapeutic guide to herbal medicines. Boston: American Botanical Council, 1998. 685 p.

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**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 235-239, 2011.

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

BRANDÃO, M. G. L.; ALVES, R. M. S.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, P.; VIEIRA, M. T.; MOREIRA-CAMPOS, L. M. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2002.

BRANDÃO, M. G. L.; FREIRE, N.; SOARES, C. D. V. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais: verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 613-616, 1998.

BRANDÃO, S. C. C.; VIANA, G. A.; SILVA, C. A. O.; MARTINS, F. O. Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia em camada fina para determinar adulteração do leite com maltodextrina. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 8, n. 49, p. 62-66, jan/fev. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, Seção 1, p. 6. 10 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 10 jun. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RE nº 89, de 16/03/2004. Dispõe sobre o registro de fitoterápicos simplificado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 18 de março de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, maio. 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006b.

BRESCIANI, L. F. V. **Análise qualitativa e quantitativa de metabólitos secundários e propriedades farmacológicas de quatro espécies de plantas medicinais da flora catarinense**. 2003. 160 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2003.

BROWN D, A.; DATNER, A. M. Phytoterapeutic approaches to common dermatologic conditions. **Archives of dermatology**, Chicago, Ill., v. 134, n. 11, p. 1401-1404. 1998.

BUAINAIN, A. M., BATALHA, M. O. **Cadeia produtiva de produtos orgânicos**. Brasília, DF: IICA: MAPA/SPA, 2007. p.110. (Série agronegócios; 5).

CABRINI, K. T.; SIVIERO, A. R.; HONÓRO, E. F.; OLIVEIRA, L. F. C.; VENÂNCIO, P. C. Pesquisa de coliformes totais e *E. coli* em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Limeira-SP. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 95, p. 92-94, 2002.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phyti therapeutic agents). **Brasilian Journal of Medicinal and Biological Research**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 180, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne,, v. 100, n. 1-2, p. 131-134, 2005.

CARDOSO, R.; ALONSO-CALLEJA, C.; GARCÍA-FERNÁNDES, M. D. C.; MORENO, B. Microbiological quality of retail poultry carcasses in Spain. **Journal of Food Protection**, Des Moines, Iowa, US, v. 64. n. 12, p. 1961-1966, 2001.

CARVALHO, A. C. B.; FERNÁNDEZ, M. G.; SANTOS, E. J. V.; MELO, A. F. M.; MEDEIROS, I. A.; DINIZ, M. F. F. M. Avaliação legal da propaganda e publicidade de medicamentos fitoterápicos anunciados na Paraíba (Brasil). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 23, n. 3, p. 413-417, 2004.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P. M.; SOUSA, J. S.; SILVA, R. H. D.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, R. F. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Natal, RN, v. 5, n. 2, ago. 2005.

CARVALHO JUNIOR, P. M.; RODRIGUES, R. F. O.; SAWAYA, A. C. H. F.; MARQUES, M. O. M.; SHIMIZU, M. T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 95, n. 2-3, p. 297-301, 2004.

CARVALHO, L. M. Crescimento, teor de partenólídeo e de prolina em plantas. **Acta Scientiarum, Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 151-7, 2005.

CHALCHAT, J C; GARRY, R. P. H.; MICHET, A. Chemical composition of essential oil of *Calendula officinalis* L. (Pot Marigold). **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, GB, v. 6, p. 189-192, 1991.

CHAN, K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. **Chemosphere**, Oxford, v. 52, n. 9, p. 1361-1371, 2003.

CHAPPELL, J.; HAHLBROCK, K. Transcription of plant defence genes in responses to UV light or fungal elicitor. **Nature**, n. 311, p. 76-78, 1984 *apud* GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

CHOURASIA, H. K. Mycobiota and mycotoxins in herbal drugs of Indian pharmaceutical industries. **Mycology Research**, Cambridge, v. 99, n. 6, p. 697-703, 1995.

CORRÊA JÚNIOR, C., BARROS, I. B. I., MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Botucatu: UNESP, 1998. v.2,

CORREA JUNIOR, C.; MING, L. G.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2. ed., Jaboticabal: FUNEP, 1994.

COSTA, L. L. F.; SCUSSEL V. M. Toxigenic fungi in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) classes black and color cultivated in the state of Santa Catarina, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 138-144, abr./jun. 2002.

CRABAS, N.; MARONGIU, B.; PIRAS, A.; PIVETTA, T.; PORCEDDA, S. Extraction, separation and isolation of volatiles and dyes from *Calendula officinalis* L. and *Aloysia triphylla* (L'Her). Britton by supercritical CO₂. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, Ill., US, v.15, n. 5, p. 350- 355., 2003.

CHRISTOFIDIS, D. Irrigação, a fronteira hídrica e a produção de alimentos. **Item, Irrigação e Tecnologia Moderna**, Brasília, DF, n. 54, p. 46-55, 2002.

CZECH, E.; KNEIFEL, W.; KOPP, B. Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs: a screening study. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 3, p. 263-269, 2001.

DALL'AGNOL, L. Avaliação dos efeitos da radiação gama (Co60) sobre princípios ativos e carga microbiana de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 3, n. 2, p. 45-51, 2001.

DAROLT, M. **Comparação entre a qualidade do alimento orgânico e a do convencional**. In: STRINGHETA, P. C.; MUNIZ, J. N. (Eds.) Alimentos orgânicos-produção, tecnologia e certificação. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003, 452p.

DE SMET, P. A. Health risks of herbal remedies: an update. **Clinical pharmacology and therapeutics**, St. Louis, v. 76, n. 1, p. 1-17, 2004.

DEANS, S. G.; WATERMAN, P. G. Biological activity of volatile oils. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, G. P (Eds). **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Londres: John Willey; Sons, 1993. Cap. 6.

DELLA LOGGIA, R.; TUBARO, A; SOSA, S.; BECKER, H.; SAAR, S. T.; ISAAC, D. The role of triperpenoids in the topical antiinflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. **Planta Medica**, Stuttgart, v.60, p. 516- 520, 1994.

DIAS, B. F. S. **A implementação da convenção sobre a diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: André Tosello, 1996.

DUARTE, M. R.; LIMA, M. P. Análise farmacopéica de amostras de camomila *Matricaria recutita* L., Asteraceae. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 89-92, 2003.

DUARTE, M. R.; BARDAL, D. Qualidade de fármacos vegetais comercializados em Curitiba, PR. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 3, n. 2, p. 65-68, 2002.

EFUNTOYE, M. O. Fungi associated with herbal drug plants during storage. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 136, n. 2, p. 115-118, 1996.

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

EL-KADY, I. A.; EL-MARAGHY, S. S. M.; MOSTAFA, E. Contribution of the mesophilic fungi of different spices in Egypt. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 120, n. 2, p. 93-101, 1992.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: CMI, 1971. 608 p.

ELSHAFIE, A. E.; AL-LAWATIA, T.; AL-BAHRY, S. Fungi associated with black tea and tea quality in the Sultanate of Oman. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 145, n. 2, p. 89-93, 1999.

ELSHAFIE, A. E.; AL-RASHDI, T.; AL-BAHRY, S. N.; BAKHEIT, C. S. Fungi and aflatoxins associated with spices in the Sultanate of Oman. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 155, n.3, p. 155-160, 2002.

ELVIN-LEWIS, M. Should we be concerned about herbal remedies? **Journal of Ethnopharmacology**, Luasanne, v. 75, n. 2-3, p. 141-164, 2001.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Sistemas de produção**, jan. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/expediente.htm>>. Acesso em: 22 abr. 2011.

EMBRAPA, **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.

FARIAS, M. R.; SIMÕES, C. M. O; RECH, N.; BOFF, P. R; STORB, B. H.; ROVARIS, D. A. Espécies vegetais empregadas na produção de fitoterápicos em Santa Catarina. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 12, 1994, Fortaleza. **Resumos**. Fortaleza: UFC, 1994. p.125.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 2001. P. 197-220.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. v. 1

FARNSWORTH, N. R.; AKERELE, O; BINGEL, A. S.; SOEJARTO, D. D.; GUO, Z. Places des médicinales dans la thérapeutique. **Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé**, Geneve, v. 64, n. 2, p. 159-175, 1986.

FAYER, R.; MORGAN, U. M.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.

FERREIRA, M. M. M.; OLIVEIRA, A. H. C.; SANTOS, N. S. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agroambiente On line**, v. 2, n. 2, p. 57-60, 2008.

FIRMINO, P. T.; SILVA, A. C.; SOUSA, M. E. R. **Gergelim**: alternativa alimentar para a merenda escolar. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 30p. (Embrapa Algodão. Documentos, 144).

FISCHER, D. C. H.; OHARA, M. T.; SAITO, T. Contaminação microbiana em medicamentos fitoterápicos sob a forma sólida. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 81-88, 1993.

FJP. FUNDAÇÃO JOÃO PINHEIRO. **Produto interno bruto**: municípios e regiões. 1985-2000. Belo Horizonte: Fundação João Pinheiro/Centro de Estatísticas e Informação, 2000. Disponível em: <www.fjp.gov.br/index.php/analise-economica/pib-produto-interno-bruto-de-minas-gerais>. Acesso em: 5 jul. 2011.

FONT QUER, P. **Plantas medicinales**: eldioscórides renovado. Barcelona: Labor, 1993. 1033 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: ATHENEU, 2002. 182 p.

FRANCO, L. L. **As sensacionais 50 plantas medicinais campeãs de poder curativo**. Curitiba: Santa Mônica. 1996. 2 v.

FREITAS, E. V. S.; FERNANDES, J. G.; CAMPOS, M. C. C.; FREIRE, M. B. G. S. Alterações nos atributos físicos e químicos de dois solos submetidos à irrigação com água salina. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Campina Grande-PB, v. 7, n. 1, p. 21-28, 2007.

FUENTES, V. A.; COSTA, L.; DURAND, D.; RODRÍGUEZ, C.; MARTINS, G.; RAMOS, R. E. El cultivo de una especie medicinal: *Calendula officinalis* L. **Plantas Medicinales**, La Habana, n. 6, p. 28-33, 1986.

FURLAN, M. R. Cultivo de plantas medicinais, Cuiabá: SEBRAE/MT, 1998, 130 p.

GARRIDO, D.; JODRAL, M.; POZO, R. Mold flora and aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* in spices and herbs. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 55, n. 6, p. 451-452, 1992.

GAZIM, Z. C.; FERREIRA, G. A.; REZENDE, C. M.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G. Identificação dos constituintes químicos da fração volátil da *Calendula officinalis* produzida no Paraná. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p.118-121, 2007.

GELLI, D. S. *et al.* Condições higiênic-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 37-43, 1979.

GIVEON, S. M.; LIBERMAN, N.; KLANG, S.; KAHAN, E. Are people who use "natural drugs" aware of their potentially harmful side effects and reporting to family physician? **Patient Education and Counseling**, Princeton, v. 53, n. 1, p. 5-11, 2004.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr.2007.

GOMES, H. E.; VIEIRA, M. C.; HEREDIA ZÁRATE, N. A. Density and plant arrangement on *Callendula officinalis* L. yield. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 117-123, 2007.

GRAÇA, C. **Fitoterapia em atenção primária**. Curitiba: Secretaria Municipal de Saúde, 1990.15 p. Apostila.

GRACZA L. Oxygen-containing terpene derivatives from *Calendula officinalis*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 53, n. 2, p. 227, 1987.

HALT, M. Moulds and mycotoxins in herb tea and medicinal plants. **European journal of epidemiology**, Rome, v. 14, n. 3, p. 269-274, 1998.

HECKLER, J. C.; HERNANI, L. C.; PITOL, C. Palha. In: SALTON, J. C.; HERNANI, L. C.; FONTES, C. Z. (Orgs.). **Sistema plantio direto**: o produtor pergunta, a EMBRAPA responde. Dourados: EMBRAPA- CPAO, 1998. p. 37-49.

HERNANI, L. C.; SALTON, J. C. Manejo e conservação do solo. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão**: tecnologia de produção. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001. p. 76-102.

HITOKOTO, H.; MOROZUMI, S.; WAUKE, T.; SAKAI, S.; KURATA, H. Fungal contamination and mycotoxin detection of powdered herbal drugs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 36, p. 252-256, 1978 apud KNEIFEL, W.; CZECH, E.; KOPP, B. Microbial contamination of medicinal plants. a review. **Planta Medica**, Stuttgart, v.68, n. 1, p.5-15, 2002.

HORNER, J. D. Nonlinear effects of water deficits on foliar tannin concentration. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 18, n. 4, p. 211-213, 1990 apud GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr.2007.

HSIEH, P. C; MAU, J. L.; HUANG, S.H. Antimicrobial effects of various combinations of plant extracts. **Food Microbiology**, London, v. 18, n. 1, p. 35-43, 2001.

IBGE. **Censo demográfico 2010**: características da população e dos domicílios, resultado do universo. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=314330>> Acesso: Agosto, 2011.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. **Estação meteorológica de Montes Claros – ICA/UFMG**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em: 10 dez. 2009.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Site. 2010. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br>>. Acesso em: 15 maio 2011.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC). **PROTIM**, Portal de Tecnologia da Informação Para Meteorologia: Busca por cidade. Disponível em: <<http://bancodedados.cptec.inpe.br/estatisticas/>>. Acesso em: 13 jul. 2011.

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

KLIEMANN, H. J.; BRAZ, A. J. P. B.; SILVEIRA, P. M. Taxas de decomposição de resíduos de espécies de cobertura em Latossolo Vermelho Distroférrico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v.36, n. 1, p.21-28, 2006.

KNEIFEL, W.; BERGER, E. Microbiological criteria of random samples of spices and herbs retailed on the Austrian market. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 57, n. 10, p. 893-901, 1994.

KNEIFEL, W.; CZECH, E.; KOPP, B. Microbial contamination of medicinal plants. a review. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 68, n. 1, p.5-15, 2002.

LA LUZ, L. A.; FERRADÁ, C. R.; GOYÍN, E. S. Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan T. Roig" instructivo técnico de *Calendula officinalis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, n. 1, p 23-7, 2001.

LEITÃO, M. F. F. Perigos em produtos agrícolas frescos. In: ELEMENTOS e apoio para as boas praticas agrícolas e o sistema APPCC. Brasília, DF: CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA, 2004. p.29-60 (Série qualidade e segurança dos alimentos)

LEITE, G.L.D.; ARAUJO, 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 artropodes associados. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo. v. 72, n.2, p. 227-233, abr./jun. 2005.

LIN, M.; ANDERSON, H.; FLAVIN, M. T.; PAI, Y. S. In vitro anti-HIV activity of bioflavonoids isolated from *Rhus succedanea* and *Garcinia multiflora*. **Journal Natural Products**, Cincinnati, v. 60, n. 9, p. 884-888, 1997.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

LOTTO, M. C. Avaliação de contaminação de alface, (*lactuca sativa*) por coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em dois sistemas de cultivo orgânico e convencional. 2008. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Piracicaba, 2007.

LUTOMSKI, J.; KEDZIA, B. Mycoflora of crude drugs: estimation of mould contaminations and their toxicity. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 40, n. 2, p. 212-217, 1980.

- MAHADY, G. B. Global harmonization of herbal health claims. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 131, n. 3s, p. 1120S-1123S, 2001.
- MAISTRO, L. C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 219-224, 2001.
- MANDEEL, Q. A. Fungal contamination of some imported spices. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 159, n. 2, p. 291-298, 2005.
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1994.
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. L.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 2000.
- MARTINS, H. M.; MARTINS, M. L.; DIAS, M. I.; BERNARDO, F. Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, n. 1-2, p. 149-153, 2001.
- MARY, B.; RECOUS, S.; DARWIS, D. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 181, n. 1, p. 71-82, 1996.
- MAY, A.; BOVI, O. A.; SACCONI, L. V.; SAMRA, A. G.; PINHEIRO, M. Q. Produtividade da biomassa de melissa em função de intervalo de cortes e doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 312-315, 2008.
- MELO, J. T.; CRUZEIRO, R. L. A.; MACEDO, J. A. B.; OLIVEIRA, M. G.; TEIXEIRA, J. B. P.; BERALDO, A. F. C. A.; CASTRO, O. F. Avaliação dos níveis de contaminação microbiológica ambiental das diversas áreas de produção do Laboratório de Fitoterápicos, do Programa de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Juiz de Fora. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 2, n. 2, p. 45-50, 2000.
- MENEGHELLO, G. E.; SCHNEIDER, S. M. H.; LUCCA-FILHO, O. A. Veracidade da germinação indicada nas embalagens de sementes de espécies medicinais, **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 5-10, 2002.
- MING, L. C. Adubação orgânica no cultivo de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Br. Verbenaceae. In: MING, L. C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v 1. p. 165-191.

MING, L.C. **A Etnobotânica na recuperação do conhecimento popular**. Botucatu: UNESP/Departamento de Produção Vegetal/Faculdade de Ciências Agrônomicas, 2009. 4 p.

MONTANARI JÚNIOR, I. Aspectos do cultivo comercial de calêndula. **Revista Agroecológica**, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 24-25, 2000.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006, 729 p.

MOREIRA, P. A. **Resposta da calêndula a adubação nitrogenada e fosfatada**. 2002. 31 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campus de Dourados, 2002.

MOREIRA, P. A.; MARCHETTI, M. E.; VIEIRA, M. C.; NOVELINO, J. O.; ROBAINA, A. D.; GONÇALVES, M. C. Desenvolvimento vegetativo e teor foliar de macronutrientes da calêndula (*Calendula officinalis* L.) adubada com N e P. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 18-23, 2005.

MORETTI, C. L. Boas práticas agrícolas para a produção de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 2003. Supl. CD.

MUNARIN, E. E. O.; HEREDIA ZÁRATE, N. A.; VIEIRA, M. C.; ROSA, Y. B. C. J.; RODRIGUES, E. T. Espaçamentos entre plantas e cobertura do solo com cama-de-frango na produção da bardana (*Arctium lappa* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 2, p. 141-148, 2010.

NAIVERTH, J. A.; FARIA, C. M. D. Cultivo de plantas medicinais como alternativa de renda para agricultores familiares do município de Candói – PR. **Revista Eletrônica Lato Sensu**, Guarapuava, v. 2, n. 1, p.1-34, jul 2007. Disponível em: <http://web03.unicentro.br/especializacao/Revista_Pos/Páginas/2%20Edição/Agrarias/PDF/4-Ed2_CA-Cultivo.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2010.

NEVES, M. C. P. Riscos associados ao histórico do solo. In: ELEMENTOS e apoio para as boas praticas agrícolas e o sistema APPCC. Brasília, DF: CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA, 2004. p. 83-86 (Série qualidade e segurança dos alimentos).

NUNES, I. L.; MAGAGNIN, G.; BERTOLIN, T. E.; FURLONG, E. B. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 190-194, 2003.

NUNES, U. R.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; SILVA, E. B.; SANTOS, N. F.; COSTA, H. A. O.; FERREIRA, C. A. Produção de palhada de plantas de

cobertura e rendimento do feijão em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, D.F, v. 41, n. 6, p. 943-978, 2006.

OLIVEIRA E. C. M.; VALLE R. H. P. D. Aspectos microbiológicos dos produtos hortícolas minimamente processados. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78-79, p. 50-54, 2000.

PACHECO, A. C. Deficiência hídrica e aplicação de ABA sobre as trocas gasosas e o acúmulo de flavonóides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). 2007. 62 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PACHECO, M. A. S. R.; FONSECA, Y. S. K.; DIAS, H. G. G.; CÂNDIDO, V. L. P.; GOMES, A. H. S.; ARMELIN, I. M. Condições higiênico-sanitárias de verduras e legumes comercializados no Ceagesp de Sorocaba. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 101, p. 50-55, 2002.

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

PEREZ, M. P.; NAVAS-CORTES, J. A.; PASCUAL VILLA-LOBOS, M.J; CASTILLO, P. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, n. 3, p. 395-401, 2003.

PETERSON, J.; DWYER J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, New York, v. 18, n. 12, p.1995- 2018, 1998.

PIETTA, P.; BRUNO, A.; MAURI, P.; RAVA, A. Separation of flavonol-2-O-glycosides from *Calendula officinalis* and *Sambucus nigra* by high-performance liquid and micellar electrokinetic capillary chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 593, n. 1-2, p.165-170, 1992.

PIETTA P; FACINO R. M; CARINI M; MAURI P. Thermospray liquid chromatography-mass spectrometry of flavonol glycosides from medicinal plants. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 661, n. 1-2, p.121-126, 1994.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pragas e doenças: técnicas alternativas para a produção agropecuária e defesa do meio ambiente**. São Paulo: Nobel, 1988.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, Vicosa, MG, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002

RADAIK, P. H.; SILVA, L. A.; MALUF, W. R. **Plante uma farmácia no seu quintal**. Lavras: UFLA/Departamento de Agricultura, 1998. (Boletim técnico de hortaliças, n. 13)

RADULESCU, V.; DONEANU, C.; LOLOIU, T. Investigation of chemical composition of *Calendula officinalis*. **Revue Roumaine de Chimie**, Bucarest, v. 45, n. 3, p. 271-275, 2000

RAMOS, A.; PEDREIRA, A.; VIZOSO, A.; BETANCOURT, J.; LÓPEZ, A.; DÉCALO, M. Genotoxicity of an extract of *Calendula officinalis*. **Journal Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 61, n. 1, p. 49-55. 1998.

RATTY, A., K.; DAS, P. N. Effects of Flavonoids on Nonenzymatic Lipid Peroxidation: Structure-Activity Relationship. **Biochemical Medicine and Metabolic Biology**, San Diego, v. 39, n. 1, p. 69-79, 1998.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REIS, E. F.; BARROS, F. M.; CAMPANHARO, M.; PEZZOPANE, J. E. M. Avaliação do desempenho de sistemas de irrigação por gotejamento. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v. 13, n. 2, p. 74-81, abr./jun., 2005.

REIS, K. C.; PEREIRA, J.; VALLE, R. H. P.; NERY, F. C. Avaliação da qualidade microbiológica de mini-milho (*Zea Mays*) minimamente processado. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 66-68, 2003.

REZNICEK, G.; ZITTERL-EGLESEER, K. Quantitative determination of the faradiol esters in marigold flowers and extracts. **Scientia Pharmaceutica**, Wien, v. 71, n. 2, p.121-128, 2003.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: UFV, 2001. 301 p.

RIBEIRO-NASCIMENTO, A.; FILHO, J. E. M.; FILHO, V.E.M.; MARTINS, A.G.DE A.L.; ROSA, C. C. B.; MARTINS, M.L.L.; FOLLY, M.M. Avaliação microbiológica de hortaliças provenientes de hortas comunitárias de Campos dos Goytacazes – RJ. **Higiene alimentar**, São Paulo, v.19, n. 134, p. 75-80, 2005.

RIZZO, I.; VEDOYA, G.; MAURUTTO, S.; HAIDUKOWSKI, M.; VARSAVSKY, E. Assessment of toxigenic fungi on Argentinean medicinal herbs. **Microbiological Research**, Jena, Alemanha, v. 159, n. 2, p. 113-120, 2004.

ROCHA, L. O; SOARES, M. M. S. R.; CORRÊA, C. L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia Delile* (sene) e *Peumus boldus* (Molina) *Lyons* (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade

de Campinas, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 521-527, 2004.

RODRIGUES, C. S. **Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília,DF**. 2007. 29 f. Monografia (Graduação) - Universidade de Brasília, DF, Brasília, DF, 2007.

RODRIGUES, W.; NOGUEIRA, J. M; PARREIRA, L. A. 2008. Competitividade da cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil: uma perspectiva a partir do comércio exterior. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco, AC. **Anais eletrônicos**. Rio Branco: SOBER, 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/703.pdf>> Acesso em: 10 jul.e 2010.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 84- 92, 2000.

ROSAL, L. F. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus schlechter* em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas**. 2008. 23 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SANTOS, A.S. Análise técnica, econômica e de tendências da Indústria brasileira de óleos essenciais. Rio de Janeiro: Papel & Virtual, 2002. v. 1. 202 p.

SANTOS, A. F. O.; BASÍLIO JR, I. D.; SOUZA, F. S.; MEDEIROS, A. F. D.; PINTO, M. F.; DE SANTANA, D. P.; MACÊDO, R. O. Application of thermal analysis of binary mixtures with metformin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, Holanda, v. 93, n. 2, p. 361–364, 2008.

SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonoides totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. De mata e cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 1-9, 1998.

SANTOS, P. R. V; OLIVEIRA, A. C. X.; TOMASSINI, T. C. B. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, Belo Horizonte, v. 31, n. 1, p. 35-38. Jan./jun. 1995.

SARTÓRIO, M. L.; TRINDADE, C.; RESENDE, P.; MACHADO, J. R. **Cultivo orgânico de plantas medicinais**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000. 258 p.

SATCHER, D. Food safety: a growing global health problem. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, Ill.,v. 283, n.14, p. 1817, 2000.

SCALOPPI, E. J. Características principais dos sistemas de irrigação. **Item**, Brasília, n. 25, p. 22-27, 1986.

SCHEFFER, M. C. **Levantamento das possíveis espécies exportadas, de acordo com o nome popular fornecido pelo IBAMA no Relatório de "Recursos Naturais Exportados através da SUPES/SP"**. [Curitiba]: Instituto de Tecnológico Paraná, 1995.

SCHEFFER, M. C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L., mil-folhas, In: MING, L.C.; SCHEFFER, M. C.; CORREA-JUNIOR, C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu, UNESP, 1998, p.1-22.

SIGEDAR, P. D.; ANSERWADEKAR, K. W.; RODGE, B. M. Effect of different levels of nitrogen, phosphorus and potassium on growth and yield of *Calendula officinalis* Linn. **South Indian Horticulture**, New Delhi, v. 39, n. 4, p. 308-311, 1991 *apud* MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1994.

SILVA JÚNIOR, A. A. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí: Epagri, 1997. 1 CD-ROM.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V.; MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 347-356, jul./set., 2007.

SILVA, C. A.; SILVA, C. J. Avaliação de uniformidade em sistemas de irrigação localizada. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, v. 4, n. 8, 17 p. dez. 2005. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/agro08/artigos/artigo08.pdf>>. Acesso em: 9 nov. 2010.

SILVA JÚNIOR, A. A. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí: Epagri, 1997. 1 CD-ROM.

SILVA, P. C. F. Propriedades antioxidantes in vitro de uvas branca e de uva tinta e de seus respectivos vinhos elaborados. 2003. 138 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

SILVEIRA, M. A. M.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. A. Maturação fisiológica de sementes de calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 31-37, 2002.

SIMÕES C. M. O; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao**

medicamento. 6 ed. rev. ampl. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2004. 1104 p.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília,DF: EMBRAPA, 1995. 159 p.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. **Journal of ethnopharmacology**, Lausanne, v. 51, n. 1-3,, p. 1-15, 1996.

SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; BARBOSA FILHO, J. M.; GLAUCE, S. B. V. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 642-65, out./dez. 2008.

SOUZA, F. S.; MACIEL, C. C. S. Produtos fitoterápicos e a necessidade de um controle de qualidade microbiológico. **Veredas Favip, Revista Eletrônica de Ciências**, Caruaru, PE, v. 3, n. 2, p. 22-30, jul./dez. 2010.

SOUSA, J. A.; MIRANDA, E. M. **Plantas medicinais e fitoterápicos: alternativas viáveis**. Disponível em: <http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agropecuaria/artigo_agropecuaria/plantas_medicinais_e_fitoterpicos_alternativas_viaveis.html?query=plantas+medicinais>. Acesso em: 9 nov. 2010.

SOUSA, O. V.; OLIVEIRA, M. S.; CUNHA, R. O.; COSTA, B. L. S.; ZANCANELLA, C. R.; LEITE, M. N. Avaliação da qualidade de matérias-primas de ruibarbo utilizadas em formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 13, supl. 1, p. 30-34, 2003.

SPRINGFIELD, E. P.; EAGLES, P. K. F.; SCOTT, G. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. **Journal of ethnopharmacology**, Lausanne, v. 101, n. 1-3, p. 75-83, Oct. 2005.

STEFANINI, M. B.; RODRIGUES, S. D.; MING, L. C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira, **Horticultura Brasileira**, Brasília,DF, v. 20, n. 1, p. 18-23, mar. 2002.

STEVENSON, R. Some constituents of *Calendula officinalis*. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, D. C., v. 6, n. 12, p. 5228–5230, 1961.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAKAYANAGUI, O. M.; EBRÔNIO, L. H. P.; BERGAMINI, A. M.; OKIMO, M. H. T.; CASTRO SILVA, A. A. M. Z.; SANTIAGO, R. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da**

Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p.169-174, 2000.

TAKAYANAGUI, O. M.; OLIVEIRA, C. D; BERGAMINI, A. M. M.; CAPUANO, D. M.; MADALENA H. T.; OKINO, M. H. T.; FEBRÔNIO, L. H. P.; CASTRO E SILVA, A. A. M. C.; OLIVEIRA, M. A.; ELIANA G.A. RIBEIRO, E. G. A.; ANGELA M.M. TAKAYANAGUI, A. M. M. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro,, v. 34, n. 1, p. 37-41, 2001.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium**: compêndio de fitoterapia. 3. ed., Curitiba: Herbarium, 1995. 71 p.

TÈTÈNYI, P. **Infraspecific chemical taxa of medicinal plants**. Budapest: Akadémiai Kiadó, 1970. 225 p.

TOMLINSON, T. R.; AKERELE, O. **Medicinal plants**: their role in health and biodiversity. Philadelphia: University of Pennsylvania, 1998. 221 p.

TUROLLA, M. S. R. **Avaliação dos aspectos toxicológicos dos fitoterápicos**: um estudo comparativo. 2004. 145 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

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

VALDÉS, H. L.; GARCÍA, R. P. *Calendula officinalis*. **Revista Cubana de Farmácia**, La Habana, v. 33, n. 3, p. 188-194, 1999.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18: n. 3, 464-471, jul/set. 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519 – 528. 2005.

VENIKAR, A. D.; JANDGE, C. R. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*. Indian **Journal of Indigenous Medicines**, New Delhi, v. 9, n. 1-2, p. 41-44, 1993.

VIEIRA, M. C.; HEREDIA ZÁRATE, N. A.; RAMOS, M. B. M. Crescimento e produção de capítulos de (*Calendula officinalis* L.), em função de cama-de-aviário semi-decomposta e fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 1, n. 2, p. 45-52, 1999.

VIEIRA, M. C.; GOMES, H. E.; SANGALLI, A.; HEREDIA ZARARTE, N. A.; TEIXEIRA, I. R.; RAMOS, M. B. Crescimento e produção de biomassa de calêndula (*Calendula officinalis* L.) proveniente de dois tipos de diásporos e duas colorações de capítulos florais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 193-197, 2006.

VIEIRA, S. C. H.; SÓLON S.; VIEIRA M. C.; ZÁRATE, N. A. H. Levantamento de fitoterápicos manipulados em farmácias magistrais de Dourados-MS. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 28-34, 2010.

VOLPATO, A. M. M. **Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2005.

WANDERER, M.; BARROS, I. B. I. Rendimento de biomassa de cultivares de melissa sob diferentes coberturas de solo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, RS, v.2, n.1, p. 216-221, 2007.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1994 *apud* GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

WILKOMIRSKI, B. Pentacyclic triterpene triols from *Calendula officinalis* flowers. **Phytochemistry**, New York, v. 24, n. 12, p. 3066-3067, 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva: WHO, 1998.

YAMAMOTO, H. C.; PINTO, A. J. T.; MEURER, M. V.; CARVALHO, M. A.; REZENDE, P. Controle de Qualidade Microbiológico de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG. In; CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2. 2004, Belo Horizonte, MG. **Anais**. Disponível em <<http://www.ufmg.br/congr ext/Desen/Desen7.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2011.

YOKOZAWA, T.; DONG, E.; LIU, Z. W.; SHIMIZU, M. (1997). Antioxidative activity of flavones and flavonols in vitro. **Phytotherapy Research**, London, v. 11, n. 6, p. 446-449, 1997.

YOSHIKAWA, M; MURAKAMI, T; KISHI, A; KAGEURA, T; MATSUDA, H. Medicinal flowers. III. Marigold: hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective principles and New Oleanane-Type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D, from Egyptian *Calendula*

officinalis. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 49, n. 7, p. 863-870, 2001.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FÁVERO, M. L. D.; CORREA JÚNIOR, C.; STREMEL, D. P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.14, n.1, p.29-39, 2004.

ZITTERLL-EGLESSER, K.; SOSSA, S.; JURENITSCH, J.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; DELLA-LOGGIA, R.; TUBARO, A.; BERTOLDI, M.; FRANZ, C. Anti-oedematous activities of the main triterpendiol esters of marigold (*Calendula officinalis* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 57, n. 2, p. 139-144. 1997.

ZUCCOLOTTO, T.; APEL, M.; RATES, S. M. K. Avaliação da qualidade de produtos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre- RS. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 58, n. 2, p. 25-31, 1999.

ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H.; BICCHI, C. Avaliação da qualidade de drogas vegetais a base de *Passiflora* spp. comercializadas no Brasil: presença de resíduos de pesticidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 2, p. 60-66, 2004.