

Flavonoides de *Calendula officinalis* L. bajo cultivo. Efecto de diferentes fechas de siembra y fertilización

Federico Russo*; Martín I. Rodríguez Morcelle; Nancy M. Apóstolo

Programa Interdisciplinario de Estudios en Plantas Vasculares (PIEPVas). Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221. Luján (6700). Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: elferusso@gmail.com

Resumen

Calendula officinalis L. (Asteraceae), “caléndula”, es una hierba anual con capítulos amarillos o anaranjados utilizada popularmente por sus propiedades: antidermatósica, antiinflamatoria, antiespasmódica, emenagoga, entre otras. Muchas de sus propiedades curativas son debidas a los flavonoides contenidos en las flores del capítulo. En las últimas décadas se ha incrementado el volumen de producción de “caléndula” debido a la incorporación de tecnologías y a la elección de cultivares adecuados para cada zona. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el rendimiento de flavonoides del cultivo de *Calendula officinalis* L. en función de tres fechas de siembra y tres niveles de fertilización fosforada. El ensayo fue conducido en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján. Se utilizaron semillas de *C. officinalis* var. *mistura*. El fertilizante fue aplicado en bandas paralelas al surco, simultáneamente con la siembra. El diseño experimental fue aleatorio con 4 repeticiones por tratamiento. El perfil cromatográfico cualitativo y el contenido total de flavonoides fueron determinados mediante cromatografía en capa delgada y espectrofotometría. Todos los tratamientos ensayados cumplen con el perfil cromatográfico cualitativo de *Calendula officinalis* L. descrito por la Farmacopea Argentina. Los mayores contenidos de flavonoides se registraron en las muestras de los tratamientos de siembra de junio. El uso de 46 Kg P₂O₅/ha produjo porcentajes de flavonoides mayores en las siembras de junio y julio, mientras que todos los tratamientos de fertilización sembrados en mayo presentaron menor contenido de flavonoides totales. Así, para lograr un adecuado porcentaje de contenido de flavonoides en el cultivo de “caléndula” en la zona noreste de la provincia de Buenos Aires, es recomendable sembrar en el mes de junio y con una fertilización fosforada de 46 kg P₂O₅/ha.

Flavonoids from *Calendula officinalis* L. under cultivation: effect of different sowing dates and phosphorus fertilization

Summary

Calendula officinalis L. (Asteraceae) “marigold” is an annual herb with yellow or orange chapters, popularly used for its antidermatotic, anti-inflammatory, antispasmodic, emmenagogue, sudorific, bactericidal, sedative, vulnerary and cholagogue properties. Many of its healing properties are due to the flavonoids contained in the flowers of the chapter. The marigold production has recently increased its volume due to

Palabras clave: *Calendula* - flavonoides - flores - cultivo - fertilización.

Key words: *Calendula* - flavonoids - flowers - culture - fertilization.

the incorporation of technology and the choice of suitable cultivars for each zone. The aim of this study was to evaluate the performance of flavonoids from *Calendula officinalis* L. growing in terms of three planting dates (F1-13/5/11, F2-10/6/11 and F3-8/7/11) and three levels of phosphorus fertilization (T0 -0 Kg P₂O₅/ha, T1 -23 Kg P₂O₅ and T2 -46 Kg P₂O₅). The trial was conducted in the experimental field of the National University of Luján. *C. officinalis* var. *mistura* seeds were sown. The fertilizer was applied simultaneously with sowing. The experimental design was completely randomized with 4 replications per treatment. Qualitative chromatographic profile and the total flavonoid content in the different treatments were determined by chromatography and spectrophotometry. All tested treatments meet the qualitative chromatographic profile of *Calendula officinalis* L. described by Argentina Pharmacopeia. The higher content of flavonoids (0,44 to 0,56 %) were recorded in samples of seed treatments June (F2). The use of 46 kg P₂O₅ (T2) showed percentages of total flavonoids higher than 0,4 % in the months of June and July. Fertilization treatments applied in May showed a total flavonoids content less than 0,4 %. Therefore, to achieve high percentage contents of flavonoids in marigold cultivation in the northeast of the province of Buenos Aires, we recommend to plant in June with a fertilization of 46 kg P₂O₅.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha planteado la necesidad de revalorizar la utilización de las plantas medicinales. Del 80 al 85 % de la población mundial utiliza entre 40.000 a 70.000 especies para la atención primaria de su salud (Farnsworth, 1988; Verpoorte y col., 2006; OMS, 2008).

El retorno hacia el uso de los productos naturales en terapéutica fue favorecido por diversos factores, como el descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos sintéticos, el mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus derivados, el impulso de nuevas formas de preparación y de administración de las drogas vegetales y el desarrollo de métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad (Sharapin, 2000; Furlan, 2005).

En la medicina tradicional argentina se utilizan de 750 a 1.500 especies, entre autóctonas y adventicias, la mayoría de las cuales proviene del acopio de materiales silvestres o de importación (Cañigueral y col., 2003; Barboza y col., 2009). Entre esas especies, actualmente está muy difundido el uso terapéutico de “caléndula”, *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) (Bianco y col., 2006; Hurrell y col., 2006; Lorenzi y Abreu Matos, 2008).

Calendula officinalis es conocida vulgarmente como “caléndula”, “copetuda” o “marigold” (Bianco y col., 2006). Originaria de Egipto (Lastra Valdés y Piquet García, 1999; Acosta de la Luz y col., 2001), es considerada adventicia en la Argentina (Zuloaga y Morrone, 1999).

Desde la antigüedad, la “caléndula” se cultiva en todo el mundo como ornamental, para parques y jardines, para macizos, borduras, canteros y flores de corte. Diversos autores han destacado el uso de la especie en farmacología y en medicina (Bianco y col., 2006; Hurrell y col., 2006; Lorenzi y Abreu Matos, 2008).

Popularmente, los capítulos de *C. officinalis* son ampliamente utilizados por sus propiedades antidermatósica, antiinflamatoria, antiespasmódica, emenagoga, sudorífica, bactericida, sedativa, vulneraria, contra estomatitis y periodontitis y colagoga (Lastra Valdés y Piquet García, 1999; Águila Gil y col., 2000; Acosta de la Luz y col., 2001; Hurrell y col., 2006; Lorenzi y Abreu Matos, 2008). Asimismo, los extractos de las flores se recomiendan en el tratamiento de leucorrea (Acosta de la Luz y col., 2001). Además, Lastra Valdés y Piquet García (1999) mencionan su uso para el tratamiento de hipertensión, taquicardia, arritmia y enfermedades del sistema urinario, como así también para diversas afecciones del sistema nervioso central y periférico.

Las flores de *C. officinalis* presentan un amplio espectro de tipos de compuestos químicos, lo cual está en concordancia con la diversidad de acciones farmacológicas que presenta la planta (Lastra Valdés y Piquet García, 1999; Muley y col., 2009).

Como otros representantes de la familia Asteraceae, la especie contiene abundantes flavonoides. Las propiedades medicinales y cosméticas mencionadas

de *C. officinalis* son atribuidas a la presencia de estos compuestos en las flores de sus capítulos, debido a sus propiedades antioxidantes. Fuentes Fiallo y col. (2000), Lastra Valdés y Piquet García (1999) y la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) (2003), indican que el rendimiento de contenido de flavonoides de la “caléndula” oscila en valores de 0,3 al 0,8 %. Según la Farmacopea Argentina (2011) el material vegetal debe contener no menos de 0,4 % de flavonoides totales, calculado como hiperósido sobre la droga desecada.

La caléndula es una especie de clima templado que resiste bien las heladas y las sequías y tiene altos requerimientos de luz (Acosta de la Luz y col., 2001; Muñoz Centeno, 2004; Hurrell y col., 2006). Crece en suelos preferentemente bien provistos de materia orgánica (Furlan, 2005).

La siembra del cultivo en el hemisferio sur se realiza en los meses otoño-invernales (Berti y col., 2003; Hurrell y col. 2006; Moore y col., 2006). Se ha demostrado que hay factores que influyen en el rendimiento del cultivo, como la fecha de siembra (Berti y col., 2003; Ganjali y col., 2010; Berimavandi y col., 2011) y la fertilización (FIA, 2003; Moreira y col., 2005; Furlan, 2005).

Asimismo, la composición química de la “caléndula”, como toda planta medicinal, varía de acuerdo con la forma y el tiempo de la colecta y el secado, a las condiciones climáticas, al suelo y a las distintas técnicas de cultivo (Martínez y col., 2000; Gattuso y col., 2004; Ocampo, 2007; Koefender y col., 2008).

En la Argentina existen pocas experiencias del cultivo de “caléndula” con fines medicinales. En el INTA Cerro Azul (Misiones) se realizaron cultivos experimentales (Bálsamo, comunicación personal, 2011). En la provincia de Buenos Aires fue llevada a cabo una experiencia a pequeña escala en el municipio de Malvinas Argentinas (Moore y col., 2006).

La mayor parte de los suelos del oeste, norte y sur de la región pampeana presenta niveles muy bajos a bajos de fósforo disponible, por lo que este nutriente podría ser limitante para la producción de los cultivos (Sainz Rozas y col., 2011). La carencia de fósforo en la etapa inicial de crecimiento de los cultivos provoca una disminución del rendimiento (Grant y col., 2001).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que producen diferentes fechas de siembra y niveles de fertilización fosforada sobre el rendimiento de

materia seca y el contenido de flavonoides de los capítulos de *C. officinalis* en la zona del partido de Luján y sus alrededores.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján (34° 36' S; 59° 7' O). El tamaño de las parcelas era de 5 m de largo y 2,8 m de ancho, con un distanciamiento entre hileras de 0,7 m y una distancia entre plantas sobre la línea de 0,20 m.

Se utilizaron semillas de *Calendula officinalis* L. var. *mistura* (FECOAGRO, San Juan). Esta variedad se caracteriza por originar plantas con capítulos amarillos y plantas con capítulos anaranjados al azar.

Los tratamientos se evaluaron según el factor fechas de siembra (F) con 3 niveles (F1-13/5/11, F2-10/6/11 y F3-8/7/11) y el factor fertilización (T) con 3 niveles, incluido el control sin fertilizar (T0-0 kg/ha, T1-50 Kg/ha y T2-100 kg/ha de fertilizante fosforado) (Tabla 1).

Tabla 1.- Detalle de los tratamientos de fecha de siembra y fertilización fosforada en *Calendula officinalis*

Tratamiento	Fecha de siembra	Fertilización fosforada (kg/ha)
F1T0	13/05/2011	0
F1T1	13/05/2011	50
F1T2	13/05/2011	100
F2T0	10/06/2011	0
F2T1	10/06/2011	50
F2T2	10/06/2011	100
F3T0	1/07/2011	0
F3T1	1/07/2011	50
F3T2	1/07/2011	100

La fertilización fosforada utilizada fue equivalente a 23 kg P_2O_5 /ha y 46 kg P_2O_5 /ha, respectivamente. Como fertilizante se utilizó una mezcla comercial, soluble, constituida por 9 % de nitrógeno, 46 % de fósforo, 2 % de azufre y 8 % de calcio. El diseño experimental fue completamente aleatorio con 4 repeticiones por tratamiento.

En cada fecha de siembra se cultivaron las semillas en forma manual, a chorrillo, y con posterior raleo para lograr la densidad deseada de aproximadamente 64.000 plantas/ha. Los tratamientos de fertilización fosforada se aplicaron simultáneamente con la siembra, en bandas paralelas al surco.

El cultivo fue conducido de manera convencional, con la aplicación de riegos complementarios. El control de malezas se realizó en forma manual con uso de azada y desmalezadora. Se colocó cobertura vegetal en el entresurco, con el fin de disminuir la competencia de las malezas.

La cosecha se realizó manualmente para cada tratamiento a partir del momento de floración, efectuando un total de 12 cortes. Se determinó el número, el peso fresco y el peso seco de los capítulos completos de los diferentes tratamientos. El peso fresco y el peso seco de los capítulos fueron determinados mediante el uso de una balanza granataria.

El contenido de humedad se determinó mediante el secado de los capítulos en estufa a 40 °C hasta peso constante. Los datos de las temperaturas registradas durante los meses en que se llevó a cabo el ensayo fueron obtenidos de la Estación experimental de Gowland, Mercedes (Ministerio de Asuntos Agrarios de la provincia de Buenos Aires).

Los datos cuantitativos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA bifactorial, y comparación múltiple de medias Tukey para $p > 0,05$.

Se evaluó el perfil cromatográfico cualitativo y el contenido total de flavonoides de los capítulos secos de los diferentes tratamientos por medio de cromatografía en capa delgada (CCD) y espectrofotometría UV, según la metodología indicada en la Farmacopea Argentina (Laboratorio de Análisis Instrumental – Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Belgrano).

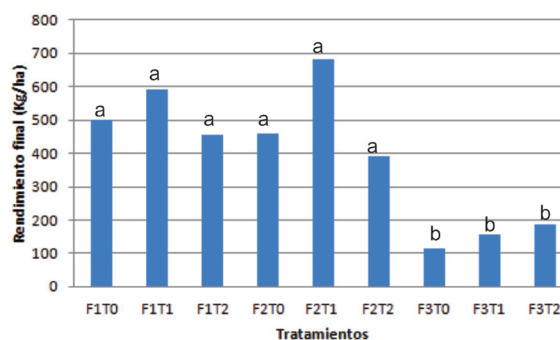
Resultados y discusión

Los rendimientos totales de capítulos florales de *C. officinalis* obtenidos de la siembra de julio (F3)

resultaron ser significativamente inferiores a los de las siembras de mayo (F1) y junio (F2).

El tratamiento que presenta el mayor rendimiento (681,45 kg de capítulos secos/ha) es el correspondiente a la fecha de siembra en junio con 23 kg P_2O_5 /ha (F2T1). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre los rendimientos obtenidos con los diferentes niveles de fertilización en el tratamiento F2. Asimismo, el menor rendimiento (con 115,9 kg de capítulos secos/ha) se observó en la última fecha de siembra sin fertilizar (F3T0). El factor fertilización no produjo efectos significativos sobre la producción de materia seca de capítulos en la especie (Figura 1).

Figura 1.- Rendimiento final de capítulos de *Calendula officinalis* en tres fechas de siembra y tres niveles de fertilización fosforada



Fechas de siembra: **F1**, 13/5/11; **F2**, 10/6/11; **F3**, 8/7/11. Fertilización fosforada: **T0**, 0 Kg/ha; **T1**, 50 Kg/ha; **T2**, 100 Kg/ha de fertilizante fosforado. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p = 0,05$) entre tratamientos. Test de comparación múltiple de Tukey.

Los rendimientos obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los volúmenes de producción de la Argentina (110 kg/ha a 980 kg/ha de capítulos secos) (Moore y col., 2006; Bálamo, comunicación personal, 2011). Los niveles de fertilización fosforada ensayados en esta investigación no generaron diferencias significativas en el rendimiento de las plantas crecidas bajo los diferentes tratamientos.

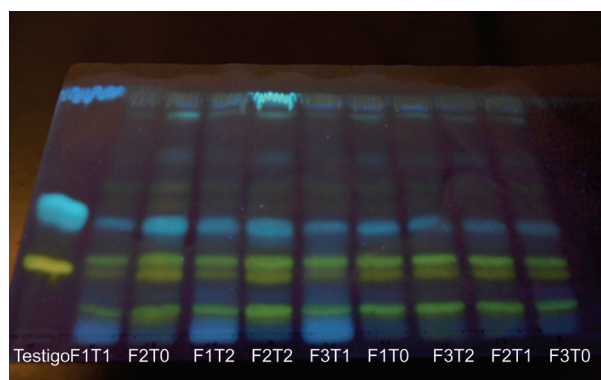
En cambio, Moreira y col. (2005) observaron que la fertilización fosforada aumentó el rendimiento de materia seca aérea y de capítulos de “caléndula”

con dosis de fósforo de 50 a 200 kg/ha. Asimismo, Carbonari Barboza y col. (2009) obtuvieron los mayores rendimientos de materia seca de capítulos florales de “caléndula” con dosis de 40 kg P₂O₅/ha agregado a 8.000 kg de cama de pollo/ha.

La falta de respuesta a la fertilización fosforada sobre los rendimientos de capítulos de *C.officinalis* en los tratamientos ensayados en este trabajo podría atribuirse a la carencia de otros nutrientes (Echeverría y García, 2005; García-Serrano Jiménez y col., 2010). Por otra parte, los mayores rendimientos en las fechas de siembra de mayo y junio coinciden con lo informado por Berimavandi y col. (2011) y Berti y col. (2003).

Todos los tratamientos ensayados cumplieron con el perfil cromatográfico cualitativo de *C. officinalis* descrito por la Farmacopea Argentina (2011) (Figura 2).

Figura 2.- Cromatograma de los tratamientos de *Calendula officinalis*



Fechas de siembra: **F1**, 13/5/11; **F2**, 10/6/11; **F3**, 8/7/11.
Fertilización fosforada: **T0**, 0 Kg/ha; **T1**, 50 Kg/ha; **T2**, 100 Kg/ha de fertilizante fosforado.

Respecto al contenido de flavonoides totales determinados por espectroscopía UV de los diferentes tratamientos se observaron valores entre 0,19 y 0,56 % (Tabla 2). Los mayores contenidos de flavonoides se registraron en las muestras de las siembras realizadas durante junio (F2), independientemente del tratamiento de fertilización, con valores de 0,44 a 0,56 %.

Tabla 2.- Contenido de flavonoides totales (%) de *Calendula officinalis* bajo cultivo en parcelas experimentales

Tratamiento	Contenido de flavonoides totales (%)
F1T0	0,35
F1T1	0,19
F1T2	0,29
F2T0	0,56
F2T1	0,48
F2T2	0,44
F3T0	0,25
F3T1	0,27
F3T2	0,50

En el caso de los tratamientos con 46 kg P₂O₅/ha de fertilizante (T2), se obtuvieron porcentajes de flavonoides totales superiores a 0,4 % en las siembras de los meses de junio y julio (F3). Los tratamientos de siembra de mayo (F1) presentaron porcentajes de flavonoides totales por debajo de 0,4 % en todos los tratamientos de fertilización (Tabla 2).

Los porcentajes de flavonoides obtenidos en las muestras correspondientes a todos los tratamientos de la fecha de siembra de junio y del tratamiento con fertilizante fosforado (46 kg P₂O₅/ha) de la siembra de julio se encontraron dentro de lo requerido por la Farmacopea Argentina (2011) para la validación del material como droga cruda, con valores de flavonoides totales iguales o mayores que 0,4 %.

Sin embargo, Lastra Valdés y Piquet García (1999) indicaron que ni la fecha de plantación ni el tipo de secado inciden en la presencia de los metabolitos informados para la “caléndula”.

Este estudio permitió obtener datos preliminares sobre el efecto de la época de siembra y fertilización del cultivo de “caléndula” en el partido de Luján y alrededores. A pesar de que se continuarán realizando repeticiones y nuevos ensayos que permitan recabar mayor información acerca de esta cuestión para la zona, es recomendable la siembra durante el mes de junio para obtener mayores rendimientos de materia prima con calidad farmacopeica.

Considerando que no se han observado diferencias significativas respecto a la fertilización, y con el fin de disminuir costos de cultivo, es aconsejable no aplicar fertilización fosforada para las condiciones de cultivo ensayadas.

Referencias bibliográficas

- Acosta de la Luz, L.; Rodríguez Ferradá, C.; Sánchez Govín, E. (2001). "Instructivo técnico de *Calendula officinalis*". *Rev. Cubana Plant. Med.* 23(1): 23-27.
- Águila Gil, B.; Menéndez Castillo, R.; González Roque, C.; Fernández Fernández, D. (2000). "Extracto acuoso de *Calendula officinalis*: estudio preliminar de sus propiedades". *Rev. Cubana Plant. Med.* 5(1): 30-31.
- Barboza, G.; Cantero, J.; Núñez, C.; Pacciaroni, A.; Ariza Espinar, L. (2009). "Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora". *Kurtziana* 34(1-2): 7-365.
- Berimavandi, A.R.; Hashemabadi, D.; Ghaziani, M.V.F.; Kaviani, B. (2011). "Effect of density and sowing date on the growth, flowering and quality of essential oil of *Calendula officinalis* L.". *J. Med. Plants Res.* 5(20): 5110-5115.
- Berti, D.; Wilckens R.E.; Hevia, H.F.; Montecinos, A. (2003). "Influencia de la fecha de siembra y de la procedencia de la semilla en el rendimiento de capítulos de *Calendula officinalis* L., durante dos temporadas en Chillán". *Agric. Téc.* 63(1): 3-9.
- Bianco, C.A.; Kraus, T.A.; Núñez, C.O. (2006). *Botánica Agrícola*. 2ª Ed. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba. 486 pp.
- Cañigual, S.; Dellacassa, E.; Bandoni, A. (2003). "Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo?". *Acta Farm. Bonaerense* 22(3): 265-278.
- Carbonari Barboza, V.; Vieira, M.C.; Heredia Zárate, A.; Botega, S.P.G.; De Souza Padilha, N.; Leite Paes, C. (2009). "Produção de biomassa de *Calendula officinalis* L. adubada com fósforo e cama-de-frango". *Ciênc. Agrotec.* 33(2): 478-483.
- Echeverría, H.; García, F. (2005). *Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos*. INTA. Ediciones INTA. 595 pp.
- Farnsworth, N. (1988). "Screening plants for new medicines". En: *Biodiversity*. E. O. Wilson (ed.). National Academy Press. Washington, EE UU.: 83-97.
- Farmacopea Argentina. (2011). VIII edición. Editada por el Ministerio de Salud de la Nación (ANMAT). Argentina. <http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/octavaedicion/TercerVolumen.pdf> [Consulta: 13 de marzo de 2012].
- Fuentes Fiallo, V.; Lemes Hernández, C.M.; Reyes, M.; Méndez Jorrín, G.; Alfonso Borrego, J.C.; Rodríguez Ferradá, C.A. (2000). "Comparación entre 2 cultivares de *Calendula officinalis* L.". *Rev. Cubana Plant. Med.* 5(1): 14-16.
- Fundación para la Innovación Agraria (FIA). (2003). *Plantas medicinales y aromáticas evaluadas en Chile*. Santiago de Chile, Chile. 315 pp.
- Furlan, M.R. (2005). *Cultivo de plantas medicinais*. SEBRAE/MT. Cuiabá, Brasil. 140 pp.
- Ganjali, H.R.; Ayeneh Band, A.; Heidari Sharif Abad, H.; Moussavi Nik, M. (2010). "Effects of sowing date, plant density and nitrogen fertilizer on yield, yield components and various traits of *Calendula officinalis* L.". *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 9(2): 149-155.
- García-Serrano Jiménez, P.; Lucena Marotta, J. J.; Ruano Criado, S.; Nogales García, M. (2010). *Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid, 120 pp.
- Gattuso, S.; Busilacchi, H.; Severin, C.; Gattuso, M.; Giubileo, G.; Aguirre, A. (2004). Domesticación de especies vegetales nativas utilizadas como medicamentos fitoterápicos. <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/14/4AM14.htm> [Consulta: 20 de agosto de 2012].
- Grant, C.A.; Flaten, D.N.; Tomasiewicz, D.J.; Sheppard, S.C. (2001). "The importance of early season phosphorus nutrition". *Can. J. Plant Sci.* 81(2): 211-224.
- Hurrell, J.L.; Bazzano, D.H.; Delucchi, G. (2006). *Dicotiledóneas Herbáceas I. Nativas y exóticas*. Editorial LOLA. Buenos Aires. 287 pp.
- Koefender, J.; Streck, N.A.; Buriol, G.A.; Trentin, R. (2008). "Estimativa do filocrono em calêndula". *Ciênc. Rural* 38(5): 1246-1250.
- Lastra Valdés, H.; Piquet García, R. (1999). "*Calendula officinalis* L.". *Rev. Cubana Farm.* 33(3):188-94.
- Lorenzi, H.; Abreu Matos, F. J. (2008). *Plantas medicinais no Brasil*. 2ª ed. Instituto Plantarum. Brasil. 576 pp.
- Martínez, J.S.; Bernal, H.Y.; Cáceres, A. (eds.). (2000). *Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo Plantas Medicinales Iberoamericanas*. CAB-CYTED. Bogotá, 536 pp.

- Moore, T.; Sánchez Villarreal, L.P.; Desmarchelier, C. (2006). *Manual de cultivo y producción de Calendula*. Municipalidad de Malvinas Argentinas, Provincia de Buenos Aires. Proyecto de atención primaria de la salud con plantas medicinales y fitomedicamentos. Asociación Argentina de Fitomedicina - Centro Orientamento Educativo - (Italia). 24 pp.
- Moreira, P.A.; Marchetti, M.E.; Vieira, M.C.; Novellino, J.O.; Gonçalves, M.C.; Robaina, A.D. (2005). "Desemvolvimiento vegetativo e teor foliar de macronutrientes da caléndula (*Calendula officinalis* L.) adubada com nitrogenio e fósforo". *Rev. Bras. Plantas Med.* 8(1): 18-23.
- Muley, B.P.; Khadabadi, S.S.; Banarase, N.B. (2009). "Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn. (Asteraceae)": A review. *Trop. J. Pharm. Res.* 8(5):455-465.
- Muñoz Centeno, L.M. (2004). "Plantas medicinales españolas. *Calendula officinalis* L. (Asteraceae)". *Medicina Naturista* 5: 257-261.
- Ocampo, R.A. (2007). *Manual de agrotecnología de plantas medicinales nativas*. Ed. Sanabria. Costa Rica. 144 pp.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2008). *Nota descriptiva N° 134*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/es/> [Consulta: 5 de septiembre de 2011].
- Sainz Rozas, H.; Etcheverría, H.E.; Angelini, H. (2011). "Fósforo extractable en suelos agrícolas de las regiones pampeana y extrapampeana de Argentina". *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica* 4:14-18.
- Sharapin, N. (2000). "Materias primas vegetales para la industria de productos fitoterápicos". En: *Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Martínez, J. S., Bernal, H. Y. y Cáceres, A. (eds.). CAB-CYTED. Bogotá: 67-76.
- Verpoorte, R.; Kim, H.K.; Choi, Y.H. (2006). "Plants as source of medicines". En: *Medicinal and Aromatic Plants*. Bogers, R. J.; Craker, L. E. y Lange, D. (eds.). Ed. Springer. Holanda: 261-273.
- Zuloaga, F.O.; Morrone, O. (1999). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II. Acanthaceae-Euphorbiaceae y Fabaceae-Zygophyllaceae*. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 74: 1-1269.