

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar



Dissertação

**Avaliação do perfil químico do óleo essencial de populações espontâneas de
Tagetes minuta L. (Asteraceae) na região sul do Rio Grande do Sul**

Fabiane Tavares Gomes

Pelotas, 2017

Fabiane Tavares Gomes

**Avaliação do perfil químico do óleo essencial de populações espontâneas de
Tagetes minuta L. (Asteraceae) na região sul do Rio Grande do Sul.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Dr. Gustavo Schiedeck

Co-Orientador: Dr. Carlos Rogério Mauch

Co-Orientadora: Dr^a. Patrícia Braga Lovatto

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

G633a Gomes, Fabiane Tavares

Avaliação do perfil químico do óleo essencial de populações espontâneas de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) na região do Rio Grande do Sul. / Fabiane Tavares Gomes ; Gustavo Schiedeck, orientador ; Carlos Rogério Mauch, Patrícia Braga Lovatto, coorientadores. — Pelotas, 2017.

45 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Plantas bioativas. 2. Fitoquímica. 3. Quimiotipos. 4. Composição química. I. Schiedeck, Gustavo, orient. II. Mauch, Carlos Rogério, coorient. III. Lovatto, Patrícia Braga, coorient. IV. Título.

CDD : 634.25

Fabiane Tavares Gomes

Avaliação do perfil químico do óleo essencial de populações espontâneas de
Tagetes minuta L. (Asteraceae) na região sul do Rio grande do Sul.

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em
Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola
Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 25 de agosto de 2017

Banca examinadora:

Prof. Dr. Gustavo Schiedeck (Orientador)
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Márcio Paim Mariot
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Paulo Roberto Grolli
Doutor em Ciências da Produção Vegetal pela Universidade de Pisa/Itália

Aos meus pais, Flávio Antônio Gomes (*in memoriam*)
e Maria Corina do Nascimento Tavares, aos meus
irmãos Cristiane, Cristiano, Daiane e Eduarda,
alicerces da minha vida. Dedico.

Agradecimentos

A Deus pai nosso criador, fonte de fé e esperança que com sua bondade, guia nossos passos e ilumina os nossos caminhos.

Aos meus guias espirituais pela força, clareza e a proteção.

A minha mãe que me ensinou a nunca desistir dos meus sonhos por mais que a caminhada para alcançá-los seja dolorosa e ao meu pai (*in memoriam*) que mesmo não estando entre nós sei que está muito feliz com a minha conquista.

Aos meus irmãos Cristiano, Cristiane, Daiane e Eduarda pela força e incentivo.

Ao meu orientador Gustavo Schiedeck pela paciência, ajuda e dedicação com o meu trabalho e aos meus co-orientadores Carlos Mauch e Patricia Lovatto por acreditarem no meu trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas.

À CAPES pela bolsa concedida

À Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata, pela oportunidade concedida ao aprimoramento profissional e realização dos trabalhos, disponibilizando infraestrutura e mão-de-obra.

Aos funcionários da Estação Experimental Cascata, Alexandre Teixeira e Everton Neumann pelo apoio no desenvolvimento da minha pesquisa.

Aos meus colegas da Estação experimental Cascata, Reges Echer, Gabriela Olanda, Calisc Trecha, Volnei Zibetti, Diônvera Coelho, Rudinei de Marco.

Como diria Machado de Assis: “Abençoados os que possuem amigos, os que os têm sem pedir; Porque amigo não se pede, não se compra, nem se vende; Amigo a gente sente”. E eu tenho os melhores amigos!

As minhas amigas Cintia Garcia, que sempre aparece para me salvar, e Rafaela Schmidt, minha parceira de indiada em busca da tão sonhada proficiência em inglês. Aos meus amigos Camila Medeiros, Eduarda Gomes, Louise Ribeiro, Thamires Ribeiro, Priscila Lúcio, Mauricio Bilharva, Rafaela Schmidt, por toda ajuda, e principalmente por nunca me deixarem desistir. E em especial ao meu grande amigo Willian Jandrey que no momento, me faltam palavras para agradecer tamanha ajuda, foram vários finais de semanas de estudo regado a chimarrão e guloseimas.

A todos meu muito obrigado!

Resumo

GOMES, Fabiane Tavares. **Avaliação do perfil químico do óleo essencial de populações espontâneas de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) na região do Rio Grande do Sul.** 2017. 45f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A *Tagetes minuta* L. é uma planta bioativa de ocorrência espontânea no Sul do Brasil, conhecida pelos agricultores familiares por ser uma espécie invasora e frequentemente usada como repelente de insetos. Contudo, pode se tornar uma nova alternativa de renda uma vez que seu óleo essencial possui propriedades de interesse na indústria de fármacos, cosméticos, alimentos e bioinsumos agrícolas. O objetivo do trabalho foi caracterizar o óleo essencial de populações espontâneas de *T. minuta* em municípios do sul do Rio Grande do Sul, tentando identificar a ocorrência de quimiotipos e fatores de variabilidade na sua composição. Foram coletadas plantas de seis populações de *T. minuta* entre abril e maio de 2015, quando as plantas estavam em plena floração. O óleo essencial foi extraído de flores e folhas com pecíolos por arraste a vapor e analisado por CG-EM/CG-DIC. Foram identificados 15 compostos, sendo que todos as populações tiveram os mesmos compostos majoritários, cis-tagetona, cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, trans-tagetona e limoneno, que em média representaram 96% da composição do óleo. As populações fazem parte de um mesmo quimiotipo. As variações na proporção entre os compostos majoritários permitiu agrupar as populações em três grupos, sendo o primeiro com três amostras e 96% de similaridade, o segundo com duas amostras e 86% de similaridade e uma última amostra isolada, com 74% e 79% de similaridade com as duas anteriores respectivamente. As primeiras populações colhidas apresentaram maiores teores de dihidrotagetona e limoneno enquanto aquelas colhidas mais tardiamente tiveram teores mais elevados de cis-tagetona e cis- β -ocimeno. A data de colheita foi um fator determinante na proporção entre os compostos majoritários e apresentou uma correlação negativa com a temperatura média do ar. A ocorrência de elevada precipitação pluviométrica nos dias anteriores à colheita pode ter interferido na composição do óleo de pelo menos uma população. A radiação solar teve correlação positiva com os teores de cis-tagetona e cis- β -ocimeno e negativa com dihidrotagetona e limoneno. Finalizando, o óleo essencial é similar entre as diferentes populações de *T. minuta* avaliados e tende a apresentar uma composição uniforme dos compostos majoritários, com variações nas suas proporções devido ao estágio fenológico no momento da colheita.

Palavras-chave: plantas bioativas; fitoquímica; quimiotipo; composição química

Abstract

GOMES, Fabiane Tavares. **Evaluation of the chemical profile of the essential oil of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) native populations in the south of Rio Grande do Sul.** 2017. 45f. Dissertation (Master Degree in Agronomy) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Tagetes minuta L. is a bioactive plant of spontaneous occurrence in the South of Brazil, known to family farmers as an invasive species and frequently used as an insect repellent. However, it can become a new income alternative since its essential oil has properties of interest in the pharmaceutical, cosmetic, food and agricultural bioproducts industry. The aim of this work was to characterize the essential oil of spontaneous populations of *T. minuta* in municipalities of southern of the Rio Grande do Sul State, trying to identify the occurrence of chemotypes and variability factors in their composition. Plants of six populations of *T. minuta* were collected between April and May 2015, in the full flowering. The essential oil was extracted from flowers and leaves with petioles by steam-drag and analyzed by GC-MS/GC-FID. Fifteen compounds were identified, and all the populations had the same major compounds, cis-tagetone, cis- β -ocimene, dihydrotagetone, trans-tagetone and limonene, which on average represented 96% of the oil composition. The populations are of the same chemotype. Variations in the proportion of the major compounds allowed grouping the populations into three groups, the first with three samples and 96% similarity, the second with two samples and 86% similarity, and the last sample isolated, with 74% and 79% of similarity with the two previous ones respectively. The first populations harvested had higher levels of dihydrotagetone and limonene whereas those harvested later had higher levels of cis-tagetone and cis- β -ocimene. The date of harvest was a determinant factor in the proportion between the major compounds and presented a negative correlation with the mean air temperature. The occurrence of high rainfall in the days prior to harvest may have interfered in the oil composition of at least one population. The solar radiation had a positive correlation with the contents of cis-tagetone and cis- β -ocimene and negative with dihydrotagetone and limonene. Finally, the essential oil is similar among the different populations of *T. minuta* evaluated and tends to present a uniform composition of the major compounds, with variations in their proportions due to the phenological stage at the time of harvest.

Key words: bioactive plants; phytochemistry; chemotype; chemical composition

Lista de Figuras

Figura 1	Ramo de <i>Tagetes minuta</i> L. com capítulos florais. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.....	16
Figura 2	Imagem dos locais de coleta dos acessos. Março/2016.....	19
Figura 3	Escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) dos locais de acessos de <i>Tagetes minuta</i> L. (S, R, T, K, T e L), valor de stress (standardized residual sum of squares) e índice de similaridade entre as amostras, utilizando o índice de Bray-Curtis.....	29
Figura 4	Análise de componentes principais de amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. de diferentes acessos (R, S, C, K, T e L), considerando apenas com os compostos majoritários com percentual acima de 1%, incluindo dados climáticos como variáveis explicativas. Pelotas, RS, abril a maio de 2015. DC, data da coleta; Tm (DC), temperatura média do ar na data da coleta; RS (\sum DC), radiação solar total no dia da coleta ($\text{cal cm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$); PP (\sum 2+DC), precipitação pluviométrica acumulada nos dois dias anteriores e no dia da coleta.....	31

Lista de Tabelas

Tabela 1	Localização e descrição dos locais de coleta dos acesso de <i>T. minuta</i> L.....	19
Tabela 2	Composição química do óleo essencial de diferentes acessos de <i>Tagetes minuta</i> L., obtidos por arraste a vapor de folhas, flores e ramos secundários, coletadas entre 15 de abril a 13 de maio de 2015, Pelotas, RS. Valor entre parênteses representa o erro padrão da média.....	23
Tabela 3	Atendimento do óleo essencial de diferentes acessos de <i>Tagetes minuta</i> L. coletados em municípios do sul do Rio Grande do Sul às especificações de qualidade do produto preconizadas pelo Centro para a Promoção de Importações, Ministério de Negócios Estrangeiros da Holanda.....	25

Sumário

1 Introdução	11
2 Revisão da Literatura	13
2.1 Importância das plantas bioativas na agricultura familiar	13
2.2 Aspectos ecológicos e fitoquímicos de <i>Tagetes minuta</i> L.	15
3 Material e métodos	18
3.1 Coleta de plantas de populações de <i>T. minuta</i> L.	18
3.1.1 Extração de óleo essencial dos acessos	20
3.1.2 Análise fitoquímica dos óleos essenciais	20
3.2 Procedimento estatístico	21
4 Resultados e discussão.....	22
4.1 Análise do óleo essencial de <i>Tagetes minuta</i> L. de diferentes acessos.....	22
5 Conclusão	34
Referências	35
Anexos	44

1 Introdução

Desde a antiguidade as plantas bioativas têm sido utilizadas pela humanidade tanto por suas propriedades medicinais quanto em atividades de cunho místico-religioso. Porém, também podem apresentar outras propriedades tais como aromáticas, condimentares, tóxicas, alucinógenas, repelentes e inseticidas (CORRÊA JÚNIOR; SALGADO, 2011). Nos últimos anos, sua aplicação na área agrícola tem ganhado muito espaço nos meios científicos (SCHIEDECK, 2008).

Sua utilização em determinadas práticas agrícolas, faz com que se tornem fundamentais nos sistemas de produção agroecológicos, aos quais podem proporcionar benefícios aos cultivos (GARCIA et al., 2010).

Os óleos essenciais de plantas bioativas têm sido amplamente investigados como alternativa ao uso de agrotóxicos sintéticos por serem um recurso natural facilmente disponível, mas que pode se esgotar se for explorado sem moderação (MARANGONI; DE MOURA; GARCIA, 2012; ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2014).

Em muitos agroecossistemas, diferentes espécies de plantas bioativas podem ser utilizadas diretamente em práticas de manejo, como por exemplo, na formação de bordaduras para proteção de cultivos ou na aplicação de caldas e extratos que auxiliam na proteção das plantas contra insetos e micro-organismos (PERES et al., 2009).

A *Tagetes minuta* L. é uma espécie bioativa que pertence à família Asteraceae, sendo popularmente conhecido no Sul do Brasil como chinchilho, cravo-de-defunto, picão do reino, vara-de-rojão, rabo-de-foguete, erva fedorenta e calêndula selvagem (SCHIAVON, 2011). É uma planta nativa da América do Sul que ocorre espontaneamente em alguns países, como Argentina, Bolívia, México, Paraguai e Brasil (LOVATTO; SCHIEDECK; MAUCH, 2013; SIGNORINI et al., 2016). A espécie é bem adaptada às condições climáticas do Rio Grande do Sul devido sua origem de clima temperado (MEDEIROS, 2015). Seu ciclo nestas condições é de aproximadamente de 120 a 150 dias, vegetando nas estações de primavera e verão e florescendo no final do verão, o que resulta na atração de diversas espécies de insetos (KRUG, 2007).

É uma espécie que possui diversas propriedades biológicas, entre as quais, antibacteriana, nematicida, fungicida e inseticida. Essas propriedades são de grande

importância econômica na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, que a utiliza para a extração do óleo essencial, o qual apresenta como compostos majoritários o limoneno, ocimeno, dihidrotagetona e tagetona que compreendem aproximadamente 70% dos componentes totais (ANDREOTTI et al., 2013).

Alguns estudos relatam a eficiência do óleo essencial de *T. minuta* L. no controle de patógenos como a requeima da batata (*Phytophthora infestans*), reduzindo a severidade da doença (PEREIRA et al., 2013), no controle do carrapato bovino (*Rhipicephalus microplus*), com eficiência de até 98% de mortalidade, conforme a concentração utilizada (ANDREOTTI et al., 2013). O extrato da planta, que é outra forma de utilização, também é relatado com ação no controle de *Meloidogyne incognita* em raízes de tomateiro (JUNGES et al., 2009), e com influência na população de afídeos em hortaliças (LOVATTO; SCHIEDECK; MAUCH, 2013).

Embora seja uma planta de ocorrência comum e bastante conhecida pelos agricultores familiares no sul do Rio Grande do Sul, o aproveitamento em maior escala de *T. minuta* L., seja para o desenvolvimento de produtos alternativos ou no manejo de insetos, ainda é pouco difundido (CHAMORRO et al., 2008; SCHIAVON et al., 2015). Há uma grande lacuna de informações quanto à composição fitoquímica em diferentes condições de ocorrência e sobre a existência de quimiotipos. O quimiotipo é uma variação intraespecífica e, por isso, o estudo aprofundado do perfil químico das populações nativas de *T. minuta* em cada região de ocorrência é uma investigação preliminar muito importante (CHAMORRO et al., 2012).

Neste sentido, a pesquisa teve como objetivo avaliar a composição fitoquímica do óleo essencial de populações espontâneas de *T. minuta* L. coletados em municípios do sul do Rio Grande do Sul e identificar fatores associados à sua variabilidade.

2 Revisão da Literatura

2.1 Importância das plantas bioativas na agricultura familiar

A agricultura é praticada há 10 mil anos e, apesar de nesse período ter havido grandes transformações, ela foi desenvolvida de forma muito parecida com a que os índios ainda praticam ou com a que praticavam os colonos até há bem pouco tempo (CAPORAL; PAULUS; COSTABEBER, 2009).

A agricultura foi concebida em torno de dois objetivos: a maximização da produção e do lucro. Buscando estes objetivos certas práticas foram desenvolvidas sem a preocupação das consequências a longo prazo, e sem considerar a dinâmica ecológica dos agroecossistemas. Dentre essas práticas está o cultivo intensivo do solo, a monocultura e a aplicação de fertilizante mineral de alta solubilidade (CAPORAL; COSTABEBER, 2004).

Deste modo, os parâmetros da Revolução Verde incorporaram um pacote tecnológico durante a fase de expansão e modernização agrícola onde a preocupação ambiental foi muito pequena, possibilitando que ocorressem grandes impactos ambientais e com graves implicações sociais (RANGEL., 2012). Nesse contexto, foi impulsionado o crescimento das agriculturas de base ecológica e com elas a ampliação da produção orgânica.

As agriculturas de base ecológica são alicerçadas nos preceitos da Agroecologia, ciência que busca integrar os saberes históricos dos agricultores com os conhecimentos de diferentes ciências, permitindo, tanto a compreensão, análise e crítica do atual modelo de desenvolvimento e de agricultura, como o estabelecimento de novas estratégias para o desenvolvimento rural e novos desenhos de agriculturas mais sustentáveis (CAPORAL; PAULUS; COSTABEBER, 2009).

Segundo Altieri (1999), o papel da Agroecologia consiste em reintegrar uma racionalidade ecológica à produção agrícola e em fazer ajustes mais abrangentes que na agricultura convencional, para torná-la ambiental, social e economicamente viável e compatível.

Algumas linhas de pensamento dentro da Agroecologia propõe a utilização dos recursos vegetais encontrados na região como potenciais controladores de insetos (GLIESSMAN, 2000).

As plantas bioativas, como são chamadas, designam aquelas plantas que possuem alguma ação sobre outros seres vivos e cujo efeito pode se manifestar tanto pela sua presença em um ambiente quanto pelo uso direto de substâncias delas extraídas, desde que mediante uma intenção ou consciência humana deste efeito (SCHIEDECK, 2008). Assim, são enquadradas como bioativas as plantas medicinais, aromáticas e condimentares, bem como as plantas tóxicas, alucinógenas, de cunho místico religioso e aquelas utilizadas para a formulação de insumos para a agricultura de base ecológica e para a indústria (LOVATTO; SCHIEDECK; MAUCH, 2013).

Embora as plantas bioativas sejam lembradas mais efetivamente por suas propriedades medicinais, sua aplicação na área agrícola tem ganhado muito espaço nos meios científicos nos últimos anos.

No que se refere a aplicação das plantas bioativas para o manejo de insetos, Garcia (2003) cita que as principais vantagens do uso de plantas inseticidas e repelentes consistem em menor probabilidade de insetos resistentes devido a ocorrência de mais de um princípio ativo, menor toxicidade a mamíferos, compatibilidade com outros métodos de controle, disponibilidade de matéria prima e rápida biodegradação. Esta aplicação consiste em introduzir determinadas espécies no ambiente de cultivo principalmente para atrair inimigos naturais ou repelir insetos indesejados ou ainda para obtenção dos metabolitos secundários que poderão ser utilizados em pulverização para atuar de diferentes formas sobre os insetos (GALLO et al., 2002).

Diversos estudos relacionados as plantas bioativas vêm sendo desenvolvidos em nível mundial com o objetivo de difundir suas aplicações. Arruda et al. (2016) citam que o extrato fresco dos bulbos de alho (*Allium sativum*) *in vitro* possui propriedades antimicrobianas sobre cepas das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e apresenta ação antifúngica sobre *Candida albicans*.

Santos et al. (2011) citam a utilização do extrato da tiririca (*Cyperus rotundus* L.) no enraizamento de estaca de amoreira-preta (*Rubus* spp.), atuando como agente regulador de algumas substâncias do metabolismo vegetal, mas também como enraizador de forma semelhante à utilização de auxinas. Outros estudos demonstram resultados positivos na utilização de extrato de tiririca para o enraizamento de estacas

de cafeeiro e na indução do crescimento radicular dessas estacas em curto intervalo de tempo (SOUZA et al., 2012). Gomes et al. (2008), avaliaram a eficiência do extrato de jambu (*Spilanthes oleracea* L.) no controle do pulgão-das-brássicas (*Brevicoryne brassicae*) na cultura do repolho verde obtendo resultados positivos na redução de infestação dos pulgões na dose de 7,5 mL L⁻¹.

Dentre as plantas bioativas, uma espécie tem despertado grande interesse nos últimos anos a *Tagetes minuta* L., sendo que diversos trabalhos indicam o grande potencial dessa espécie para o manejo de insetos e doenças. Signorini et al. (2016) avaliaram a utilização do extrato aquoso e o óleo essencial de flores e folhas no consumo foliar e sobrevivência larval de *A. monuste orseis* em couve sob condições de laboratório e verificaram que a concentração de 30% (V/V) reduziu significativamente o consumo foliar enquanto o óleo essencial a 1% reduziu a sobrevivência larval do inseto.

Em outro estudo, Batish et al. (2007) avaliaram a eficiência do pó das folhas de *Tagetes minuta* L. no controle de *Echinochloa galli* e *Cyperus rotundus* na cultura do arroz, demonstrando seu efeito como bioherbicida.

2.2 Aspectos ecológicos e fitoquímicos de *Tagetes minuta* L.

A *Tagetes minuta* L. pertence à família Asteraceae, que compreende 1.600 gêneros e 25.000 espécies, sendo que no Brasil são conhecidos 180 gêneros e 1.900 espécies. Dentro do gênero *Tagetes* são ainda muito conhecidas as espécies *T. erecta*, *T. lunata*, *T. patula*, *T. tenuifolia*, especialmente por seu potencial ornamental (LIMA; CARDOSO, 2007).

A *T. minuta* L., popularmente conhecida na Região Sul do Brasil como chinchilho, cravo-de-defunto, picão do reino, vara-de-rojão, rabo-de-foguete, erva fedorenta e calêndula selvagem, entre outros, é nativa da América do Sul, onde se encontra aclimatada perfeitamente, tendo se tornado subespontânea (MOREIRA et al., 2005).

O epíteto “minuta” faz referência ao tamanho das flores que são muito pequenas quando comparadas com o tamanho da planta (SOUZA et al., 2000). Na Figura 1 é mostrado um ramo de *T. minuta* em florescimento.



Figura 1. Ramo de *Tagetes minuta* L. com capítulos florais. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016

A planta se caracteriza como um subarbusto anual, de porte ereto e pouco ramificado, com um a dois metros de altura. As folhas são compostas e as inflorescências na forma de capítulos amarelos, reunidos em capítulos. Multiplica-se facilmente por sementes e cresce naturalmente a partir da primavera, de forma espontânea em lavouras anuais ou perenes (LORENZI; MATOS, 2008). Nas condições climáticas do Rio Grande do Sul apresenta germinação na primavera e no verão, com ciclo em torno de 120 a 150 dias e a floração ocorrendo principalmente no final do verão, atraindo diversas espécies de insetos inclusive, abelhas (KRUG, 2007). Também é considerada como aromática, podendo atrair insetos benéficos para os cultivos, favorecendo a multifuncionalidade das plantas dentro dos sistemas de produção. Além disso, é rica em óleos essenciais muito utilizados na indústria farmacêutica, produtos cosméticos, perfumes, aromatizantes, entre outros (SHAHZADI, 2010).

Na medicina popular a *T. minuta* L. é utilizada como diurético, antiespasmódico para tratar problemas gastrointestinais, para infecções no peito e tosse, depurativo do sangue, pele e feridas, derrame e convulsões, sedativo, febrífugo, contra amenorreia e vermífugo, picadas de cobras e insetos (SOUZA, 2010).

3 Material e métodos

3.1 Coleta de plantas de populações de *T. minuta* L.

As plantas de *T. minuta* foram coletados em propriedades agrícolas familiares localizadas nos municípios de Arroio do Padre, Canguçu, Morro Redondo e Piratini. O local foi definido através da indicação dos agricultores sobre a ocorrência na espécie nas propriedades, a nomenclatura foi definida através do sobrenome dos proprietários.

A coleta dos materiais foi realizada através da observação visual prévia das plantas que se apresentavam com no mínimo 50 % dos capítulos florais abertos, foram coletados em média 20 kilos de plantas, sendo realizada a coleta sempre no período da manhã, evitando os dias posteriores as precipitações pluviométricas. As plantas foram encaminhadas para Estação Experimental Cascata- EEC para o processo de separação e logo após a extração do óleo essencial.

Na Tabela 1 são apresentados informações relativas a cada coleta e na Figura 2 é mostrada a imagem espacial dos pontos coleta

Tabela 1. Localização e descrição dos locais de coleta das populações de *T. minuta* L.

Populações	Data	Município	Localidade	Coord. Geográficas	Ambiente de coleta
T	15/abril	Canguçu	Col. Flor da Palma	31°07' S 52°22' W	Lavoura de tabaco
K	16/abril	Morro Redondo		31°31' S 52°37' W	Lavoura de batatas
S	6/maio	Arroio do Padre	Col. Santa Coleta	31° 28' S 52° 23' W	Lavoura de tabaco
L	10/maio	Arroio do Padre		31° 28' S 52° 25' W	Lavoura de tabaco
R	12/maio	Arroio do Padre	Col. Santo Antônio	31° 31' S 52° 25' W	Área adjacente a lavoura de tabaco
C	13/maio	Piratini		31° 38' S 53° 03' W	Lavoura de milho

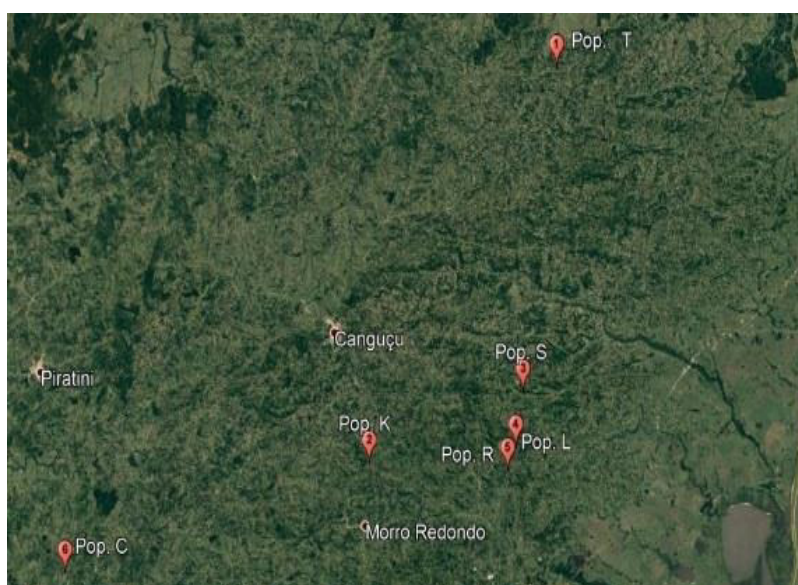


Figura 2. Imagem dos locais de coleta das populações. Março/2016.
Fonte: Google Earth.

3.1.1 Extração de óleo essencial dos acessos

Após as coletas, as plantas dos acessos foram levadas para a Estação Experimental Cascata- Embrapa Clima temperado, para a extração do óleo essencial. O óleo essencial foi obtido a partir de flores, folhas e pecíolos e ramos secundários, sendo retirados os ramos mais lenhosos e o caule principal.

A extração foi realizada por meio de destilação tipo arraste a vapor, em equipamento inox da marca Linax, com capacidade para 20 kg de plantas. Nesse equipamento o vapor é gerado a partir de um compartimento água localizado abaixo da massa vegetal, sem contudo entrar em contato direto com ela. Após a condensação e separação de fases do óleo essencial e da água, o óleo foi centrifugado e em seguida retirada uma alíquota de 2 mL. Essa alíquota foi colocada em vial com identificação do acesso e armazenado em freezer até o envio para a análise fitoquímicas. Para realização deste processo foi utilizado em média 20 kg de plantas.

3.1.2 Análise fitoquímica dos óleos essenciais

A análise fitoquímica do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais, na Embrapa Agroindústria Tropicais, Fortaleza-CE. A identificação dos constituintes do óleo foi realizada em um instrumento CG-EM Agilent 7890B GC/5977A MSD, com impacto de elétrons a 70 eV, modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador com fluxo 1,50 mL min⁻¹, temperatura do injetor 250°C, temperatura da linha de transferência 250°C. A programação do forno cromatográfico seguiu em temperatura inicial de 70°C com rampa de aquecimento de 4°C min⁻¹ até 180°C por 27,5 min, continuada por rampa de aquecimento de 10°C min⁻¹ até 250°C, ao término da corrida (34,5 min). A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecida pelo equipamento (NIST versão 2.0- 287.324 compostos), bem como através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões, e de dados da literatura (ADAMS, 2009). A quantificação foi feita através da

normalização das áreas relativas dos picos, obtidos por cromatografia em fase gasosa acoplada à detector de ionização de chamas (CG-DIC). O equipamento utilizado foi Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna VF-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , Varian), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mL.min⁻¹, temperatura do injetor 250°C, temperatura do detector de 280°C. A programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70°C com rampa de aquecimento de 4°C min⁻¹ até 180°C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 10°C min⁻¹ até 250°C, ao término da corrida (34,5 min). A identificação dos compostos foi realizada por meio da determinação dos seus índices de retenção através da injeção de uma mistura de uma série homóloga de alcanos C₇-C₃₀.

3.2 Procedimento estatístico

As populações de *T. minuta* foram comparadas quanto à similaridade da composição química do seu óleo essencial através da técnica multivariada conhecida como escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS). Para tanto, os dados foram rodados no aplicativo Winkyst do software CANOCO 4.5, usando como índice de similaridade a distância de Bray-Curtis. Em seguida o arquivo foi aberto no software CANOCO 4.5 e procedida a análise NMDS.

A análise componentes principais também realizada com auxílio do software CANOCO 4.5. Nesse procedimento foram utilizadas como variáveis resposta apenas os compostos majoritários o óleo essencial com percentual superior à 1% e consideradas como variáveis explicativas a data da coleta representado pelo dia juliano, a temperatura média do ar no dia da coleta, a radiação solar total no dia da coleta e a precipitação pluviométrica acumulada nos dois dias anteriores e no dia da coleta dos acessos. O valor das variáveis meteorológicas foi obtido no Laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Clima Temperado (Anexo A).

4 Resultados e discussão

4.1 Análise do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes acessos

A análise do óleo essencial de *T. minuta* L. identificou 15 compostos químicos nas seis populações coletadas (Tabela 2).

Cinco compostos, cis-tagetona, cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, trans-tagetona e limoneno, tiveram valor médio superior a 1% e representaram cerca de 96% da composição total do óleo. O perfil fitoquímico do óleo essencial pode ser afetado por um grande número de fatores, tais como estágio de desenvolvimento da planta, condições ambientais e de cultivo, técnicas de colheita e de processamento pós-colheita (GRAVEN et al., 1991; CHALCHAT; GARRY; MUHAYIMANA, 1995; DHAMI; MISHRA, 2015; CORNELIUS; WYCLIFFE, 2016; SOSA et al., 2016). Além desses, o método de extração e os métodos e procedimentos de análise do óleo essencial também contribuem para as variações observadas entre os diferentes estudos (BABU; KAUL, 2007; VÁZQUEZ et al., 2011).

Apesar disso, de forma geral, os compostos majoritários encontrados nas amostras coletadas coincidem com os relatados por outros autores, embora assumindo percentuais e proporções diferentes. Cunha et al. (2016) analisaram o óleo essencial das inflorescências de *T. minuta* coletadas no mês de abril no município de Itaara, RS, e reportaram como majoritários a cis-tagetona (40,37%), trans-tagetona (29,50%), dihidrotagetona (7,57%), ocimeno (6,11%) e limoneno (3,99%). O óleo essencial da parte aérea de *T. minuta* coletado em estágio reprodutivo no mês de março na Província de Tucumán, Argentina, apresentou como majoritários a cis-tagetona (62,4%), cis- β -ocimeno (0,1%), trans- β -ocimeno (16,2%), dihidrotagetona (10,3%), trans-tagetona (2,9%) e o limoneno (1,3%) (LÓPEZ et al., 2011). Em outro estudo também com amostras da Província de Tucumán, o óleo essencial da parte aérea apresentou uma composição bastante semelhante para os majoritários, com 53,2% de cis-tagetona, 19,9% de cis- β -ocimeno, 10,4% de dihidrotagetona, 3,0% de trans-tagetona e 2,4% de limoneno (LIZARRAGA et al., 2017).

Tabela 2. Composição química do óleo essencial de diferentes populações de *Tagetes minuta* L., obtidos por arraste a vapor de folhas, flores e ramos secundários, coletadas entre 15 de abril a 13 de maio de 2015, Pelotas, RS. Valor entre parênteses representa o erro padrão da média.

Composição (%)	IR*	Populações						Média
		T	K	S	L	R	C	
Cis-tagetona	1158	28,29	32,25	43,02	15,10	40,77	39,59	33,17 ($\pm 4,27$)
Cis- β -ocimeno	1039	20,66	28,27	34,61	25,58	35,07	35,07	29,88 ($\pm 2,47$)
Dihidrotagetona	1054	29,49	19,50	11,28	37,59	14,03	14,78	21,11 ($\pm 4,21$)
Trans-tagetona	1148	7,72	5,93	3,89	4,14	3,90	4,45	5,00 ($\pm 0,63$)
Limoneno	1035	9,53	7,53	4,04	12,88	3,33	3,41	6,79 ($\pm 1,59$)
Biciclogermacreno	1510	1,04	1,89	0,54	0,11	0,48	0,36	0,74 ($\pm 0,26$)
Sabineno	981	1,27	0,90	0,54	1,65	0,43	0,46	0,87 ($\pm 0,20$)
Trans- β -ocimeno	1049	0,33	0,45	0,38	0,17	0,39	0,38	0,35 ($\pm 0,04$)
β -cariofileno	1432	0,46	0,99	0,36	0,73	0,35	0,29	0,53 ($\pm 0,11$)
7-epi-silfiperfol-5-eno	1354	0,34	0,89	0,26	0,64	0,32	0,22	0,44 ($\pm 0,11$)
α -cariofileno	1466	0,46	0,90	0,32	0,74	0,30	0,24	0,49 ($\pm 0,11$)
Octanal	1006	0,12	0,14	0,26	0,17	0,29	0,31	0,22 ($\pm 0,03$)
α -felandreno	1012	0,18	0,19	0,27	0,26	0,18	0,27	0,22 ($\pm 0,02$)
Trans-ocimenona	1245	0,11	0,12	0,21	0,09	0,13	0,13	0,13 ($\pm 0,02$)
Etil 2-metilbutirato	948	0,02	0,05	0,02	0,13	0,04	0,04	0,05 ($\pm 0,02$)
Data da coleta		15/abr	16/abr	6/mai	10/mai	12/mai	13/mai	
Dia juliano		104	105	125	129	131	132	
Coord. geográficas		31°07' S 52°22' W	31°31' S 52°37' W	31°28' S 52°23' W	31°28' S 52°25' W	31°31' S 52°25' W	31°28' S 53°03' W	

*IR, índice de retenção relativo aos n-alcenos C₉–C₁₅.

O Centro para a Promoção de Importações, órgão ligado ao Ministério de Negócios Estrangeiros da Holanda, especifica como um óleo de *T. minuta* de boa qualidade aquele que possui a seguinte composição: cis- β -ocimeno (40 a 55%), cis e trans-ocimenona (10 a 30%), dihidrotagetona (5 a 20%), cis e trans-tagetona (5 a 20%) e limoneno (3 a 9%) (CBI, 2015). De forma geral, todas as amostras apresentaram baixos níveis de cis- β -ocimeno e altos níveis de cis e trans-tagetona. As populações K, R, S e C ficaram dentro do limite especificado para dihidrotagetona e limoneno, enquanto a população L atendeu o limite da soma de cis e trans-tagetona (Tabela 3). Esses resultados, em tese, não validam nenhum dos acessos coletados como de bom potencial para o mercado europeu

Dentre os compostos majoritários relacionado pelo CBI (2015), chama a atenção que nas amostras coletadas há baixo valor de trans-ocimenona e a ausência de cis-ocimenona. As ocimenonas (também conhecidas como tagetenonas) são monoterpenos oxigenados diretamente relacionados com diversas atividades biológicas, tais como antioxidante (MAHMOUD, 2013; ALI et al., 2014), agente alelopático (SCRIVANTI; ZUNINO; ZYGADLO, 2003; LÓPEZ; BONZANI; ZYGADLO, 2008), nematocida (MASSUH et al., 2017) e inseticida (TOMOVA; WATERHOUSE; DOBERSKI, 2005).

Muitos estudos revelam a ocorrência de ocimenonas como compostos majoritários no óleo essencial de *T. minuta*, inclusive no Brasil. Em amostras de óleo essencial obtido da parte aérea de *T. minuta* cultivada em Florianópolis, SC, foram identificados como majoritários a cis-tagetona (24,24%), dihidrotagetona (16,65%), cis- β -ocimeno (13,61%), trans-ocimenona (13,52%) e cis-ocimenona (10,06%) (SPERANDIO, 2016). Em outros países, como no lêmem, amostras de óleo obtidas de folhas apresentaram como majoritários a trans-ocimenona (34,8%), a cis-ocimenona (15,9%) e cis- β -ocimeno (8,3%) (ALI et al., 2014), enquanto na Província de Córdoba, Argentina, o óleo da planta inteira teve 32,3% de trans-ocimenona, 20,9% de cis-ocimenona e 9,7% de dihidrotagetona (VÁZQUEZ et al., 2011).

Tabela 3. Atendimento do óleo essencial de diferentes populações de *Tagetes minuta* L. coletados em municípios do sul do Rio Grande do Sul às especificações de qualidade do produto preconizadas pelo Centro para a Promoção de Importações, Ministério de Negócios Estrangeiros da Holanda

Parâmetros CBI	%	Populações					
		T	K	S	L	R	C
Cis- β -ocimeno	40-55	-	-	-	-	-	-
(Cis+Trans)-ocimenona	10-30	-	-	-	-	-	-
Dihidrotagetona	5-20	+	=	=	+	=	=
(Cis+trans)-tagetona	5-20	+	+	+	=	+	+
Limoneno	3-9	+	=	=	+	=	=

Legenda: -, abaixo da especificação; + acima da especificação; =, dentro da faixa especificada.

Singh et al. (2016) sistematizaram informações da composição do óleo essencial de *T. minuta* obtido da planta inteira originário de diferentes países e afirmam que há uma proporcionalidade de 2:1:1:1 entre os compostos majoritários cis- β -ocimeno, cis- e trans-ocimenonas, cis- e trans-tagetonas e dihidrotagetona, respectivamente. Segundo os autores, o óleo produzido no Brasil possui essa mesma ordem decrescente de compostos majoritários e se assemelha aos óleos obtidos na França e Hungria. Contudo, para tal afirmação, o único trabalho referenciado é o estudo pioneiro de Craveiro et al. (1988), que apenas identificaram cis-ocimenona (11,1%) e trans-ocimenona (3,8%), além de ocimeno (48,4%), dihidrotagetona (8,6%), cis-tagetona (7,2%) e trans-tagetona (1,8%), em uma amostra comercial de origem desconhecida, enquanto em acessos naturais coletados em Jacobina, BA, e Triunfo, PE, as ocimenonas sequer foram detectadas.

Independente da variação de concentração e da presença ou não de determinados compostos reportados na literatura consultada ou apontados como indicativo de qualidade, não significa que o óleos caracterizados no presente estudo não possuam ou possuam pouco valor biológico. Por exemplo, ao contrário das ocimenonas e das tagetonas, a dihidrotagetona é estável à luz e à temperatura e, portanto mais interessante para o desenvolvimento de novos produtos na indústria farmacêutica e de perfumaria (JOSHI et al., 2005). Da mesma forma, óleo essencial da folha de *T. erecta* com predominância de cis- β -ocimeno (42,2%) em relação às ocimenonas (11,4%), apresentou significativa atividade antifúngica e inseticida (SINGH et al., 2003). Além disso, diversos trabalhos de revisão têm elencado efeitos biológicos do óleo essencial de *T. minuta* com diferentes composições e proporções dos compostos majoritários nos mais diversos campos de aplicação, como agricultura, veterinária, farmácia, medicina, perfumaria e indústria de alimentos (VASUDEVAN; KASHYAP; SHARMA, 1997; SADIA et al., 2013; SCHIAVON et al., 2015; CORNELIUS; WYCLIFFE, 2016; GAKUUBI et al., 2016; SANTOS et al., 2017).

A explicação para os baixos percentuais de ocimenonas nas amostras analisadas pode estar no conceito de quimiotipo. Populações distintas de uma mesma espécie podem produzir óleo essencial com características diferenciadas tanto por estímulos ambientais quanto por condições geográficas ou geológicas que provocam alterações nos caminhos biossintéticos dentro da sua perspectiva evolutiva (SADGROVE; JONES, 2015). De forma mais simples, um quimiotipo é o fenótipo químico de uma espécie (DESJARDINS, 2008).

A ocorrência de quimiotipos de óleo essencial de *T. minuta* já é conhecida no meio científico (BANSAL et al., 1999; GAKUUBI et al., 2016). Em Madagascar foram identificados dois quimiotipos de *T. minuta* sendo um rico em derivados de tagetonas e outro rico em derivados de terpenos (RAMAROSON-RAONIZAFINIMANANA et al., 2009). Na África do Sul, os marcadores do quimiotipo 1 foram trans-tagetona, dihidrotagetona e cis-tagetona e do quimiotipo 2 foram cis- β -ocimeno, cis- e trans-ocimenona (TANKEU et al., 2013). Amostras do óleo essencial de cultivos no Reino Unido foram ricos em dihidrotagetona e tagetonas enquanto amostras do Egito e África do Sul foram ricos em ocimeno e ocimenonas (SENATORE et al., 2004). Por sua vez, Chalchat et al. (1995), conseguiram agrupar amostras de óleo da França e de Ruanda em quatro grupos: óleos ricos em dihidrotagetona, óleos ricos em tagetona e ocimenona, óleo ricos em ocimenona e óleos com composição heterogênea.

Gil et al. (2000) coletaram sementes de seis acessos de *T. minuta* de diferentes locais da Argentina, cultivaram no mesmo ambiente e conseguiram identificar três quimiotipos de óleo essencial: o quimiotipo 1 onde predominaram cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, cis-tagetona, cis- e trans-ocimenona (entre 10 e 20%) e limoneno; no quimiotipo 2 houve predominância de dihidrotagetona (>50%), mas também com valores elevados de cis- β -ocimeno e cis-tagetona (entre 15 e 20%) e com baixos valores de cis- e trans-ocimenona (<5%); e no quimiotipo 3 predominando trans- β -ocimeno (cerca de 35%) e α -felandreno (cerca de 30%).

Muitos estudos têm demonstrado a grande importância de obter informações a respeito das características gerais, da diversidade e da estrutura genética, bem como, o desempenho de populações de plantas com potencial uso medicinal frente a diferentes condições bióticas e abióticas (ASSIS et al., 2015; HARISH et al., 2014; HOELTGEBAUM et al., 2015; KAHILAINEN; PUURTINEM; KOTIAHO, 2014; SANTANA; TORRES; BENEDITO, 2013).

Em *Chamomilla recutita* L., o teor de α -bisabolol e camazuleno é considerado bastante variável especialmente devido aos quimiotipos da espécie. No Brasil, a camomila pertence a um quimiotipo cuja composição é uma mistura uniforme de outros quimiotipos em outros países (CORRÊA JÚNIOR, 2008). O mesmo autor também informa que há diferença entre adubação mineral e orgânica na produção de capítulos florais de camomila, tampouco na composição química do óleo, sendo exclusividade do fator genético a responsabilidade pela produção de princípio ativo.

Assim, é possível inferir que o óleo obtido nas amostras das seis populações analisadas no presente estudo se enquadram melhor dentro do quimiotipo 2 identificado pelos autores. Apesar das amostras apresentarem uma uniformidade no que diz respeito aos compostos majoritários, corroborando a ideia de se tratar de apenas um quimiotipo, uma análise de ordenação espacial e de similaridade permitiu identificar a ocorrência de três grupos (Figura 3).

Na análise NMDS permite representar as amostras em um espaço de ordenação de múltiplas dimensões preservando a distância com base na similaridade entre elas. O Grupo 1, formado pelas populações S, R e C, apresentou índice de similaridade de 96%, enquanto no Grupo 2, com as populações K e T, esse valor foi de 86%. A população L (Grupo 3), embora distante dos dois grupos, ainda apresentou uma similaridade de 79% com o Grupo 2 e de 74% com o Grupo 1. O baixo valor de stress indica que a análise teve elevada fidelidade e baixa probabilidade de má interpretação da ordenação.

Comparando os resultados da análise NMDS com a imagem dos locais de coleta das populações (Figura 1), se observa que os acessos mais similares não são necessariamente os mais próximos em termos geográficos

Tal constatação demonstra que não apenas as condições ambientais podem influenciar a composição do óleo, mas também outros fatores, como o estágio fenológico da colheita, técnicas de colheita e de processamento pós-colheita devem ser levados em consideração (DHAMI; MISHRA, 2015). Chamorro et al. (2008) não verificaram diferenças entre o óleo proveniente de lugares distintos, mas entre as partes da planta e seu estágio de desenvolvimento. Por sua vez, Kumar et al. (2014) verificaram alterações quando as plantas eram submetidas a diferentes graus de sombreamento e densidade de cultivo.

As populações K e T classificados pela similaridade como grupo 2 possuem distância relativamente longa, sendo a população K inclusive é mais próximo geograficamente das outras populações. Contudo, K e T tiveram sua colheita realizada em abril, respectivamente nos dias 15 e 16 enquanto os demais foram colhidos no mês de maio. A data de colheita, portanto pode ter influenciado a composição do óleo em maior grau do que a própria distância geográfica e condição ambiental.

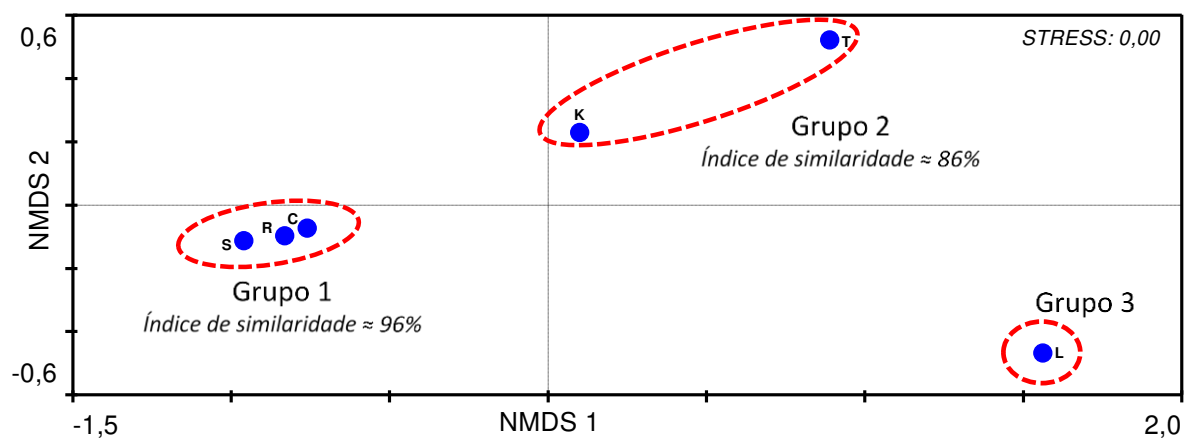


Figura 3. Escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) dos locais das populações de *Tagetes minuta* L. (S, R, T, K, T e L), valor de stress (standardized residual sum of squares) e índice de similaridade entre as amostras, utilizando o índice de Bray-Curtis.

A dissimilaridade da população L em relação as populações do Grupo 1 possui algumas peculiaridades, uma vez que as quatro populações foram colhidos em um intervalo curto de tempo (entre 6 e 13 de maio) e da população L ser geograficamente próximo de S e R, mas distante de C. A população L, ao contrário do demais, foi coletado em uma área adjacente à lavoura onde o banco de sementes de *T. minuta* não foi estimulado a germinar pelo manejo do solo. Esse fato possivelmente atrasou a germinação dessa população, repercutindo no estágio fenológico em relação aos demais acessos coletados no mesmo período. As sementes de *T. minuta*, embebidas e incubadas à 35°C por quatro dias e depois transferidas para 25°C na presença de luz, germinaram na taxa de 100% em 24 horas (FORSYTH; STADEN, 1983). O preparo do solo no início da primavera expõe as sementes à luz e à temperaturas mais elevadas na superfície, que tendem a ser reduzidas por eventuais chuvas, provocando a embebição e criando as condições ideais para germinação. Logo, se pode inferir que a população do acesso L tenha iniciado a germinação após as dos demais populações.

Para verificar como os compostos majoritários com concentração acima de 1% se correlacionaram e contribuíram para explicar as variações entre os acessos de *T. minuta* foi realizada a análise de componentes principais (Figura 4).

A análise componentes principais revelou que os cinco compostos majoritários, cis-tagetona, cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, limoneno e trans-tagetona, explicaram 98,1% da variação existente no óleo essencial dos acessos coletados, 78% dessa variação explicada no componente principal 1 (CP 1) e 21,1% no componente principal 2 (CP 2).

As populações R, S e C foram os que apresentaram os maiores teores de cis-tagetona e cis- β -ocimeno e os menores de dihidrotagetona e limoneno. Já os acessos T e K apresentaram os maiores valores de trans-tagetona. Os valores mais elevados de dihidrotagetona e limoneno ocorreram nos acessos L e T, enquanto o acesso K teve valores próximos à média para esses compostos. O menor valor de cis-tagetona foi verificado no acesso L.

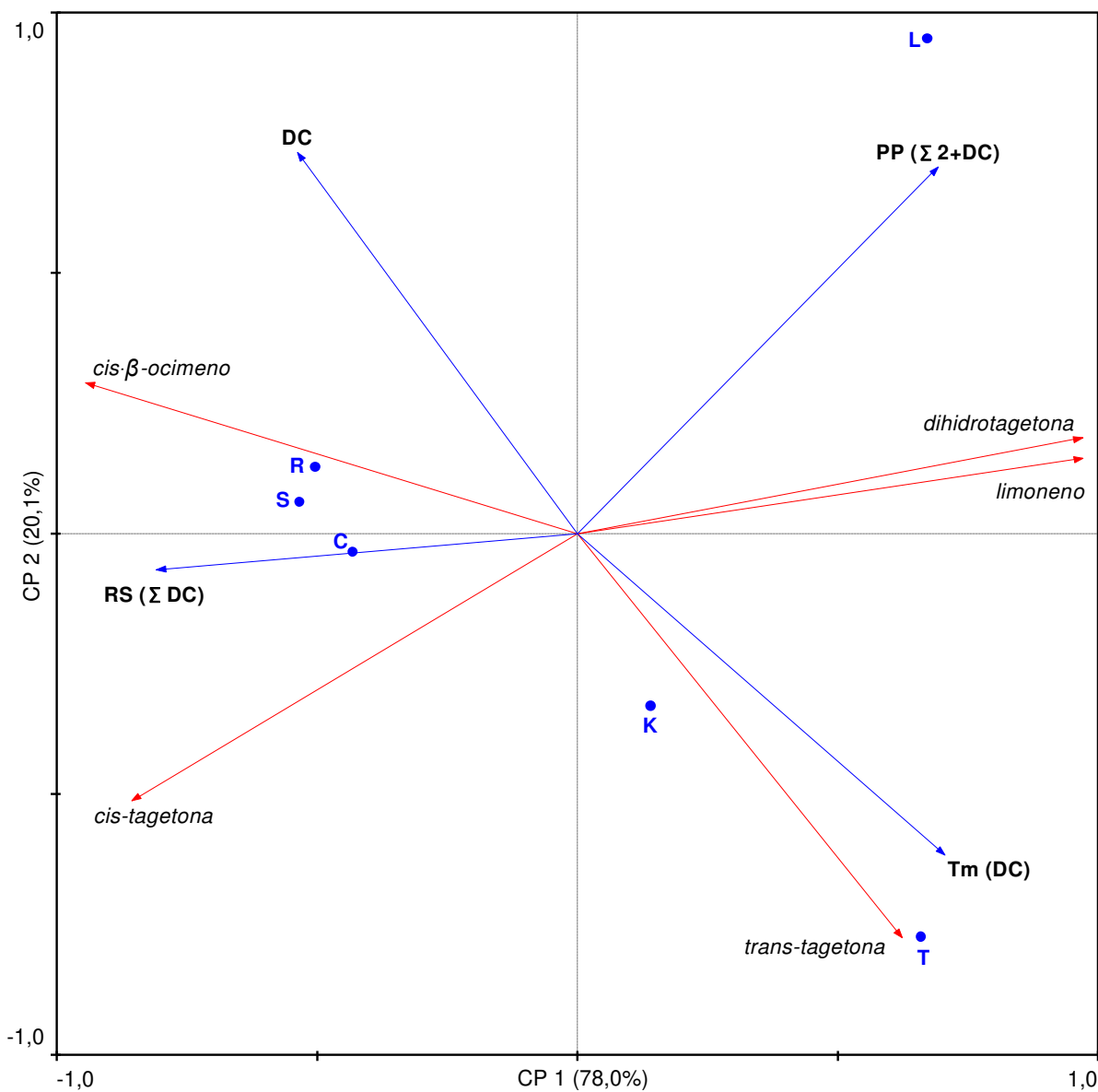


Figura 4. Análise de componentes principais de amostras de óleo essencial de *T. minuta* L. de diferentes populações (R, S, C, K, T e L), considerando apenas com os compostos majoritários com percentual acima de 1%, incluindo dados climáticos como variáveis explicativas. Pelotas, RS, abril a maio de 2015. DC, data da coleta; Tm (DC), temperatura média do ar na data da coleta; RS (Σ DC), radiação solar total no dia da coleta ($\text{cal cm}^{-2} \text{dia}^{-1}$); PP (Σ 2+DC), precipitação pluviométrica acumulada nos dois dias anteriores e no dia da coleta.

As variáveis explicativas, data de coleta, precipitação pluviométrica, radiação solar e temperatura média do ar explicaram 94% das variações na composição dos compostos majoritários do óleo essencial, sendo 77,4% desse valor explicado no CP 1. A data de coleta (DC) apresentou uma correlação positiva com os teores de cis- β -ocimeno, indicando quanto mais tarde ocorreu a coleta, maior foi o teor desse composto. No entanto, o teor de cis- β -ocimeno abaixo da média ocorrido no acesso L, além do possível retardo na germinação mencionado anteriormente, também pode ter sido afetado pela precipitação pluviométrica ocorrida nos dias que antecederam a coleta. Nos três dias que antecederam a coleta a precipitação acumulada foi de 154 mm, muito superior ao que ocorreu no acesso K, por exemplo, que foi de 17 mm.

A relação verificada entre os compostos majoritários no óleo essencial e a data de coleta das populações de *T. minuta* apresentou a mesma tendência encontrada em estudos onde a composição química determinada em estádios fenológicos criteriosamente definidos (MOGHADDAM; OMIDBIAGI; SEFIDKON, 2007; CHAMORRO et al., 2012). Thappa et al. (1993) verificaram que o teor de dihidrotagetona passou de 51% no surgimento dos botões florais para 15% na maturação dos aquênios, ao mesmo tempo em que cis- β -ocimeno passou de 18% para 46%. Conforme Rao et al. (2000), a cis- β -ocimeno aumentou de 3,2% para 23,5% entre fase vegetativa e a formação de sementes enquanto a cis-tagetona passou de 1,9% para 13,5% e a dihidrotagetona de 54,3% para 29%, respectivamente.

O que pode explicar essa correlação inversa entre alguns dos compostos majoritários é o local preferencial de síntese. Cis- β -ocimeno é um composto que ocorre de forma predominante nas flores enquanto a dihidrotagetona ocorre em maior teor nas folhas (CHALCHAT; GARRY; MUHAYIMANA, 1995; CHAMORRO et al., 2008; KUMAR et al., 2012). Assim, à medida que a planta avança em seu estágio vegetativo a relação entre biomassa de folhas e biomassa de flores é reduzida (BANSAL et al., 1999; RAMESH; SINGH, 2008) e, como a produção de óleo nas flores é maior do que nas folhas (KUMAR et al., 2012), a sua composição tende a prevalecer

Os dias com maior valor de radiação solar durante o ciclo da planta se correlacionaram com maiores teores de cis- β -ocimeno e cis-tagetona e menores de dihidrotagetona e limoneno. Kumar et al. (2010) conseguiram verificar que a produção de dihidrotagetona nas folhas e de cis- β -ocimeno nas folhas e nas flores é negativamente afetada pela redução da irradiação, enquanto o limoneno parece não ser muito influenciado.

A temperatura média do ar, por sua vez, foi inversamente correlacionada com a data de coleta, indicando que os maiores teores de trans-tagetona e, em menor grau, de dihidrotagetona e limoneno, ocorreram nas amostras coletadas primeiro e sendo gradativamente reduzidas nas amostras coletadas mais tarde.

5 Conclusão

A análise fitoquímica do óleo essencial das diferentes populações de *Tagetes minuta* L. coletadas permitiu verificar que tratam-se todos do mesmo quimiotipo e que apresentam semelhança com quimiotipos já descritos na Argentina.

As diferenças observadas nas proporções dos cinco compostos majoritários das populações analisadas podem ser atribuídas em grande parte à data de colheita, que, por sua vez, está diretamente relacionada com o estágio de desenvolvimento, especialmente durante a floração.

Referências

ADAMS, R. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography. Mass Spectrometry.** 2 ed. USA: Allured Publishing Corporation p. 5, 1995.

ANDREOTTI, R. et al. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in a cattle pen trial. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 1–2, p. 341–345, 2013.

ALI, N.A.A.; SHAROPOV, F.S.; AL-KAF, A.G.; HILL, G.M.; ARNOLD, N.; AL-SOKARI, S.S.; SETZER, W.N.; WESSJOHANN, L. Composition of essential oil from *Tagetes minuta* and its cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities. **Natural product communications**, v. 9, n. 2, p. 265–8, 2014.

ALTIERI, M.A. **Agroecologia: teoria y aplicaciones para una agricultura sustentable.** Alameda: University California, 1999.

ARRUDA, M.H.L. de et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do alho (*Allium sativum*) in natura. **Acta Scientiae Biological Research**, v. 1, n. 1, 2016.

ASSIS, J. P. et al. Avaliação biométrica de caracteres do melão de São Caetano (*Momordica charantia* L). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, n. 4, p. 505–514, 2015.

BABU, K.G.D.D.; KAUL, V.K.K. Variations in quantitative and qualitative characteristics of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) oils distilled under vacuum and at NTP. **Industrial Crops and Products**, v. 26, n. 3, p. 241–251, 2007.

BANSAL, R.P.; BAHL, J.R.; GARG, S.N.; NAQVI, A. .; SHARMA, S.; RAM, M.; KUMAR, S. Variation in quality of essential oil distilled from vegetative and reproductive stages of *Tagetes minuta* crop grown in North Indian plains. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 6, p. 747–752, 1999.

BATISH, D. R. et al. Potential utilization of dried powder of *Tagetes minuta* as a natural herbicide for managing rice weeds. **Crop Protection**, v. 26, n. 4, p. 566–571, 2007.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. Agroecologia e desenvolvimento rural sustentável: perspectivas para uma nova Extensão Rural. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, v.1, n.1, p.16-37. 2004.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A.; PAULUS, G. **Agroecologia: uma ciência do campo da complexidade**. Brasília: MDS/Embrapa, 2009. **CBI Product Factsheet: *Tagetes minuta* oil in Europe**. [s.l.: s.n.].

CHALCHAT, J.-C.; GARRY, R.-P.; MUHAYIMANA, A. Essential oil of *Tagetes minuta* from Rwanda and France: chemical composition according to harvesting location, growth stage and part of plant extracted. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, n. 4, p. 375–386, 1995.

CHAMORRO, E.R.; BALLERINI, G.; SEQUEIRA, A.F.; VELASCO, G.; ZALAZAR, M.F. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers. **Journal of the Argentine Chemical Society**, v. 96, n. 1–2, p. 80–86, 2008.

CHAMORRO, E.R.; ZAMBÓN, S.N.; MORALES, W.G.; SEQUEIRA, A.F.; VELASCO, G.A. Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography. In: SALIH, B. (Ed.). **Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications**. 1. ed. [s.l.] InTech, 2012. p. 307–324.

CORRÊA JÚNIOR, C.R.; SALGADO, H.R.N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: Revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 13, n. 4, p. 500–506, 2011.

CORRÊA JUNIOR, C. CORREA et al. **O cultivo de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert]**. Curitiba: Emater, 2008.

CORNELIUS, W.W.; WYCLIFFE, W. *Tagetes* (*Tagetes minuta*) oils. In: PREEDY, V. R. (Ed.). **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. [s.l.] Academic Press, 2016. p. 791–802.

CRAVEIRO, A.A.; MATOS, F.-J.-A.; MACHADO, M.I.L.; ALENCAR, J. . Essential oils of *Tagetes minuta* from Brazil. **Perfumer and Flavorist**, v. 13, n. 5, p. 35–36, 1988.

CUNHA, J.A.; BOLZAN, L.P.; FAUSTO, V.P.; SCHEID, G.; SCHEEREN, C.A.; MADALOSSO, R.G.; HEINZMANN, B.M.; GIONGO, J.L.; DE-A VAUCHER, R. Characterization and antifungal activity of the essential oil of *Tagetes minuta* front of the *Cryptococcus* spp. Isolates from the environment. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 3, p. 8–10, 2016.

DESJARDINS, A. E. Natural product chemistry meets genetics: when is a genotype a chemotype? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7587–

7592, 2008.

DHAMI, N.; MISHRA, A.D. Phytochemical variation: How to resolve the quality controversies of herbal medicinal products? **Journal of Herbal Medicine**, v. 5, n. 2, p. 118–127, 2015.

FORSYTH, C.; STADEN, V.A.N. Germination of *Tagetes minuta* L. I. Temperature effects. **Annals of Botany**, v. 52, n. 5, p. 659–666, 1983.

GALLO, D. et al. Entomologia agrícola. Piracicaba: **FEALQ**, v. 10, 2002.

GAKUUBI, M.M.; WANZALA, W.; WAGACHA, J.M.; DOSSAJI, S.F. Bioactive properties of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oils: a review. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, v. 4, n. 2, p. 27–36, 2016.

GARCIA D.A., et al. The essential oil from *Tagetes minuta* L. modulates the binding of [3H] flunitrazepan to crude membranes from chick brain. **Lipids** v. 30, p. 1105–1109, 2003.

GARCIA, L.M.Z. et al. Statistical mixture design: principal component determination of synergic solvent interactions for natural product extractions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 103, n. 1, p. 1–7, 2010.

GIL, A.; GHERSA, C.M.; LEICACH, S. Essential oil yield and composition of *Tagetes minuta* accessions from Argentina. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 261–274, 2000.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Editora da Universidade – UFRGS, 2000.

GOMES, F.B. et al. Use of silicon as inductor of the resistance in potato to *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, n. 37, p. 185–190, 2008.

GRAVEN, E.H.; WEBBER, L.; BENIANS, G.; VENTER, M.; GARDNER, J. B. Effect of soil type and nutrient status on the yield and composition of tagetes oil (*Tagetes minuta* L.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 3, n. 5, p. 303–307, 1991.

HARISH et al. Conservation genetics of endangered medicinal plant *Commiphora wightii* in Indian Thar Desert. *Gene*, v. 535, n. 2, p. 266–272, 10 fev. 2014.

HOELTGEBAUM, M. et al. Diversidade e estrutura genética de populações de *Varronia curassavica* Jacq. em restingas da Ilha de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, n. 4, p. 1083–1090, 2015.

JOSHI, V. P.; SINGH, B.; KAUL, V. K.; MAHMOOD, U. Chemical transformation of 3,7-dimethyl,5-one,1-octene (dihydrotagetone), into new odour molecules. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 6, p. 592–595, 2005.

JUNGES, E. et al. Efeito do extrato aquoso e do óleo essencial de *Tagetes minuta* aplicados ao solo sobre a penetração de J2 de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1627–1630, 2009.

KAHILAINEN, A.; PUURTINEN, M.; KOTIAHO, J. S. Conservation implications of species–genetic diversity correlations. *Global Ecology and Conservation*, v. 2, p. 315–323, 2014.

KRUG, C. **A comunidade de abelhas (Hymenoptera- Apiformes) da mata com araucária em Porto União- SC e abelhas visitantes florais da aboboreira (Cucurbita L.) em Santa Catarina, com notas sobre Peponapis fervens (Eucerini, Apidae)**. 127f. Dissertação (mestrado em ciências ambientais), Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007

KUMAR, R.; RAMESH, K.; PATHANIA, V.; SINGH, B. Effect of transplanting date on growth, yield and oil quality of *Tagetes minuta* L. in Mid Hill of North-Western Himalaya. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 15, n. 3, p. 405–414, 2012.

KUMAR, R.; RAMESH, K.; SINGH, R.D.; PRASAD, R. Modulation of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) phenophases towards the varying temperature regimes: a field study. **Journal of Agrometeorology**, v. 12, n. 2, p. 234–240, 2010.

KUMAR, R.; SHARMA, S.; RAMESH, K.; PATHANIA, V.; PRASAD, R. Irradiance stress and plant spacing effect on growth, biomass and quality of wild marigold (*Tagetes minuta* L.): an industrial crop in western Himalaya. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 5, p. 348–358, 2014.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G. Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. **Revista Fitos**, v. 3, n. 3, p. 14–24, 2007.

LIZARRAGA, E.; MERCADO, M.I.; GALVEZ, C.; RUIZ, A.I.; PONESSA, G.I.; CATALAN, C.A.N. Morpho anatomical characterization and essential oils of *Tagetes terniflora* and *Tagetes minuta* (Asteraeae) growing in Tucumán (Argentina). **Boletín**

de la **Sociedad Argentina de Botánica**, v. 52, n. 1, p. 55–68, 2017.

LÓPEZ, M.L.; BONZANI, N.E.; ZYGADLO, J.A. Allelopathic potential of *Tagetes minuta* terpenes by a chemical, anatomical and phytotoxic approach. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, n. 12, p. 882–890, 2008.

LÓPEZ, S.B.; LÓPEZ, M.L.; ARAGÓN, L.M.; TERESCHUK, M.L.; SLANIS, A.C.; FERESIN, G.E.; ZYGADLO, J.A.; TAPIA, A.A. Composition and anti-insect activity of essential oils from *Tagetes* L. species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 5286–5292, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2 ed., 2008.

LOVATTO, P.B.; SCHIEDECK, G.; MAUCH, C. . Extratos aquosos de *Tagetes minuta* (Asteraceae) como alternativa ao manejo agroecológico de afídeos em hortaliças. **Revista Interciência**, p. 676–680, 2013.

MAHMOUD, G.I. Biological effects, antioxidant and anticancer activities of marigold and basil essential oils. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 10, p. 561–572, 2013.

MARANGONI, C.; DE MOURA, N.F.; GARCIA, F.R.M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, p. 95–112, 2012.

MASSUH, Y.; CRUZ-ESTRADA, A.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; OJEDA, M.S.; ZYGADLO, J.A.; ANDRÉS, M.F. Nematicidal activity of the essential oil of three varieties of *Tagetes minuta* from Argentina. **Natural Product Communications**, v. 12, n. 5, p. 705–707, 2017.

MEDEIROS, C. H. **Alterações bioquímicas e fisiológicas em couve submetidas à aplicação de óleos essenciais e húmus de minhoca**. 2015, 58f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- PPG Sistema de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas, 2015.

MOGHADDAM, M.; OMIDBIAGI, R.; SEFIDKON, F. Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 1, p. 18–20, 2007.

PEREIRA, I. DOS S. Óleo essencial de chinchilho (*Tagetes minuta* L.) como alternativa para o controle de requeima na cultura da batata. **Cadernos de Agroecologia. Anais...**Porto Alegre: VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia, 2013.

PERES, F.S.C. et al. Cravo-de-defunto como planta atrativa para tripses em cultivo protegido de melão orgânico. **Bragantia**, v. 68, n. 4, p. 953–960, 2009.

RANGEL, I. **Questão agrária, industrialização e crise urbana no Brasil**. Editora da UFRGS. Porto Alegre, v. 2. 2012

RAMAROSON-RAONIZAFINIMANANA, B.; RAMANOELINA, P.A.R.; RASOARAHONA, J.R.E.; GAYDOU, E.M. Chemical compositions of aerial part of *Tagetes minuta* L. chemotype essential oils from Madagascar. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 5, p. 390–392, 2009.

RAMESH, K.; SINGH, V. Effect of planting date on growth, development, aerial biomass partitioning and essential oil productivity of wild marigold (*Tagetes minuta*) in mid hills of Indian western Himalaya. **Industrial Crops and Products**, v. 27, n. 3, p. 380–384, 2008.

RAO, E.V.S.P.; PUTTANNA, K.; RAMESH, S. Effect of nitrogen and harvest stage on the yield and oil quality of *Tagetes minuta* L. in tropical India. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 7, n. 3, p. 19–24, 2000.

SADGROVE, N.; JONES, G.A Contemporary introduction to essential oils: chemistry, bioactivity and prospects for Australian agriculture. **Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 48–102, 2015.

SADIA, S.; KHALID, S.; QURESCHI, R.; BAJWA, A.A. *Tagetes minuta* L., a useful underutilized plant of family Asteraceae: a review. **Pakistan Journal of Weed Science Research**, v. 19, n. 2, p. 179–189, 2013.

SANTOS, H. A. A.; SILVA, E. D.; DUBBRSTEIN, D.; DIAS, J. R. M.; LEITE, H. M. F.; MOTA, L. H. S. O. Enraizamento de estacas de cafeeiro imersas em extrato de tiririca. In: VII Congresso Brasileiro de Agroecologia. **Anais...** Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE 2011

SANTOS, D.C. dos; SCHNEIDER, L.R.; BARBOZA, A.S; CAMPOS, A.D.; LUND, R.G. Systematic review and technological overview of the antimicrobial activity of *Tagetes minuta* and future perspectives. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 208, n. June, p. 8–15, 2017.

SANTANA, S. H.; TORRES, S. B.; BENEDITO, C. P. Biometria de frutos e sementes e germinação de melão-de-são-caetano. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n. 2, p. 169–175, 2013.

SCHIEDECK, G. **Aproveitamento de plantas bioativas: Extrategia e alternativa para a agricultura familiar**. 2008 Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/artigo/aproveitamento-de-plantas-bioativas>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

SCRIVANTI, L.R.; ZUNINO, M.P.; ZYGADLO, J.A. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n. 6, p. 563–572, 2003.

SENATORE, F.; NAPOLITANO, F.; MOHAMED, M.A.H.; HARRIS, P.J.C.; MNKENI, P.N.S.; HENDERSON, J. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 19, n. 6, p. 574–578, 2004.

SCHIAVON, D. B. A. **Aplicação de um fitoterápico a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha**. 2011.101f. Tese (PPG veterinária) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

SCHIAVON, D.B.A.; SCHUCH, L.F.D.; FACCIN, Â.; GONÇALVES, C.L.; VIEIRA, V. S.C.; GONÇALVES, H.P. Revisão sistemática de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae): uso popular, composição química e atividade biológica. **Science and animal health**, v. 3, n. 2, p. 192–208, 2015.

SHAHZADI, I. et al. Evaluating biological activities of the seed extracts from *Tagetes minuta* L. found in Northern Pakistan. **Journal of Medicinal Plant Research**.; v 4, n 20 p.2108-2112, 2010.

SIGNORINI, C.B. et al. Influência de extratos e óleos de *Tagetes minuta* (Asteraceae) no consumo foliar e sobrevivência larval de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae). **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, p. 26–33, 2016.

SINGH, G.; SINGH, O.P.; DE LAMPASONA, M.P.; CATALÁN, C.A.N. Studies on essential oils: chemical and biocidal investigations on *Tagetes erecta* leaf volatile oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 1, p. 62–65, 2003.

SINGH, P.; KRISHNA, A.; KUMAR, V.; KRISHNA, S.; SINGH, K.; GUPTA, M.; SINGH, S. Chemistry and biology of industrial crop *Tagetes* species: a review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 28, n. 1, p. 1–14, 2016.

SOSA, M. del C.; SALAZAR, M.J.; ZYGADLO, J.A.; WANNAZ, E.D. Effects of Pb in *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) leaves and its relationship with volatile compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 37–43, 2016.

SOUZA, C. A. S.; AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L.-Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, n. 6, p. 1-9, 2000.

SOUZA, M.F. et al. Efeito do extrato de *Cyperus rotundus* na rizogênese. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, p. 157–162, 2012.

SPERANDIO, J. **Avaliação in vitro do óleo essencial de chinchilho (*Tagetes minuta* L.) no tratamento da mastite bovina**. 2016. 55f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em zootecnia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016.

TANKEU, S.Y.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A.M.; SANDASI, M.; KAMATOU, G.P.P. Essential oil variation of *Tagetes minuta* in South Africa: a chemometric approach. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 51, p. 320–327, 2013.

THAPPA, R.K.; AGARWAL, S.G.; KALIA, N.K.; KAPOOR, R. Changes in chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various stages of flowering and fruiting. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, n. 4, p. 375–379, 1993.

TOMOVA, B.S.; WATERHOUSE, J.S.; DOBERSKI, J. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 115, n. 1, p. 153–159, 2005.

VASUDEVAN, P.; KASHYAP, S.; SHARMA, S. *Tagetes*: a multipurpose plant. **Bioresource Technology**, v. 62, n. 1–2, p. 29–35, 1997.

VÁZQUEZ, A.M.; DEMMEL, G.I.; CRIADO, S.G.; AIMAR, M.L.; CANTERO, J.J.; ROSSI, L.I.; VELASCO, M.I. Phytochemistry of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) from Córdoba, Argentina: comparative study between essential oil and HS-SPME analyses. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 10, n. 4, p. 351–362, 2011.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Potentiality of plants as source of insecticide principles. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 925–938, 2014.

ZYGADLO, J.A.; GROSSO, N.R.; ABBURRA, R.E.; GUZMAN, C.A. Essential oil variation in *Tagetes minuta* populations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 18, n. 6, p. 405–407, 1990.

Anexos

Anexo A – Variáveis climáticas

Variáveis climáticas adquiridas adquirida pela Estação Climatológica localizada na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS (31° 41' S, 52° 26' O, 57 m a.n.m)

Data	Temperatura do ar (°C)			Precipitação pluviométrica (mm)	Umidade relativa do ar (%)	Energia solar (cal cm ⁻² dia ⁻¹)
	Média	Máxima	Mínima			
10-abr-16	20,20	22,90	18,70	2,00	95,30	122,50
11-abr-16	19,60	20,60	19,20	42,40	96,50	61,30
12-abr-16	20,10	21,60	19,00	9,60	94,30	130,40
13-abr-16	22,40	25,40	20,10	4,80	93,50	108,60
14-abr-16	21,90	27,70	18,20	0,00	87,80	348,20
15-abr-16	24,80	32,20	20,40	0,00	87,50	313,40
16-abr-16	29,10	34,70	24,30	0,00	68,90	336,50
17-abr-16	26,60	34,80	21,90	0,00	85,10	276,70
18-abr-16	22,40	24,50	21,40	10,70	97,00	52,60
19-abr-16	23,70	29,50	21,50	29,70	93,60	179,90
20-abr-16	20,20	23,40	18,70	0,00	92,50	98,90
21-abr-16	18,80	22,40	14,90	32,00	96,80	79,90
22-abr-16	18,10	22,50	13,60	0,80	85,60	344,60
23-abr-16	23,50	28,10	19,70	3,00	86,10	290,50
24-abr-16	20,20	22,90	18,60	105,90	97,70	20,60
25-abr-16	18,10	21,20	15,10	23,10	97,10	79,80
26-abr-16	12,40	15,70	9,70	9,90	89,30	140,80
27-abr-16	9,80	13,30	7,70	0,00	75,50	368,70
28-abr-16	9,90	15,60	6,30	0,00	74,20	398,80
29-abr-16	9,80	14,60	6,10	0,00	79,40	181,50
30-abr-16	10,70	15,70	6,90	0,00	81,80	357,70
1-mai-16	10,90	18,60	6,00	0,00	79,80	376,40
2-mai-16	12,40	19,70	7,00	0,00	81,30	307,70
3-mai-16	12,50	14,80	9,90	6,40	92,10	95,20
4-mai-16	12,20	18,10	9,70	0,30	91,80	265,30
5-mai-16	12,90	17,90	8,70	0,30	88,60	294,10
6-mai-16	14,60	18,60	11,30	0,00	90,60	160,20
7-mai-16	16,00	20,70	13,50	0,50	91,30	166,60
8-mai-16	16,30	19,60	14,10	1,00	94,20	134,40
9-mai-16	17,30	18,60	16,30	61,50	97,50	76,00
10-mai-16	17,70	21,80	15,60	1,00	91,80	235,20
11-mai-16	13,10	15,80	10,80	0,00	89,70	69,00
12-mai-16	12,20	16,30	9,50	0,00	81,00	303,50
13-mai-16	13,50	17,60	10,00	0,00	92,40	140,10
14-mai-16	16,20	20,70	13,10	0,00	91,80	184,80
15-mai-16	15,50	16,70	14,00	67,60	97,50	16,50
16-mai-16	12,80	15,60	9,80	0,30	82,30	146,80