

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



Dissertação

**Fenologia e caracterização fitoquímica do
óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae)**

Cristine da Fonseca

Pelotas, 2018

Cristine da Fonseca

**Fenologia e caracterização fitoquímica do
óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae)**

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
Coorientador: Dr. Paulo Roberto Grolli
Coorientador: Dr. Carlos Rogério Mauch

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

F677f Fonseca, Cristine da

Fenologia e caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) / Cristine da Fonseca ; Gustavo Schiedeck, orientador. — Pelotas, 2018.

113 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Chinchilho . 2. Bioprospecção. 3. Fitotecnia. 4. Cultivo. I. Schiedeck, Gustavo, orient. II. Título.

CDD : 665.3

Cristine da Fonseca

**Fenologia e caracterização fitoquímica do
óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae)**

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: 26 de julho de 2018

Banca examinadora:

Dr. Gustavo Schiedeck (Orientador)
Pesquisador da Embrapa Clima Temperado

Prof. Dr^a. Patrícia Braga Lovatto
Escola Família Agrícola da Região Sul

Prof. Dr. Roberto Trentin
(Departamento de Fitotecnia/FAEM/UFPEL)

Dedico este trabalho à minha família, base da minha
essência.

Agradecimentos

A toda minha família, aos meus pais pela educação, exemplo e incentivo que recebi e por todo esforço que fizeram para me proporcionar a educação formal. Aos meus irmãos, Eduardo, Aline e Denise, por toda alegria e felicidade que vivemos juntos, agradeço por todos os trabalhos revisados, os conselhos e confiança nos momentos difíceis da vida. À Helena, minha sobrinha amada que ilumina e aquece meu coração. Ao meu companheiro, Ricardo, por me apoiar nesta jornada.

Ao meu orientador, Dr. Gustavo Schiedeck, pela confiança, orientação, dedicação e amizade construída durante esses dois anos de convivência.

Aos meus co-orientadores, Paulo Roberto Grolli e Carlos Rogério Mauch, pela atenção dispensada.

Um agradecimento especial à Larissa Fonseca Silveira, pela boa vontade e paciência em compreender as características de *Tagetes minuta* L e transformá-la na “cereja do bolo” através da sua habilidade artística. Da mesma forma, agradeço a amizade e contribuição da Roberta Pacheco, que com o seu computador/programas ajustou, colou e fez nascer o conjunto da obra. Nós construímos a primeira escala fenológica de *T. minuta* L.

Aos amigos que o PPGSPAF me proporcionou, em especial à Letícia, à Amanda e ao Willian, pela bondade que há em seus corações, sempre dispostos a colaborar da melhor de forma possível, com total desprendimento e enorme carinho.

À minha irmã de coração, Patrícia Fonseca Duarte, por ler meu trabalho, pelas sugestões, críticas e correção.

Aos colegas e professores do programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas – FAEM/UFPel.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata, pela oportunidade concedida ao aprimoramento profissional e realização dos trabalhos.

A todos os brasileiros que contribuíram com o seu suor para que eu obtivesse a bolsa de estudos da CAPES

Resumo

FONSECA, Cristine da. **Fenologia e caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae)**. 2018. 113f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

As agriculturas de base ecológica têm como pressupostos o conhecimento, o uso e a preservação da biodiversidade local. O Brasil é um país formado por seis Biomas distintos e detentor de ampla biodiversidade e, assim, é fundamental considerar a influência dos fatores ambientais na composição fitoquímica dos óleos essenciais. Não só como um apelo comercial, mas também como uma estratégia de sustentabilidade dos agroecossistemas, o cultivo de plantas aromáticas para extração de óleo essencial ou uso como técnicas de manejo em sistemas de produção de base ecológica constitui importante estratégia para o desenvolvimento rural sustentável. Neste sentido, o estudo objetivou caracterizar as fases fenológicas de *Tagetes minuta* L., conforme a época de plantio, correlacionando os fatores edafoclimáticos ao desenvolvimento e composição fitoquímica do óleo essencial da espécie. Para tanto, a pesquisa foi realizada em duas etapas distintas, a primeira referiu-se à bioprospecção de populações de *Tagetes minuta* L. em dez municípios da região sul do Rio Grande do Sul, onde o método utilizado para extração do óleo essencial foi a destilação água-vapor. A segunda etapa tratou da instalação, condução e avaliação do experimento realizado na Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS (31°37'15" S; 52°31'24" O; 180 m a.n.m.). O plantio foi realizado em quatro épocas distintas para determinação das fases fenológicas da espécie e a extração do óleo essencial realizada pelo método de hidrodestilação. O óleo essencial oriundo de plantas coletadas e cultivadas caracterizou-se pela presença dos compostos majoritários cis-tagetona (37,47%), cis- β -ocimeno (35,76%), dihidrotagetona (14,19%), trans-tagetona (3,24%) e limoneno (3,16%). O ciclo de desenvolvimento da época 2 foi 29 dias mais curto que a época 1. As duas primeiras épocas de plantio 20 de dezembro e 18 de janeiro alcançaram o estágio de desenvolvimento reprodutivo no mesmo período. Considerando o alto rendimento de óleo essencial e o tempo de duração do ciclo, a melhor época para o cultivo de *Tagetes minuta* L. foi 18 de janeiro.

Palavras-chave: chinchilho; bioprospecção; fitotecnia; cultivo.

Abstract

FONSECA, Cristine da. **Fenologia e caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Tagetes minuta* L.** (Asteraceae). 2018. 113f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Ecological-based farms have as their presuppositions the knowledge, use and preservation of local biodiversity. Brazil is a country made up of six distinct Biomes and has a wide biodiversity and, therefore, it is fundamental to consider the influence of environmental factors on the phytochemical composition of essential oils. Not only as a commercial appeal but also as a sustainability strategy for agroecosystems, the cultivation of aromatic plants for extraction of essential oil or use as management techniques in ecologically based production systems is an important strategy for sustainable rural development. In this sense, the study aimed to characterize the phenological phases of *Tagetes minuta* L., according to the planting season, correlating the edaphoclimatic factors to the development and phytochemical composition of the essential oil of the species. In order to do so, the research was carried out in two distinct stages, the first one referring to the bioprospection of *Tagetes minuta* L. populations in ten municipalities in the southern region of Rio Grande do Sul, where the method used to extract the essential oil was distillation water vapor. The second stage dealt with the installation, conduction and evaluation of the experiment performed at Embrapa Temperate Climate, Cascata Experimental Station, Pelotas, RS (31 ° 37'15 "S, 52 ° 31'24" W, 180 m a.m.). The planting was carried out in four distinct seasons to determine the phenological phases of the species and the extraction of essential oil by the hydrodistillation method. The essential oil from the collected and cultivated plants was characterized by the presence of cis-tagetone (37.47%), cis- β -ocimene (35.76%), dihydrotagetone (14.19%), trans-tagetone (3.24%) and limonene (3.16%). The development cycle of season 2 was 29 days shorter than season 1. The first two planting seasons December 20 and January 18 reached the stage of reproductive development in the same period. Considering the high yield of essential oil and the duration of the cycle, the best time for the cultivation of *Tagetes minuta* L. was January 18.

Key words: cinchilho, bioprospecting; plant breeding; cultivation.

Lista de Figuras

Figura 1	Destilador inox semi industrial com capacidade para 20 kg de planta (A). Flores, folhas e pequenos ramos de <i>T. minuta</i> L. (B). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	35
Figura 2	Mudas de <i>T. minuta</i> L. em bandeja de poliestireno expandido (A). Transplante das mudas de <i>T. minuta</i> L. (B). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Dezembro/2016.	38
Figura 3	Plantio de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Dezembro/2017.	39
Figura 4	Análise de similaridade por escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) de amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L., considerando todas as populações [A] e excluídas as amostras DPTO e RGDE [B]. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	50
Figura 5	Identificação de [A] <i>Tagetes minuta</i> L. [B] <i>Tagetes ostenii</i> Hicken. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Dezembro/2018.	51
Figura 6	Análise dos componentes principais de amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. de diferentes populações, considerando os compostos com teor > 1% [A]. Todas as amostras e compostos com teor médio > 1% [B] sem as amostras DPTO e RGDE e sem os compostos cis-ocimenona e car-3-em-2-ona. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	53

Figura 7	Análise canônica de redundância (ACR) de amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. de diferentes populações, considerando os compostos com teor >1%. [A] Todas as amostras e compostos com teor médio > 1%. [B] sem as amostras DPTO e RGDE e sem os compostos cis-ocimenona e car-3-em-2-ona. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	56
Figura 8	Escala fenológica de <i>T. minuta</i> L. em que corresponde V1- Germinação, V2- Emergência, V3- Folhas permanentes, V4- Crescimento das folhas e caule, R1- Início da formação do capítulo floral, R2- Plena floração, R3-Dispersão dos frutos, R4 Senescência. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	60
Figura 9	Ciclo de desenvolvimento de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	62
Figura 10	Equação de regressão linear para predição da massa seca total (MST, t ha ⁻¹) <i>T. minuta</i> L. a partir da massa fresca total (MFT, t ha ⁻¹) [A] e do dia Juliano do transplante (DJT) [B]. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	65
Figura 11	Área foliar média (cm ²) de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas de colheita. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	67
Figura 12	Índice de área foliar (IAF) média de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	68
Figura 13	Análise de componentes principais de massa seca total (MST), a massa seca de flores e folhas (MSFLFH), índice de área foliar (IAF) e produtividade de óleo essencial (OE _{prod}) de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	69

Figura 14	Análise canônica de redundância (ACR) de amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. de diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	70
Figura 15	Valores médios (%) dos compostos majoritários (> 1%) obtidos em amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L., em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	73
Figura 16	Evolução dos valores médios (%) dos compostos majoritários (>1%) obtidos em amostras de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. ao longo das datas de colheita. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	74
Figura 17	Análise dos componentes principais dos compostos majoritários (>1%) e rendimento de óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas de colheita. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	75
Figura 18	Análise canônica de redundância (ACR) dos compostos majoritários (>1%) e rendimento de óleo essencial (OE_{rend}) de <i>T. minuta</i> L. em diferentes épocas de colheita, utilizando a radiação fotossinteticamente ativa ($RFA_{acum} +2D$), a média da temperatura média do ar ($T_{méd}+2D$) e a precipitação pluviométrica ($PP_{acum} +2D$), registradas no dia anterior e da colheita como variáveis ambientais explicativas. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	76

Lista de Tabelas

Tabela 1	Municípios das coletas, com as respectivas altitudes, coordenadas geográficas, data e hora da coleta e números de registro da amostra. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	33
Tabela 2	Composição química do óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. das diferentes populações. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Novembro/2016.	47
Tabela 3	Informações dos espécimes, número de tombo das exsicatas no Herbário da Embrapa Clima Temperado (ECT), identificação de nove populações de <i>Tagetes</i> e local de coleta. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, abril/2018.	51
Tabela 4	Matriz de correlação e p-valores entre o ciclo transplante-colheita e parâmetro da produção de biomassa e óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. cultivados em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	61
Tabela 5	Massa seca total (MST), massa seca total de flores e folhas (MST-FLFH), relação flores+folhas: ramos+caule (FL+FH:RS+CA) e relação flores:folhas (FL:FH). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	64
Tabela 6	Massa seca total (MST), massa seca total de flores e folhas (MST-FLFH), relação flores+folhas: ramos+caule (FL+FH:RS+CA) e relação flores:folhas (FL:FH). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.	64
Tabela 7	Rendimento médio (%) e produtividade média de óleo essencial (kg ha ⁻¹) de <i>T. minuta</i> L. por época de cultivo e época de colheita.	

	Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	66
Tabela 8	Composição química (%) do óleo essencial de <i>T. minuta</i> L. cultivado em quatro épocas diferentes e colhida em datas diferentes. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.	72

Sumário

1	Introdução.....	15
2	Revisão de Literatura.....	19
2.1	O modelo “agrícola agroindustrial” e a redução da biodiversidade	19
2.2	Importância dos recursos vegetais localmente disponíveis	20
	na perspectiva Agroecologica	20
2.2.1	Etnoconhecimento sobre plantas bioativas: medicina popular e aproveitamento nos agroecossistemas	23
2.3	Origem, taxonomia, morfologia e ambiente.....	28
2.3.1	<i>Tagetes minuta</i> L.: espécie de múltiplo propósito	29
2.3.2	Efeitos biológicos e diversidade de aplicações	30
2.3.3	Óleo essencial: efeito dos fatores ambientais sobre a composição	32
3	Material e métodos.....	33
3.1	Bioprospecção de populações espontâneas de <i>Tagetes minuta</i> L.	33
3.1.1	Inferência climática dos locais de coleta	34
3.1.2	Análise de solo dos locais de coleta	35
3.1.3	Extração do óleo essencial e procedimento analítico	35
3.1.3.1	Método de extração.....	35
3.1.3.2	Análise cromatográfica.....	36
3.1.3.3	Procedimento estatístico.....	37
3.2	Análise fitotécnica de cultivo de <i>Tagetes minuta</i> L.....	38
3.2.1	Preparo da área e práticas de cultivo	38
3.2.2	Produção de mudas e transplante.....	39
3.2.4	Avaliações fitotécnicas.....	42
3.2.4.1	Massa seca e partição da biomassa.....	42
3.2.4.2	Área foliar e índice de área foliar (IAF)	43
3.2.4.3	Extração de óleo essencial.....	43
3.2.4.4	Rendimento e produtividade de óleo essencial	44
3.2.5	Caracterização cromatográfica de óleo essencial	44
3.2.6	Delineamento experimental e procedimento estatístico.....	44

4 Resultados e discussão.....	47
4.1 Caracterização fitoquímica do óleo essencial de populações de <i>Tagetes minuta</i> L.....	47
4.1.1 Análise de similaridade entre as populações de <i>Tagetes minuta</i> L.....	50
4.1.2 Análise de componentes principais das populações de <i>Tagetes minuta</i> L.	54
4.2 Fitotecnia de <i>Tagetes minuta</i> L. em condições de cultivo	59
4.2.1 Ciclo de cultivo	59
4.2.3 Partição da biomassa seca.....	64
4.3 Composição química de óleo essencial de <i>Tagetes minuta</i> L. em diferentes épocas de cultivo	72
4.3.1 Composição média e evolução da composição do óleo essencial	72
4.3.2 Efeito dos fatores ambientais sobre a composição do óleo essencial	75
5 Conclusão	80
Referências	81
Anexos	95

1 Introdução

Conhecer o potencial de espécies adaptadas ao ambiente é extremamente relevante para a conservação da biodiversidade, desenvolvimento de produtos naturais e valorização do conhecimento tradicional. O movimento em defesa da biodiversidade de espécies vegetais ainda é inexpressivo quando comparado à visibilidade das ações realizadas em defesa da preservação da biodiversidade animal (SANTILLI, 2009). O despertar para a importância da preservação da biodiversidade vegetal pode ser estimulado pelo conhecimento das funções ecológicas e potencialidades de cada espécie. Nesse sentido, é relevante considerar a necessidade de pesquisas que envolvam aspectos relacionados à sociobiodiversidade que se expressa em cada Bioma.

O modelo agrícola vigente no Brasil, estabelecido a partir da “Revolução Verde”, constitui-se de uma estrutura incapaz de compreender a biodiversidade e a variabilidade genética das espécies vegetais. Neste contexto, o destaque dado pela pesquisa às *commodities* e à biotecnologia leva ao desconhecimento do potencial agrônomo e da fenologia de muitas espécies espontâneas, as quais guardam infinitas possibilidades de uso dentro dos agroecossistemas. Com base na Convenção de Diversidade Biológica (CDB), segundo Nodari e Guerra (2015), a agrobiodiversidade representa uma gama praticamente inesgotável de combinações entre seus quatro níveis de complexidade: diversidade dentro de espécies, diversidade entre espécies, diversidade entre ecossistemas e diversidade etnocultural.

A evolução da espécie humana se deu, em grande parte, pelo acúmulo de saberes intuitivo ou conhecimentos práticos. Nessa trajetória da humanidade, foi ocorrendo um processo seletivo de saberes, os quais foram gerados a partir da relação entre a espécie humana e a natureza, e que são repassados de uma geração para outra (SILVA; NETO, 2015).

De acordo com Bevilaqua et al. (2008), o processo de modernização da agricultura causou mudança significativa na prática dos agricultores. Assim, a recuperação do patrimônio cultural diz respeito à própria preservação da

biodiversidade existente no planeta e a coevolução de sistemas agrícolas. Ainda que nesse trabalho os autores tenham como base o resgate e a conservação das sementes crioulas, é possível estabelecer uma relação com outras práticas realizadas por agricultores, como uso das plantas bioativas no manejo da propriedade, assim como para fins medicinais, os quais possuem uma forte identidade com o espaço onde vivem e com seu modo de vida. A utilização das plantas bioativas em determinadas práticas agrícolas faz com que se tornem fundamentais nos sistemas de produção agroecológicos, os quais podem proporcionar benefícios aos cultivos (GARCIA et al., 2010).

É no contexto da agricultura familiar de base ecológica que este trabalho se insere, partindo do pressuposto de que a valorização e manutenção do saber popular são fundamentais para a conservação dos ecossistemas (SANTILLI, 2009). Assim, a abordagem recorrente sobre sustentabilidade está diretamente relacionada aos problemas ambientais e também às condições necessárias para a manutenção da vida do ser humano no planeta em longo prazo.

No âmbito da política global, este tema volta à pauta em 2015, com a elaboração do acordo de cooperação realizado entre diversos países e a Organização das Nações Unidas (ONU). Quando estes se tornam signatários da Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, a fim de trabalhar os 17 objetivos estabelecidos no plano de ação, os quais visam alavancar o desenvolvimento sustentável e estabelecer a paz entre as nações (ONU, 2015). Dentre os itens do plano de ação, destaca-se aqui o objetivo número 15, o qual busca chamar a atenção para a necessidade de “Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade”.

Tagetes minuta L. (Asteraceae) é um exemplo dessas espécies que compõe a biodiversidade em diversos ecossistemas e que são preteridas em pesquisas científicas na área agrônoma. Já a atividade do óleo essencial vem sendo amplamente pesquisada em diversos campos da química de produtos naturais, devido às suas propriedades bioativas como ação antimicrobiana (ALI et al., 2014), cosmética (CORNELIUS; WYCLIFFE, 2016), aditivo antioxidante natural, desenvolvimento de drogas antitumorais e bactericidas (SHIRAZI, 2014), no controle de nematoides (CERRUTI, 2010), uso de extratos botânicos no manejo de afídeos em hortaliças (LOVATTO, 2012), manejo de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera:

Pieridae) em cultivos orgânicos de brássicas (SIGNORINI, 2015). Nos Andes, é utilizada na alimentação e em diversas regiões do mundo é utilizada como planta medicinal no alívio de dores de cabeça, resfriados, entre outros sintomas (LORENZI; MATOS, 2008).

Estes exemplos contextualizam as potencialidades e possibilidades de uso da agrobiodiversidade, como subsídio para superar o modelo agrícola vigente e reduzir o impacto ambiental decorrente de práticas da agricultura moderna, considerando o ambiente como um sistema, e a paisagem como o resultado da interação entre o potencial ecológico, a exploração biológica e a ação antrópica (BERTRAND, 2004). Na busca por métodos eficientes de manejo dos componentes dos agroecossistemas, o óleo essencial extraído das plantas bioativas como *Tagetes minuta* L constitui mais um recurso potencial para o manejo nos sistemas de produção. Nas últimas décadas, os óleos essenciais de plantas aromáticas têm sido de grande interesse como fontes de produtos naturais bioativos (ALI et al., 2014).

Assim, parte-se do pressuposto (hipótese) que *T. minuta*, por ser uma espécie de ocorrência espontânea, pode apresentar alta variação na composição química do óleo essencial. Para manter a expressão do conjunto de princípios ativos conhecidos e desejados em uma espécie é necessário conhecer a fenologia e o modo como esta espécie responde aos fatores abióticos.

Segundo Wood e Burley (1991), a fenologia é o estudo do comportamento dos vegetais se relacionando com o seu ambiente, e considera a importância dos padrões estacionais de floração, frutificação e queda de folhas para entender o funcionamento dos ecossistemas naturais. O conhecimento da fenologia de uma espécie pode ser utilizado no planejamento e definição da época de semeadura, época de aplicação de insumos, realização de tratamentos fitossanitários, determinação da época de colheita (GADIOLI et al., 2000). A ampla variabilidade genética e fenotípica de uma espécie espontânea, ou seja, que não passou por processos de melhoramento genético e biotecnologia, não impede que sejam realizadas inferências sobre o seu crescimento e desenvolvimento.

A determinação dos estádios fenológicos das plantas aromáticas é de fundamental importância para obtenção da composição química desejada e consequente eficiência da ação biológica dos óleos essenciais. Também são usados como parâmetro para práticas agrícolas, agrometeorologia e seguro agrícola, entre outras finalidades.

Assim, os objetivos deste trabalho consistem em avaliar a composição fitoquímica de populações espontâneas e identificar as fases fenológicas de *Tagetes minuta* L. conforme a época de plantio, correlacionando os fatores edafoclimáticos ao desenvolvimento e à composição fitoquímica do óleo essencial da espécie.

2 Revisão de Literatura

2.1 O modelo “agrícola agroindustrial” e a redução da biodiversidade

Aos poucos, as sociedades de caçadores-coletores se transformaram em sociedades de agricultores. De uma prática de coleta de grãos espontaneamente gerados pela natureza, principalmente os cereais, as sociedades humanas passaram a selecionar os grãos de algumas espécies e a cultivá-los e reproduzi-los em condições artificialmente criadas pela humanidade. As espécies eram selecionadas para usos alimentícios, medicinais e religiosos (SANTILLI, 2009).

Atualmente, o modelo de agricultura que sustenta grande parte da indústria química vem sendo questionado devido ao uso de produtos químicos sintéticos, os quais são liberados no ambiente com o objetivo de controlar o desenvolvimento das culturas para obtenção da máxima produtividade. Este modelo, além de manter o agricultor dependente de insumos produzidos pela indústria agroquímica, oferece riscos de contaminação ao ambiente, implica na perda da biodiversidade, contaminação dos recursos naturais, promove o desmatamento, a simplificação da alimentação, assim como expõem a riscos de intoxicação humanos e organismos não-alvos (BOYER et al., 2012). Este modelo de agricultura, baseado na utilização de adubos químicos de alta solubilidade e agrotóxicos, conduziu à instabilidade dos agroecossistemas, favorecendo que populações de insetos, plantas e micro-organismos assumissem o *status* de “pragas” (LOVATTO, 2012).

A perda de populações com características genéticas específicas é hoje, provavelmente, um quadro irreversível (SEBBENN; ETTORI, 2001). Segundo a ONU, em um século de globalização, a diversidade de espécies e plantas utilizadas para alimentação e outros usos decresceu de 100 mil para 30 mil só no continente asiático (FAO, 2012). Inúmeras formas de uso podem advir de espécies que ainda não foram domesticadas, possibilitando a diversificação da alimentação, o uso das plantas para fins medicinais, o desenvolvimento de bioinsumos para uso no processo de transição agroecológica, entre outros.

Desta maneira, substâncias de origem natural que oferecem baixo impacto ambiental são fundamentais no manejo integrado de insetos durante o processo de transição para a agricultura de base ecológica (VIEGAS, 2003). Os óleos essenciais, produtos resultantes do metabolismo secundário dos vegetais, são exemplos de substâncias naturais que podem ser empregados em diversas áreas. Embora muitos dados científicos afirmem que o metabolismo secundário não desempenha um papel crucial para o crescimento, desenvolvimento e reprodução das células vivas, ele é fundamental na produção de compostos que conferem defesa e proteção às plantas contra danos ecológicos (SAMUNI-BLANK et al., 2012).

Considerando que as propriedades repelentes dos óleos essenciais estão associadas à presença de monoterpenos e sesquiterpenos (JAENSON et al., 2005) e que o óleo essencial de *T. minuta* é rico em monoterpenos (KUMAR et al., 2014), espera-se que o resultado deste trabalho corrobore para o desenvolvimento de bioinsumos e autonomia dos agricultores familiares que buscam fazer a transição do modelo de agricultura convencional para a agricultura de base ecológica.

2.2 Importância dos recursos vegetais localmente disponíveis na perspectiva Agroecologica

Um dos primeiros impulsos no sentido de desenvolver um sistema agrícola sustentável ocorreu em 1924, na Alemanha, quando Rudolf Steiner, junto com um grupo de agricultores, lança os Fundamentos da Agricultura Biodinâmica. A Agricultura Biodinâmica utiliza preparados elaborados a partir de plantas bioativas¹, esterco e silício (quartzo), os quais são enterrados no solo e submetidos às influências da Terra e de seus ritmos anuais (ASSOCIAÇÃO BIODINÂMICA, 2018). Assim, a agricultura biodinâmica consiste na arte de cuidar da terra, onde cada agricultor precisa desenvolver a sua percepção e sensibilidade abrangentes, para poder adaptar as práticas agrícolas às condições de cada ambiente e entender o dinamismo de sua

¹ 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. Dentro deste conceito, enquadram-se as plantas medicinais, aromáticas, condimentares, inseticidas, repelentes, tóxicas e, inclusive, as de cunho místico religioso (REUNIÃO TÉCNICA ESTADUAL SOBRE PLANTAS BIOATIVAS (5a), 2010).

unidade de produção, concebida como um organismo (BAPTISTA, 2000). O sistema proposto por Steiner provocou a evolução da agricultura orgânica na Europa (LOCKERETZ, 2007).

No Brasil, o agrônomo e ambientalista José Lutzenberger, depois de trabalhar durante vários anos em uma das maiores empresas de agroquímicos à época, em 1970 pede demissão, retorna ao Brasil e dá início à prática e promoção da agricultura ecológica. Desde então, o número de propriedades, a extensão da área de cultivo, a quantidade de financiamento em pesquisa e o tamanho do mercado de alimentos orgânicos têm aumentado constantemente (WILLER; LERNOUD, 2015).

A crescente demanda da sociedade por alimentos livres de agrotóxicos estimula a realização do processo de transição, de uma agricultura que degrada e que é altamente dependente de insumos externos, para sistemas de produção de base ecológica.

Segundo Caporal e Costabeber (2004), a expressão “agriculturas de base ecológica” tem a intenção de distinguir os estilos de agricultura resultantes da aplicação dos princípios e conceitos da Agroecologia, tanto do modelo de agricultura convencional, como também de agriculturas cuja tendência, marcadamente ecotecnocrática, tem sido a incorporação parcial de elementos de caráter ambientalista ou conservacionista nas práticas agrícolas convencionais, o que se constitui como uma vã tentativa de restaurar o modelo da Revolução Verde, sem, porém, qualquer propósito de alterar fundamentalmente as bases que até agora lhe deram sustentação.

A agroecologia pode ser descrita como uma ciência emergente que estuda os agroecossistemas, integrando conhecimentos de agronomia, ecologia, economia e sociologia (ALTIERI, 1989). A agroecologia pressupõe, ainda, uma visão holística dos agroecossistemas que considera as especificidades de cada ambiente no manejo dos recursos naturais de forma a responder as aspirações e necessidades dos agricultores. Traçando um paralelo com o modelo de agricultura predominante, verifica-se que a busca da sustentabilidade do sistema requer um processo de mudanças profundas. Segundo Gliessman (2005), nesse processo de transição se distinguem três etapas internas ao sistema produtivo agrícola. A primeira se refere à redução do uso de insumos externos, caros, escassos e impactantes ambientalmente, maximizando a eficiência das práticas convencionais. Na segunda etapa ocorreria a substituição de insumos químico-sintéticos por insumos orgânicos e práticas

alternativas. E, na terceira, seriam redesenhados os sistemas produtivos, de acordo com um novo conjunto de processos ecológicos.

Formas alternativas ao controle químico são conhecidas, porém pouco estudadas. A urina de vaca, por exemplo, além de melhorar a fertilidade dos solos agindo como fertilizante, fornece nutrientes e substâncias benéficas às plantas, como os fenóis que aumentam a resistência das plantas (GADELHA; CELESTINO, 2012). A calda de cinzas e cal também é elaborada com insumos acessíveis aos agricultores, e que pode ser utilizado no manejo de insetos, com ação para o manejo de lagartas, vaquinhas e pulgões. Além disso, a calda pode ser usada para a nutrição das plantas, pois possui nutrientes importantes como cálcio, potássio e magnésio (LEITE et al., 2016). O controle biológico, baseado no princípio da densidade recíproca, é um componente importante no equilíbrio dos agroecossistemas.

Diversas substâncias podem ser extraídas em extratos facilmente preparados na propriedade rural, como por exemplo, o extrato de alho (*Allium sativum*) e cebola (*Allium cepa*), que apresentam em sua composição substâncias como o enxofre, que podem ser utilizadas no manejo de pragas e de doenças foliares (LEITE et al., 2016). Segundo Sousa et al. (2012) são também utilizados como matéria prima nas preparações dos extratos, plantas espontâneas como o (melão-de-são-caetano) ou cultivadas (nim, manjeriço, pimenta, alho, cebola e a arruda). Outros exemplos da aplicação de produtos naturais na agricultura envolvem o uso de esterco, pó de rocha, húmus líquido, entre outros materiais que favorecem a reposição de nutrientes do solo. Dessa forma, a agricultura de base ecológica consiste em um conjunto de princípios e práticas aplicáveis aos sistemas agropecuários sustentáveis.

Um dos pilares da agricultura de base ecológica é uso dos recursos disponíveis localmente, reduzindo a pressão sobre fontes de energias não renováveis. Neste sentido, as populações tradicionais, pela vivência íntima com a natureza, acumulam o conhecimento ímpar sobre a biodiversidade local e as interações que acontecem no ambiente, onde o enfoque sobre a natureza se dá como fonte de condição de subsistência (SILVA; FERNANDES, 2013).

Na natureza ocorrem interações que podem ser negativas, positivas ou neutras. Baseadas no princípio da alelopatia, a qual é conceituada como a influência de um indivíduo sobre o outro, seja prejudicando ou favorecendo o segundo, e sugere que o efeito é realizado por biomoléculas denominadas aleloquímicos, produzidas por uma planta e lançadas no ambiente, seja na fase aquosa do solo ou substrato, seja por

substâncias gasosas volatilizadas no ar que cerca os vegetais (RIZVI et al., 1992; FERREIRA; AQUILA, 2000).

2.2.1 Etnoconhecimento sobre plantas bioativas: medicina popular e aproveitamento nos agroecossistemas

A evolução da espécie humana tem sido possível, inicialmente, devido ao acúmulo de saberes intuitivo ou conhecimentos práticos, o que possibilita nossa existência até os dias de hoje (SILVA; NETO, 2015). Na busca por recursos para melhorar a sua condição de vida, a relação da humanidade com a natureza evoluiu aumentando, assim, as chances de sobrevivência ao longo do tempo (LORENZI; MATTOS, 2008). Essa relação, que perpassa desde a obtenção da alimentação, abrigo, vestuário, até a obtenção de ferramentas e transporte, forjou o que atualmente denominamos de conhecimento popular. Esses saberes práticos acumulados vieram das pessoas mais observadoras das relações com a natureza, que foram selecionando aquele tipo de saber que era útil à sua sobrevivência (SILVA; NETO, 2015).

No Brasil, as interações culturais entre índios, africanos e europeus, permitiu a disseminação da sabedoria herdada em relação ao uso e ao cultivo de diversas espécies vegetais (ALMASSY, 2004; LIPORACCI; SIMÃO, 2013). Ainda que as diferenças regionais imprimam características específicas a cada comunidade, hábitos comuns marcam ainda hoje as práticas realizadas em povoados do meio rural (ARRUDA, 1999).

Desde os mais remotos tempos, as plantas vêm sendo empregadas com fins terapêuticos, em perfumarias, como condimentos, no controle de vetores de zoonoses e em rituais religiosos. Registros das civilizações mais antigas indicam que o uso de plantas vem sendo uma das práticas mais antigas utilizadas pela humanidade para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE et al., 2007). Na China, há registros do uso de plantas medicinais que datam de 2.838-2.698 a.c (SIMÕES et al., 2001; VALE, 2002).

Em um contexto onde o uso das plantas está associado à cultura local, inúmeras possibilidades podem advir do conhecimento das plantas bioativas. Em estudo realizado no Território Zona Sul do Rio Grande do Sul, com vistas a identificar tecnologias geradas a partir da observação da natureza, a espécie *T. minuta* foi citada por informantes-chave como um recurso com potencial para prevenção e controle de doenças e insetos em cultivos de importância econômica (LOVATTO, 2012). Nesse sentido, a agroecologia reconhece a legitimidade dos conhecimentos e técnicas desenvolvidas pelos agricultores e os seus processos de inovações para a agricultura (ALTIERI; TOLEDO, 2011).

Pelos motivos supracitados, torna-se imperativo a valorização do conhecimento popular e o resgate de práticas agrícolas mais sustentáveis. As interações observadas pelos agricultores no ambiente podem estar relacionadas a reações anabólicas e catabólicas que ocorrem no metabolismo das plantas e que dão origem a variados compostos químicos. Embora os compostos sintetizados no metabolismo secundário não aparentam ter função específica no crescimento e desenvolvimento das células vegetais, tais compostos garantem vantagens para a sobrevivência e a perpetuação das espécies no ecossistema (SIMÕES; SPITZER, 2000). Os produtos do metabolismo secundário, como, por exemplo, os óleos essenciais, apresentam funções ecológicas importantes nos vegetais, como atrativos para polinizadores e dispersores de sementes, atuam na competição entre plantas e na simbiose entre plantas e microrganismos, na proteção contra a perda de água e aumento da temperatura, além de protegerem as plantas contra herbívoros e infecções de microrganismos patogênicos (SIMÕES; SPITZER, 2000; TAIZ; ZIEGER, 2009).

Óleos essenciais, também conhecidos como essência natural ou óleos etéreos, são compostos aromáticos, voláteis que podem ser extraídos de partes específicas como raízes, caules, folhas, flores ou da planta inteira. Além da genética das plantas, alguns fatores podem afetar a composição química dos óleos essenciais. Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos (MORAIS, 2009). Dentre estes fatores, podem-se ressaltar as interações planta-microrganismos, planta-insetos e planta-planta; idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita (MORAIS, 2009).

O universo das plantas bioativas é muito maior quando se considera sua origem biológica e a variabilidade genética de cada espécie. A esta variabilidade devem somar-se fatores ecológicos, culturais, metodológicos, agrícolas e industriais, concernentes a qualquer intenção de querer estimar em um número a quantidade de plantas bioativas (STEFFENS, 2010). Porém, com a intensificação da exploração do ecossistema, muitas espécies sofrem drástica redução no número e tamanho das populações, o que pode levar à redução de genes adaptados a ambientes específicos de colonização das espécies e à redução contínua no tamanho de muitas populações, submetendo-as a constantes perdas de variabilidade genética por deriva genética (SEBBENN; ETTORI, 2001). Assim, além de afetar o potencial evolutivo das espécies, pode acarretar a extinção de quimiotípos específicos associados a elas.

2.2.2 Plantas bioativas e agricultura familiar

Diversos fatores favorecem o uso e a produção das plantas bioativas na agricultura familiar. Por ser a própria família a realizar o trabalho e a gestão da unidade de produção, o uso das plantas bioativas se mantém amparado no conhecimento acumulado ao longo do tempo pelos antecessores, o qual é herdado pelas gerações seguintes. Essa herança conjunta, do conhecimento da biodiversidade e da propriedade da Terra, são fatores que favorecem o uso e a conservação das espécies presentes naquele ambiente.

Assim, o uso sustentável da biodiversidade passa pelo reconhecimento e fortalecimento da agricultura familiar. No passado, antes das facilidades para aquisição de insumos industrializados para o controle fitossanitário, os agricultores utilizavam produtos obtidos nas proximidades de suas propriedades ou mesmo dentro delas (MORAIS, 2011). Segundo Lovatto (2012), é pertinente que as técnicas envolvendo a utilização de plantas bioativas sejam resgatadas dentro do contexto local, a fim de que este conhecimento possa ser incorporado e perpetuado junto às gerações futuras.

A *Lavandula* sp, por exemplo, ainda no século XII foi identificada como uma espécie com potencial para uso no controle de pulgas e piolhos (LAWS, 2013). Outra espécie amplamente utilizada pela população brasileira devido à ação anti-helmíntica

é o *Chenopodium ambrosioides* L., conhecido popularmente por erva-de-santa-maria, tem como característica a produção de óleo essencial. Além do potencial medicinal, estudos dão conta de que a erva-de-santa-maria inibe o crescimento de fungos (JARAMILLO et al., 2012; LORENZI; MATTOS, 2008).

As plantas bioativas também exercem papel importante no equilíbrio do agroecossistema, podendo atrair insetos benéficos para os cultivos, fatores que favorecem a multifuncionalidade dentro da unidade de produção agrícola (LORENZI; MATTOS, 2008; LOVATTO, 2012). No que se refere à aplicação das plantas bioativas para o manejo de insetos, Garcia (2003) citam que as principais vantagens do uso de plantas inseticidas e repelentes consistem em menor probabilidade de insetos resistentes devido à ocorrência de mais de um princípio ativo, menor toxicidade a mamíferos, compatibilidade com outros métodos de controle, disponibilidade de matéria-prima e rápida biodegradação.

Além das possibilidades de uso na propriedade rural, as plantas bioativas podem ser comercializadas, atendendo a demanda do mercado de chás e condimentos. O Brasil, nas últimas décadas, avançou bastante em termos de políticas públicas que estimulam o uso e produção de fitoterápicos na rede pública de saúde. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, publicada em 2006, tem como princípios norteadores o uso sustentável da biodiversidade, fortalecimento da agricultura familiar, geração de emprego e renda, entre outros. E busca ainda minimizar a dependência tecnológica em relação a outros países.

O uso racional das plantas medicinais, com base nos conhecimentos popular e científico, no âmbito do Sistema Único de Saúde é respaldado pela Portaria MS/GM nº 886/2010, que institui a Farmácia Viva como uma nova opção terapêutica dentro do serviço de atenção primária à saúde. Dentro desse processo de valorização da biodiversidade e busca da promoção da saúde e autonomia, a ANVISA, em 2016, com o objetivo de orientar a prescrição de plantas medicinais e fitoterápicos na rede pública de saúde, publicou o Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira, documento que pode ajudar na conduta terapêutica do profissional prescritor. Ações dessa natureza, que visam regulamentar o uso das plantas medicinais com base em evidências científicas, além de estimular o uso de fitoterápicos, podem estimular a diversificação das propriedades e da renda das famílias no meio rural.

2.2.3 Aplicabilidade do óleo essencial na Agricultura Familiar

Óleos essenciais são produzidos a partir da destilação a vapor de plantas aromáticas, os quais são utilizados pela população principalmente como recursos terapêuticos no cuidado com a saúde. As atividades terapêuticas dos óleos essenciais são muito variadas. Tratamentos realizados por meio do uso de óleos essenciais, como por exemplo, a aromaterapia, podem promover o bem-estar físico, psicológico e emocional (SACCO et al., 2015). Além do uso na área da saúde humana e animal, os óleos essenciais podem ser empregados no manejo de sistemas de produção de base ecológica, em substituição aos insumos químicos sintéticos, principalmente na etapa de pós-colheita (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

Na agricultura, os óleos essenciais têm a vantagem da seletividade com diferentes sítios de ação e baixa toxicidade para os mamíferos (GAKUBBI et al., 2016). Assim, é pouco provável que apareça o desenvolvimento de resistência em insetos, necessitando o acúmulo de uma população muito grande ao longo de um vasto período de tempo (NENAAH, IBRAHIM, AL-ASSIUTY, 2015; GAKUBBI et al., 2016). Segundo Gakubbi et al. (2016), a biossíntese de óleos essenciais é verificada em mais de 3000 espécies de plantas e compreende mais de 60 famílias botânicas. A ação rápida dos óleos essenciais contra insetos é indicativo de um modo de ação neurotóxico, e há evidências de interferência em neuromodulador e canais de cloreto controlados pelo receptor GABA (KOSTYUKOVSKY et al., 2002; ISMAN, 2006).

Embora muitos estudos comprovem a atividade biológica dos óleos essenciais no controle de patógenos e insetos que causam dano às culturas ainda no campo, a ampla maioria dos estudos publicados refere-se a experimentos realizados em laboratório (WANZALA, 2009; IRERI et al., 2010; ALI et al., 2014). Para que os óleos essenciais mantenham a atividade biológica ao serem aplicados na áreas de cultivo, é preciso associá-los a técnicas e métodos que previnam a oxidação e a perda das substâncias voláteis. A vida útil do extrato da planta é limitada pela exposição ao oxigênio, umidade e luminosidade (HEINRICH et al., 2007). Assim, a viabilidade maior do emprego dos óleos essenciais na área agrícola, está relacionada ao uso das plantas na forma fresca, seca ou como bordadura de outras culturas, mantendo assim a autonomia dos agricultores e agricultoras.

Com relação ao uso veterinário, estudos indicam que o óleo essencial de *T. minuta* a 20% apresenta alta eficiência como repelente de carrapatos (NCHU et al., 2012; ANDREOTTI et al., 2013). Em estudo realizado por Andreotti et al. (2013), o óleo essencial de *T. minuta* na concentração de 20%, aplicado longitudinalmente no dorso de bezerros da raça Holandesa, demonstrou atividade acaricida contra as larvas, ninfa e carrapato adulto. Os autores afirmam ainda que os benefícios do uso do óleo essencial de *T. minuta* como parte do manejo integrado inclui a redução do uso de acaricidas químicos, prolongando a vida útil dos acaricidas, atrasando o início da resistência, reduzindo a incidência de doenças transmitidas por *R. microplus* e diminuição dos custos de produção.

Dentro deste contexto, os múltiplos usos das plantas, seja na forma de extrato, óleo essencial ou a planta *in natura*, representam recurso de alta relevância para o manejo eficiente dos agroecossistemas. Contribuem ainda para romper com a dependência dos agricultores em relação ao mercado de insumos e, conseqüentemente, para o estabelecimento de formas mais sustentáveis de produção agrícola, que favoreçam a inclusão social e o desempenho econômico e ambiental da agricultura familiar. Ainda estimula a produção de alimentos saudáveis por meio do baixo uso de insumos e da conservação e regeneração da agrobiodiversidade (ALTIERI; TOLEDO, 2011).

2.3 Origem, taxonomia, morfologia e ambiente

Tagetes minuta L. é uma planta anual, da família Asteraceae, amplamente distribuída e adaptada à região sul do Rio Grande do Sul. É uma espécie naturalizada e não endêmica do país. Sua distribuição geográfica no Brasil abrange as regiões Norte (Pará), Nordeste (Bahia, Pernambuco), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) (REFLORA; 2018). A espécie é originalmente nativa da América do Sul, atualmente distribuída desde o sudeste dos Estados Unidos até a Patagônia. É considerada uma espécie adventícia na África, Ásia, Austrália e Europa (FLORA ARGENTINA, 2018).

A espécie se reproduz por sementes e ocorre espontaneamente em áreas de plantio anual, perene e em beira de estradas. Apresentam 0,4–2m de altura, erecta, ginomonóica, raiz pivotante, muito ramificada, caule cilíndrico, estriado, esverdeado a amarronzado. As folhas são simples, profundamente imparipinatissectas, sésseis, contorno elíptico, base decurrente, margem serreada, verde-escuras, glabras ou glabrescentes, glândulas oleíferas translúcidas por toda a margem. *T. minuta* exala forte cheiro no ambiente e uma das características do óleo essencial extraído desta espécie é a presença de monoterpenos, apresentando grandes possibilidades químicas e biológicas.

Sabe-se que muitos compostos químicos naturais resultantes do metabolismo secundário das plantas podem ser alterados devido aos fatores ecológicos. Segundo Singh et al. (2003), as temperaturas médias de 12 a 30°C são desejáveis para a produção de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de alta qualidade durante a fase reprodutiva da safra. Os autores afirmam ainda que a espécie prefere solos levemente ácidos, com pH entre 5,5 a 7,0. Contudo, para utilizar os óleos essenciais no manejo dos componentes do agroecossistema, estimulando um padrão de produção sustentável, é preciso, entre outros fatores, o conhecimento das exigências bioclimáticas do espécime em questão.

2.3.1 *Tagetes minuta* L.: espécie de múltiplo propósito

Tagetes minuta L. é utilizada como condimento no Chile e na Argentina. É popular em pratos de arroz e como aromatizante em ensopados. O óleo essencial é usado em perfumes e como componente de sabor na maioria dos principais produtos alimentícios, incluindo refrigerantes, bebidas alcoólicas, sobremesas lácteas congeladas, doces, panificados, gelatinas, pudins e como condimento (MESHKATALSADAT et al., 2010; GAKUUBI et al., 2016).

São amplas as possibilidades de utilização de *T. minuta* em sistemas de produção de base ecológica. A bioatividade do óleo essencial de *T. minuta* pulverizado sobre a parte aérea da batata, cultivada em casa de vegetação em Pelotas-RS, foi verificada pela avaliação dos caracteres agrônômicos dos tubérculos, demonstrando eficiência como supressor da ação de *Diabrotica speciosa* (TRECHA et al., 2015). A

floração ocorre principalmente no final do verão, contribuindo para a atração de insetos polinizadores, como, por exemplo, as abelhas (KRUG, 2007).

Segundo Kyarimpa et al. (2014), no Quênia *T. minuta* é tradicionalmente usada por agricultores no armazenamento de sementes. Estudo realizado por estes pesquisadores, visando o controle de *Anopheles gambiae*, indica que o óleo essencial de *T. minuta* é um potente inseticida natural.

Ao avaliar o consumo de *D. speciosa* alimentando-se de halos de folhas de batata tratados com diferentes concentrações do óleo de *T. minuta* em laboratório, Trecha (2018) verificou redução de consumo alimentar do inseto nas concentrações de 0,25, 0,20 e 0,15% em teste sem chance de escolha, enquanto em teste com chance de escolha, além das concentrações mencionadas, também foi reduzido o consumo para a concentração do óleo de *T. minuta* a 1,0 e 0,50%. Tais resultados reforçam o potencial da biodiversidade nos agroecossistemas, demonstrando a relevância da espécie para o manejo eficiente nos sistemas de produção agrícola.

2.3.2 Efeitos biológicos e diversidade de aplicações

Segundo Wanzala (2009), no Quênia a infusão de *T. minuta* é usada para o tratamento de mordidas de cobras em comunidades rurais, já a parte aérea da planta é utilizada para proteção contra picadas de mosquito nas tribos do oeste do Quênia e seu perfume (óleo essencial) usado como agente carrapaticida na indústria pecuária. Este mesmo autor relata ainda que o óleo essencial pode ser utilizado para proteger grãos no armazenamento devido à ação de controle no desenvolvimento de fungos e insetos.

É semeada em sistemas de cultivo arável para manter a população de nematóides do solo sob controle e, muitas vezes, é cultivada ao lado de espécies alimentícias valorizadas como tomate, berinjela, pimenta, tabaco e plantas de batata para aumentar sua produção (WANZALA; OGOMA, 2013).

Quanto à sua utilização empírica, é atribuído à planta o efeito de repelência contra mosquitos (SEYOUM et al., 2002), pulgas e piolhos em estábulos, galinheiros e residências e efeito fitoprotetor para o manejo de insetos e doenças em hortaliças (LOVATTO, 2012). Ainda pode atuar como atraente de insetos benéficos para os

cultivos agrícolas (LORENZI; MATOS, 2008), características que, reunidas, favorecem a multifuncionalidade da planta dentro dos sistemas de produção agrícola familiar, contribuindo para a sua sustentabilidade (LOVATTO, 2012).

O pó de folhas secas de *T. minuta*, utilizado como cobertura para suprimir o crescimento de duas ervas daninhas de arroz, *Echinochloa crus-galli* e *Cyperus rotundus*, aumentou o rendimento do arroz (SINGH et al., 2003). No entanto, devido aos exudatos das raízes de *T. minuta* que são liberados no solo, tiofenos antibacterianos, esta espécie não deve ser plantada próximo de plantas leguminosas fixadoras de nitrogênio, cuja atividade bacteriana aumenta a fertilidade do solo, caso contrário a produtividade da agricultura poderá ser reduzida por afetar bactérias úteis (WANJALA; WANZALA, 2016).

Em decorrência da conscientização dos problemas causados pelos agrotóxicos no ambiente, há uma tendência mundial em explorar novas alternativas de controle, dando-se prioridade à utilização de substâncias naturais, biologicamente ativas, contra os diferentes patógenos (MORAIS, 2011).

Segundo Wanjala e Wanzala (2016), a indústria química possui grande interesse pelo óleo essencial desta espécie, devido às múltiplas possibilidades de usos, relacionados à composição química e à atividade bioativa, em diversas áreas do mercado, sendo: trans-tagetona para o mercado de perfumaria e repelente de ácaros em bovino, dihidrotagetona para indústria alimentícia e perfumaria e cis-tagetona para uso farmacêutico (tratamento de feridas, infecções da pele, picadas de abelhas, verrugas, câncer, repelente de mosquito).

Segundo dados da monografia da espécie (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015), foram encontrados no banco de dados do INPI três depósitos de patentes para *T. minuta*, sendo dois referentes ao uso medicinal humano dos seus extratos.

O óleo essencial da espécie é relatado pela literatura, sendo obtido tanto das folhas, flores e caules, ora com os órgãos reunidos, ora obtidos separadamente de cada parte da planta, quer seja antes ou durante floração, quer seja da planta fresca ou seca (BRASIL, 2015) Quanto às características organolépticas, o óleo essencial obtido das partes aéreas floridas tem um odor característico descrito como doce-azedo, frutado, floral, semelhante à sálvia, mel, com notas ligeiramente de eucalipto e frutas podres (BRASIL, 2015).

2.3.3 Óleo essencial: efeito dos fatores ambientais sobre a composição

A composição dos metabólitos secundários nas plantas é resultado do balanço entre a sua formação e a transformação decorrentes principalmente de três fatores: genéticos, ambientais e das técnicas de cultivo (CASTRO et al., 2002). Os metabólitos secundários têm origem no processo de conversão da energia luminosa em energia química, permitindo que a planta responda aos diferentes fatores ambientais, quer físicos ou biológicos, através das relações com diferentes organismos, atraindo-os ou repelindo-os, sustentando-os ou destruindo-os (CASTRO et al., 2005; MARASCHIN; VEPOORTE, 1999; ALMEIDA, 2017).

Os fatores temperatura e luminosidade são extremamente relevantes no processo de fotossíntese, já que a interação destes garante o ambiente necessário para realização dos processos fisiológicos (SOUZA et al., 2008). Os diferentes processos bioquímicos que ocorrem na planta são de extraordinária complexidade, esses processos constituem, em conjunto, o metabolismo vegetal (ALMEIDA; 2017).

A qualidade do óleo essencial pode ser afetada por diversos fatores, pré e pós-colheita, com diferente e variável grau de importância determinam o valor do produto final. Outro aspecto que pode influenciar o padrão do óleo essencial de uma espécie refere-se à ocorrência de quimiotipos, isto é, de grupos quimicamente distintos dentro de uma espécie, que se caracterizam por serem fenotipicamente semelhantes, mas diferem nos seus constituintes químicos (FIGUEIREDO; BARROSO; PEDRO, 2014).

3 Material e métodos

3.1 Bioprospecção de populações espontâneas de *Tagetes minuta* L.

A área de abrangência da pesquisa se insere no domínio geomorfológico de três macrozonas do Bioma Pampa, no estado do Rio Grande do Sul: Depressão Central, Escudo Sul-Rio-grandense e Planície Costeira. O clima dessa região caracteriza-se por ser subtropical úmido ou temperado, de chuvas bem distribuídas e verões quentes, sendo classificado por Köppen (1948), como tipo Cfa. Apresentam um relevo suave ondulado a forte ondulado, contendo o argissolo como a principal classe de solo da região (KER et al., 1986; EMBRAPA, 2006).

A bioprospecção de populações de *T. minuta* consistiu na coleta de material vegetal, entre cinco e vinte quilos de planta, para extração do óleo essencial, a qual foi realizada no período de 28 de abril a 15 de junho de 2016. Na Tabela 1 são apresentadas as informações referentes às datas, local e horário de coleta das populações de *T. minuta*. A escolha dos locais para coleta das populações de *T. minuta*, ocorreu por indicação de terceiros e teve como critério o volume de material necessário para realização da extração do óleo essencial de acordo com a capacidade do destilador, qual seja, vinte quilos de planta. O estágio de desenvolvimento utilizado como parâmetro para realização das coletas foi a floração das plantas. Por meio de avaliação visual no momento da coleta, foi possível observar que as características fenotípicas das populações de *T. minuta* prospectadas na região sul do Rio Grande do Sul apresentam variações.

Tabela 1 - Municípios das coletas, com as respectivas altitudes (m), coordenadas geográficas, data e hora da coleta e números de registro da amostra. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.

Data	Município	Código	Coordenadas	Hora da coleta
28/04/2016	Rio Grande	RGDE	32°00'11,6" S, 52°18'07,4" O	11h
09/05/2016	Dom Pedrito	DPTO	31°08'26,7" S, 54°11'28,1" O	14h
09/05/2016	Cerrito	CRTO	31°44'00,5" S, 52°48'39,7" O	16h
11/05/2016	Canguçu	CGCU	31°20'27,5" S, 52°50'43,7" O	15h30
01/06/2016	Pelotas	PLTS	31°37'12,4" S, 52°31'16,5" O	9h
07/06/2016	Morro Redondo	MRED	31°33'55,3" S, 52°38'38,8" O	14h30
08/06/2016	São Lourenço do Sul	SLS-1	31°10'25,2" S, 52°24'15,6" O	10h
08/06/2016	São Lourenço do Sul	SLS-2	31°11'03,0" S, 52°23'57,7" O	11h
08/06/2016	Turuçu	TRÇU	31°24'24,5" S, 53°46'16,9" O	15h
15/06/2016	Candiota	CAN-1	31°34'40,5" S, 53°46'16,9" O	13h
15/06/2016	Pinheiro Machado	PMAC	31°35'05,2" S, 53°23'48,6" O	14h
15/06/2016	Candiota	CAN-2	31°32'57,2" S, 53°45'01,5" O	11h
16/06/2016	São Lourenço do Sul	SLS-3	31°16'00,1" S, 52°09'56,4" O	14h

3.1.1 Inferência climática dos locais de coleta

Como não há informações meteorológicas nos exatos locais de coleta, foram realizadas inferências a partir das estações climatológicas mais próximas. Assim, para a caracterização climática no momento da coleta das plantas das populações DPTO, CAN-1, CAN-2 e PMAC foram utilizadas informações disponíveis no Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP) da estação meteorológica convencional localizada em Bagé, RS (código OMM 83980), 31°19' S, 54°06' O, 242,31 m de altitude. Para os demais locais de coleta, foram utilizados os dados disponibilizados pela Estação Meteorológica Automática, localizada na sede da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS, situada em 31°41' S, 52°26' O e 57 m de altitude. Foram usados os registros diários médios ou acumulados apenas dos dados equivalentes presentes e equivalentes nas duas estações: temperatura média do ar (°C), temperatura máxima do ar (°C), umidade relativa média do ar (%), precipitação pluviométrica acumulada (mm) e velocidade média do ar ($m\ s^{-1}$). Para caracterizar o momento da coleta, foram usados os dados do dia da coleta (+1D) e os dados médios ou acumulados dos dois dias anteriores, acrescidos do dia da coleta (+3D). No Anexo A são apresentados os dados meteorológicos utilizados para inferir o ambiente das populações espontâneas coletadas.

3.1.2 Análise de solo dos locais de coleta

Após a coleta das plantas, procedeu-se à coleta de uma amostra composta de solo na profundidade 0 a 20 cm. As amostras foram acondicionadas em sacos de plástico e encaminhadas ao laboratório de solos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, onde foi realizada a análise química de rotina (Anexo B).

3.1.3 Extração do óleo essencial e procedimento analítico

As plantas coletadas foram transportadas até a unidade da Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata, onde procedeu-se a preparação do material para extração do óleo essencial. Para tanto, caule e ramos maiores foram retirados e descartados, sendo levados ao destilador apenas as partes da planta em que há maior concentração de óleo, as quais são: flores, folhas e ramos menores.

3.1.3.1 Método de extração

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de destilação água-vapor em equipamento semi-industrial de inox da marca Linax, com capacidade para 20 kg de plantas. Neste método, semelhante ao método de arraste a vapor, o material vegetal e a água para a geração de vapor compartilham o mesmo espaço, porém sem entrarem em contato. A água, no fundo do tanque de inox, é aquecida por um queimador a gás de alta pressão e é vaporizada. O vapor ascende à camada de material vegetal, arrastando óleo essencial que carrega os componentes voláteis até o condensador. Nesse ponto, o vapor é resfriado, retornando ao estado líquido, quando então ocorre a separação da água e do óleo essencial.

São apresentadas na Figura 1 as imagens do equipamento utilizado e do material vegetal preparado para a extração do óleo essencial.



Figura 1 - [A] Destilador inox semi-industrial com capacidade para 20 kg de plantas. [B] Flores, folhas e pequenos ramos de *Tagetes minuta* L. prontos para proceder a destilação. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2016/2017.

Para extração do óleo essencial manteve-se como parâmetro para a conclusão do processo o tempo de duas horas a partir do início da condensação. Após cada extração, procedeu-se à higienização do destilador, a fim de evitar a contaminação cruzada das amostras coletadas. O óleo essencial obtido foi submetido à aplicação de força centrífuga a 2500 RPM por cinco minutos. Uma alíquota de 2 mL foi reservada em tubo vial, identificada e armazenada em freezer até ser encaminhada para análise fitoquímica.

3.1.3.2 Análise cromatográfica

A análise fitoquímica do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais, na Embrapa Agroindústria Tropicais. 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 mLmin⁻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°Cmin⁻¹ até 180°C por 27,5 min, continuada por rampa de aquecimento de 10°Cmin⁻¹ até 250°C, ao término da corrida (34,5min).

A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecidos 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, 1995). A quantificação foi feita através da normalização das áreas relativas dos picos, obtidos por cromatografia em fase gasosa acoplada a 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 (34,5min). 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.

3.1.3.3 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 analisados no aplicativo Winkyst do software CANOCO 4.5, usando como índice de similaridade a distância de Bray-Curtis. O arquivo específico gerado nesse procedimento foi então rodado no software CANOCO 4.5 e posteriormente no aplicativo CanoDraw 4.14 para geração dos gráficos. De forma auxiliar a análise

NMDS, foram também gerados gráficos do tipo Cluster (agrupamento) e a matriz de correlação utilizando o software Past[®] 3.13 (Anexo C).

A análise dos componentes principais (ACP) também foi realizada através do software CANOCO 4.5. Nesse procedimento foram utilizadas como variáveis resposta apenas os compostos majoritários o óleo essencial com percentual superior à 1%.

Para identificar as variáveis ambientais associadas às variações fitoquímicas das amostras, foi procedida a análise canônica de redundância (ACR). Os dados da análise de solo de cada local de coleta foram utilizados como variáveis explicativas e a data de coleta (dia juliano) como co-variável. Foram excluídas da análise as variáveis explicativas que apresentavam multicolinearidade, com VIF >20 (Variance Inflation Factor). A significância de cada variável foi dada pelo Teste de Permutação de Monte Carlo. As variáveis incluídas na análise final foram aquelas que apresentaram maior grau de explicação para as variáveis resposta.

3.2 Análise fitotécnica de cultivo de *Tagetes minuta* L.

3.2.1 Preparo da área e práticas de cultivo

Essa etapa da pesquisa trata da avaliação de um cultivo experimental realizado na Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata, Pelotas, RS (31°37'15"S; 52°31'24" O, 180m de altitude) durante o período de outubro de 2016 a junho de 2017. Onde procedeu-se o plantio de uma das populações prospectadas, correspondente à população do município de Pinheiro Machado (PMAC), em seis épocas distintas, para determinação das fases fenológicas de *T. minuta*, rendimento e análise da composição do óleo essencial extraído por hidrodestilação.

Para a realização do experimento, foram utilizadas as sementes da população de *T. minuta* coletadas no município de Pinheiro Machado, RS (PMAC), por ser a que produziu a maior quantidade de sementes maduras e que soltaram das flores durante a preparação para destilação.

3.2.2 Produção de mudas e transplante

A produção das mudas foi realizada em ambiente protegido, sobre uma bancada de tela galvanizada. Foram utilizadas bandejas de 128 células e substrato à base de húmus de minhoca e casca de arroz carbonizada, na proporção 2:1 (V:V). Foram realizadas seis sementeiras, em intervalos aproximados de 45 dias, sendo a primeira em 31 de novembro de 2016 e a última em 22 de março de 2017. Após a germinação, procedeu-se o raleio mantendo uma plântula por célula. Para a produção das mudas utilizou-se irrigação manual por aspersão.

Na Figura 2 é possível visualizar através de imagem as mudas produzidas em bandeja e posteriormente plantadas na área experimental. O transplântio das mudas foi realizado após o pleno estabelecimento das mesmas nas bandejas, tendo sido utilizado como parâmetro a altura de aproximadamente 10 cm medidos da superfície do substrato até o ápice das plantas. O espaçamento adotado neste experimento para instalação do cultivo de *T. minuta* das mudas foi de 0,20 m entre plantas e 0,25 m entre linhas.

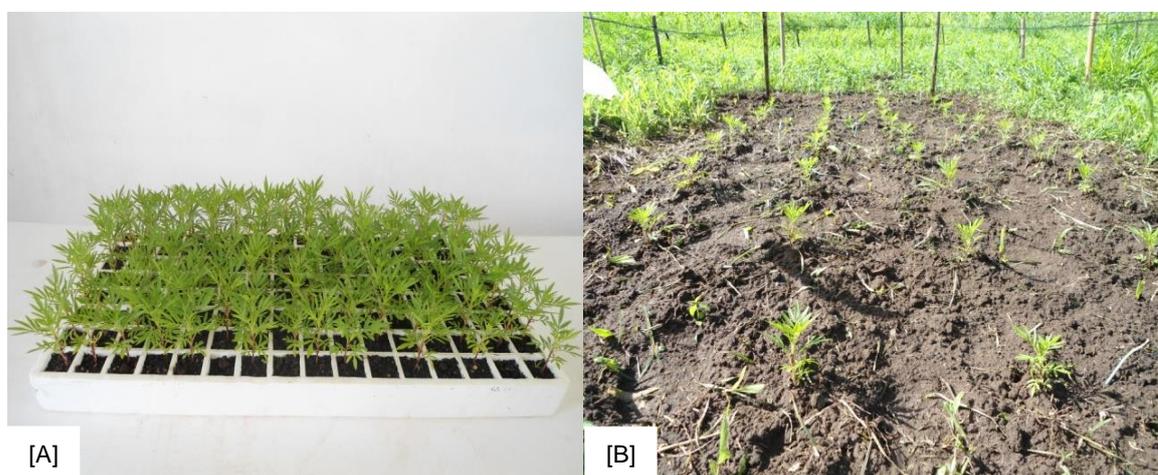


Figura 2 – [A] Mudas de *T. minuta* em bandeja de poliestireno expandido. [B] Transplântio das mudas a campo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2016/2017.

3.2.3 Práticas de cultivo

O preparo do solo foi realizado com uma grade de discos em toda a área do experimento. Não foi realizada nenhuma correção ou fertilização na área de cultivo. A área foi dividida em quatro blocos homogêneos, mantendo um metro entre os tratamentos, cada unidade experimental com 2,52 m², o que corresponde a 60,48 m² de área útil e 194,05 m² a área total. Após o preparo da área, procedeu-se o primeiro transplântio correspondente à época 1 (E1). Os demais transplântios foram realizados a cada 45 dias, correspondendo às demais épocas.

Na sequência da implantação do experimento Figura 3, fez-se necessário a realização de capina manual previamente à introdução das demais épocas. A irrigação por aspersão foi realizada somente até o estabelecimento das plantas no campo, em geral na primeira semana após o transplântio.

A ocorrência de altas temperaturas no mês de dezembro, associado à baixa umidade do ar, resultou em um clima desfavorável ao pegamento das mudas da E1, sendo necessário o replântio de algumas mudas. Não foi realizado nenhum manejo fitossanitário para controle de insetos e doenças durante o ciclo de cultivo. As colheitas foram realizadas semanalmente, sendo que das épocas E1 e E2 foram realizadas seis colheitas, E3, cinco colheitas e E4 apenas uma colheita.



Figura 3 – Plantio de *T. minuta* em diferentes épocas. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2016/2017.

3.2.3 Monitoramento de variáveis agrometeorológicas

Foi utilizado um sistema de aquisição automático de dados tipo datalogger, marca Campbell, modelo CR800. Os sensores instalados coletaram informações da temperatura média, máxima e mínima do ar (°C) e umidade relativa máxima e mínima do ar (%) (CS215Temperature & Relative Humidity Sensor), temperatura média, máxima e mínima do solo (°C) (T109 Temperature Probe) e radiação fotossinteticamente ativa (Licor LI190SB Quantum Sensor) instalado 1,2 m acima do solo, tanto densidade de fluxo média, máxima e mínima ($\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) quanto fluxo total (mmol m^{-2}). Os dados de fluxo total foram posteriormente convertidos para MJ m^{-2} , utilizando 4,57 como fator de conversão. O intervalo de leitura foi programado para a cada 60 segundos e o armazenamento a cada 60 minutos, totalizando 24 observações por dia. A partir desses dados horários foram calculados os valores diários médios ou acumulados.

Os dados diários de nebulosidade (escala de 0 a 10) foram obtidos nos boletins mensais da Estação Agroclimatológica de Pelotas, localizada em 31°48'07" S, 52°24'25" O e 13,24 m de altitude, distante cerca de 23 km (distância geodésica) da Estação Experimental Cascata - EEC. Os dados de precipitação pluviométrica foram obtidos do Posto Agrometeorológico, localizado na EEC, 31°37'16" S, 52°31'30" O, 160 m de altitude, por meio do Laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Clima Temperado. Para calcular os graus-dia em cada época de cultivo foi utilizada a seguinte equação:

$$GD (T_{\text{mín}_{\text{dia}}} > 10^{\circ}\text{C}) = \sum_{i=1}^n (T_{\text{méd}_{\text{dia}}} - T_{b_{10}})$$

Quando a temperatura mínima diária do ar era superior à 10°C e a equação

$$GD (T_{\text{mín}_{\text{dia}}} < 10^{\circ}\text{C}) = \sum_{i=1}^n \left(\frac{(T_{\text{máx}_{\text{dia}}} - T_{b_{10}})^2}{2 \times (T_{\text{máx}_{\text{dia}}} - T_{\text{mín}_{\text{dia}}})} \right)$$

Quando a temperatura mínima diária do ar era inferior à 10°C.

Como temperatura base para *T. minuta*, foi utilizado o valor médio de 10°C. Esse valor médio é corroborado pelo trabalho de Fagundes et al. (2010), que calcularam a temperatura-base para os subperíodos de transplante-botões florais visíveis e de botões florais visíveis-capítulos senescentes em 13°C e 7°C, respectivamente, para a espécie *Aspilia montevidensis* (Spreng.) (Asteraceae).

Os dados diários foram agrupados em decêndios para melhor visualização gráfica das tendências climáticas. No Anexo D são apresentados os valores decendiais das variáveis do clima ao longo do cultivo de *T. minuta*.

3.2.4 Avaliações fitotécnicas

Para realizar uma descrição padronizada dos estádios de desenvolvimento de *T. minuta* de acordo com suas características fenológicas foi utilizada como referência a escala estendida BBCH-Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry, sistema empregado para uniformizar a codificação de identificação fenológica dos estádios de crescimento para todas as espécies de plantas, tanto mono quanto dicotiledôneas (HACK et al., 1992).

3.2.4.1 Massa seca e partição da biomassa

O crescimento das plantas foi determinado ao longo do ciclo de cultivo, através da quantificação da produção acumulada da massa seca (MS) da parte aérea das plantas. Considerando a maturação indeterminada das flores da família Asteraceae, foi realizada avaliação da floração por amostragem em dezesseis plantas por tratamento a cada dois dias, para identificar o início da formação de sementes. Para tanto, as hastes florais foram ensacadas e movimentadas buscando a liberação de sementes, nesse procedimento foi utilizado um saco transparente de 50L. Após identificar o estágio de desenvolvimento estabelecido como critério, as colheitas foram realizadas semanalmente, com início em 04 de maio e término em 07 de junho de 2017, correspondendo a 6 semanas de avaliação. Na primeira semana procedeu-se

a colheita das épocas 1 e 2, na segunda semana foram colhidas as épocas 1, 2 e 3, até a sexta semana quando foram realizadas além destas, a colheita da época 4. O número de plantas colhidas ao longo das semanas para avaliação foram 8, 12, 20, 21, 26 e 50, respectivamente. Após a colheita procedeu-se o fracionamento das partes das plantas em caule, flores, folhas e ramos. A massa da matéria fresca foi obtida através da pesagem do material em balança analítica de precisão. Para a determinação da massa da matéria seca, as plantas foram colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas à estufa de secagem e ventilação forçada, com temperatura de 105°C por 72h e, após esse período, os sacos de papel foram retirados da estufa e realizou-se uma nova pesagem, determinando pela diferença de peso do material fresco e seco, a massa da matéria seca.

3.2.4.2 Área foliar e índice de área foliar (IAF)

A medição da área foliar foi realizada nos dias em que houve colheita de plantas para extração do óleo essencial. Foram avaliadas ao longo do período de colheita um total de 37 plantas da época 1, 36 da época 2, 46 plantas da época 3 e 18 plantas da época 4. As medições de área foliar foram realizadas no equipamento LI-COR LI-3100C. e, considerando que cada planta ocupava 0,05 m², foi estimado o índice de área foliar IAF para 1 m².

3.2.4.3 Extração de óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado em balões de 5 L. O tempo de hidrodestilação foi de 2 horas a partir do início da condensação, momento no qual já não se verificava o aumento do volume de óleo essencial. Foram utilizados 300g de massa fresca das folhas e flores e 2L de água destilada em cada balão, para cada tratamento, mantendo a proporção de flores e folhas verificada na amostra coletada. Ao final de cada etapa, o óleo

essencial correspondente a cada época de plantio foi coletado com uma pipeta e armazenado em frascos de vidros de 2 mL à temperatura -4°C , protegidos da luz.

3.2.4.4 Rendimento e produtividade de óleo essencial

A determinação do rendimento do óleo essencial (%) foi obtida a partir da relação do volume de óleo extraído (mL) pela massa (g) de flores e folhas colocadas no balão. A produtividade (kg ha^{-1}) foi estabelecida a partir da relação entre o rendimento de óleo essencial e a produção de massa fresca de *T. minuta* em um hectare.

3.2.5 Caracterização cromatográfica de óleo essencial

O procedimento metodológico analítico para a caracterização fitoquímica do óleo essencial realizada nesta etapa da pesquisa foi o mesmo descrito no item 3.1.3.2.

3.2.6 Delineamento experimental e procedimento estatístico

O delineamento adotado foi blocos casualizados (DBC), com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram das quatro épocas de transplante. Para cada época de transplante uma data de colheita está relacionada.

Foram realizadas análises de regressão no intuito de estabelecer equações de predição para determinados fatores de interesse. Para a predição da duração do ciclo de cultivo (transplante-colheita) de *Tagetes minuta* L. foi utilizado um modelo linear generalizado (MLG) com distribuição Quasi-Poisson e função de ligação identidade. Para o modelo foram utilizados como preditores o somatório de graus-dia acumulados entre o transplante e a colheita ($\sum\text{GD}_{T-C}$) e o dia Juliano referente à data de transplante (DJT), a saber, E1 em 20/dez/2016 é equivalente ao número 354 do ano.

Para as demais épocas de cultivo, foi utilizado o número 354 acrescido do número de dias acumulados até respectiva data de transplante, sendo E2 em 18/jan/2017 equivalente à 383, E3 em 13/fev/2017 equivalente à 409 e E4 em 7/mar/2017 equivalente à 431.

A predição da massa seca total (MST, T ha⁻¹) de *Tagetes minuta* L. foi realizada através de duas regressões lineares simples, utilizando na primeira os valores da massa fresca total (MFT, T ha⁻¹) como preditor, e na segunda os valores do dia juliano do transplante (DJT), sendo 354, 383, 409 e 431 para as épocas E1, E2, E3 e E4 respectivamente.

Para a predição tanto do IAF quanto da produtividade de óleo essencial (T ha⁻¹) foi utilizada uma regressão linear múltipla, sendo os preditores usados a massa fresca total (MFT, T ha⁻¹) e o dia juliano da colheita (DJC), sendo estes 123 (4 de maio), 130 (11 de maio), 136 (17 de maio), 143 (24 de maio), 150 (31 de maio) e 157 (7 de junho).

As correlações existentes entre as respostas fitotécnicas e a composição química das amostras de óleo essencial de *T. minuta* produzido em diferentes épocas de cultivo foram avaliadas por meio de análise de componentes principais (ACP) e análise de canônica de redundância (ACR), seguindo os procedimentos descritos no item 3.1.3.1 com uso do software CANOCO 4.5 e, posteriormente, no aplicativo CanoDraw 4.14 para geração dos gráficos.

Para identificação das variáveis ambientais que melhor explicavam as variáveis respostas massa seca total (MST), massa seca de flores e folhas (MSFLFH), produtividade de óleo essencial (OEprod) e índice de área foliar (IAF) de *Tagetes minuta* L. cultivada em diferentes épocas de transplante, foi realizada uma análise canônica de redundância (ACR), utilizando como variáveis ambientais explicativa radiação fotossinteticamente ativa (RFA_{acum}), graus-dia (GD_{acum}), precipitação pluviométrica (PP_{acum}) e nebulosidade (N_{média}). As variáveis foram verificadas quanto à multicolinearidade considerando o fator de inflação da variância (VIF). Quando constatada a multicolinearidade (VIF > 20), foi procedida uma nova análise utilizando *forward selection* para seleção das variáveis significativas ($p > 0,05$), que seriam incluídas no modelo da ACR. No caso específico, foram utilizadas no modelo final apenas a RFA_{acum} como variável explicativa e a duração do ciclo de cultivo (ciclo) como co-variável.

A correlação entre a composição dos compostos majoritários (>1%) e as amostras de óleo essencial obtidas em diferentes datas de colheita foi realizada mediante a análise de componentes principais (ACP).

Para verificar a significância ($p < 0,05$) e o efeito das variáveis ambientais explicativas sobre a composição química dos compostos majoritários (>1%) e sobre o rendimento de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em diferentes datas de colheita foi realizada uma análise canônica de redundância (ACR). As variáveis foram verificadas quanto à multicolinearidade, considerando o fator de inflação da variância (VIF). Quando constatada a multicolinearidade ($VIF > 20$), foi procedida uma nova análise utilizando *forward selection* para seleção das variáveis significativas que seriam incluídas no modelo da ACR. No caso específico, foram avaliadas a massa seca total (MST), massa seca de flores e folhas (MSFLFH), dia juliano da colheita (DJC), radiação fotossinteticamente ativa acumulada nos dias anterior e da colheita (RFA_{acum}), graus-dia acumulados nos dias anterior e da colheita (GD_{acum}), média da temperatura média do ar nos dias anterior e da colheita ($T_{m\text{méd ar}}$) e precipitação pluviométrica acumulada nos dias anterior e da colheita (PP_{acum}), sendo selecionadas apenas RFA_{acum} , PP_{acum} e $T_{m\text{méd ar}}$ como variáveis explicativas.

4 Resultados e discussão

4.1 Caracterização fitoquímica do óleo essencial de populações de *Tagetes minuta* L.

O resultado da análise cromatográfica do óleo essencial de *T. minuta* identificou 26 compostos, sendo os mais expressivos a cis-tagetona (37,47%), cis- β -ocimeno (35,75%), dihidrotagetona (14,29%), trans-tagetona (3,24%) e limoneno (3,16%), totalizando 93,91% da constituição das amostras (Tabela 2). O óleo essencial de uma única espécie de planta pode conter entre 20 e 60 compostos em concentrações variáveis (GAKKUB et al., 2016). Segundo este mesmo autor, os óleos essenciais, no entanto, são caracterizados por dois ou três constituintes principais, que estão presentes em altas concentrações (20-90%). Embora seja usual a caracterização dos óleos essenciais por seus componentes principais, é necessário considerar evidências de que os componentes menores desempenham um papel importante na determinação das propriedades biológicas dos óleos essenciais, como as atividades antimicrobianas através do sinergismo (GAKKUBI et al., 2016).

Tabela 2 - Composição do óleo essencial de *T. minuta* das diferentes populações. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, Maio/2016.

Composição (%)	IR*	Amostras													Média (erro)
		RGDE	DPTO	CRTO	CGCU	PLTS	MRED	SLS-1	SLS-2	TRÇU	CAN-1	PMAC	CAN-2	SLS-3	
Sabineno	982				0,69	0,40	0,31	0,44	0,26	0,20	0,20	0,55	0,24	0,64	0,39 (±0,06)
Mirceno	995	0,08	0,09	0,08	0,08	0,09	0,08	0,09	0,07	0,06	0,06	0,13	0,09	0,09	0,08 (±0,01)
delta-2-careno	1013				0,31	0,41	0,46	0,22	0,33	0,32	0,33	0,48	0,36	0,35	0,36 (±0,02)
Limoneno	1035				6,04	2,63	2,40	3,45	2,30	1,75	1,76	4,15	1,75	5,43	3,16 (±0,49)
cis-β-ocimeno	1040	26,19	35,81	29,29	33,75	32,32	39,90	33,20	42,71	34,25	34,38	35,24	42,98	44,77	35,75 (±1,52)
Dihidrotagetona	1055	58,23	25,00	18,87	17,88	5,64	6,10	8,51	4,75	7,35	7,37	10,33	5,99	9,79	14,29 (±4,04)
NI-1	1098				1,68	2,03	2,43	1,56	2,74	2,69	2,69	0,97	2,36	2,13	2,13 (±0,18)
Linalol	1103				0,17	0,06	0,05	0,08	0,05	0,06	0,06	0,19	0,03	0,04	0,08 (±0,02)
cis-tujeno	1105	0,02	0,06	0,06											0,05 (±0,01)
2E, 4E-octadienol	1117	0,09	0,20	0,07											0,12 (±0,04)
allo-ocimeno	1130	0,31	0,43	0,36	0,43	0,38	0,52	0,38	0,65	0,50	0,53	0,41	0,59	0,59	0,47 (±0,03)
cis-epóxi-ocimeno	1133	0,12	0,34	0,13	0,07	0,17	0,10	0,24	0,05	0,08	0,08	0,44	0,10	0,07	0,15 (±0,03)
cis-óxido de limoneno	1137	0,19	0,14	0,82	0,66	0,74	0,88	0,80	0,99	0,97	0,95	0,51	0,82	0,75	0,71 (±0,08)
trans-tagetona	1146	0,44	4,94	4,14	4,35	2,78	2,54	3,65	2,89	2,98	3,00	4,62	2,59	3,15	3,24 (±0,32)
cis-tagetona	1155	11,13	10,77	45,08	31,90	51,55	43,41	45,59	40,80	47,56	47,37	40,00	40,70	31,30	37,47 (±3,63)
NI-2	1166							0,41	0,15	0,18	0,17	0,58	0,12	0,13	0,25 (±0,07)
cis-ocimenona	1233	0,42	11,35	0,15	0,13	0,08	0,09	0,10	0,12	0,11	0,11	0,12	0,20	0,09	1,00 (±0,86)
car-3-en-2-ona	1242	1,41	10,16	0,27	0,23	0,20	0,19		0,27	0,28	0,28		0,56	0,16	1,27 (±0,89)
NI-3	1264							0,61	0,03	0,05	0,05	0,98	0,06	0,06	0,23 (±0,14)
silfirpefol-5-eno	1336	0,18	0,08	0,10	0,11	0,10	0,10	0,11	0,09	0,09	0,10		0,06		0,10 (±0,01)
delta-elemeno	1354	0,27	0,19	0,19	0,24	0,12	0,13	0,19	0,16	0,12	0,11	0,13	0,09	0,10	0,16 (±0,02)
β-cariofileno	1432				0,30	0,10	0,10	0,15	0,14	0,10	0,10	0,09	0,09	0,09	0,13 (±0,02)
α-cariofileno	1466				0,28	0,08	0,08	0,12	0,12	0,08	0,08	0,09	0,07	0,09	0,11 (±0,02)
gama-muureno	1493				0,10										0,10 (-)
Biclogermacreno	1510	0,87	0,37	0,40	0,60	0,13	0,15	0,10	0,33	0,20	0,20		0,14	0,19	0,31 (±0,07)
Espatulenol	1592	0,05	0,07												0,06 (±0,01)
Data da coleta		28/abr	9/mai	9/mai	11/mai	1/jun	7/jun	8/jun	8/jun	8/jun	15/jun	15/jun	15/jun	16/jun	
Dia Juliano		118	129	129	131	152	158	159	159	159	166	166	166	167	

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

Em pesquisa realizada no Irã, os principais componentes relatados para *T. minuta* foram dihidrotagetona (33,86%), E-ocimeno (19,92%), tagetona (16,15%), cis- β -ocimeno (7,94%), Z -ocimeno (5,27%), limoneno (3,1%) e epoxiocimeno (2,03%) (KARIMIAN; KAVOOSI; AMIRGHOFRAN, 2014). Já na Argentina, utilizando como método de extração a hidrodestilação, o óleo da mesma espécie foi caracterizado pela presença de dihidrotagetona (10,4%), Cis- e trans-tagetona (53,2% e 3,0% respectivamente), cis- β -ocimeno (19,9%) e limoneno (2,4%) (LIZARRAGA et al., 2017). A maior semelhança na composição química entre as amostras coletadas no trabalho em comparação com os dados de trabalhos realizados na Argentina em comparação aos verificados no Irã, já era esperada, devido aos fatores ambientais relacionados à localização geográfica, pois integram a zona temperada sul.

Ainda com relação ao resultado da análise cromatográfica, é possível observar que, considerando o dia Juliano das coletas, há uma tendência de aumento do composto cis- β -ocimeno e de redução de dihidrotagetona no óleo essencial de *T. minuta* (Tabela 2). Tal resultado pode ser explicado pela alteração das fenofases, ou seja, conforme ocorre o desenvolvimento das plantas, ocorre a redução da proporção de folhas em relação as flores nas plantas, o que explica o aumento de um composto e redução de outro. Considerando estudos de Kumar et al. (2012), o qual observou que a proporção de dihidrotagetonas (39,1%) foi maior no óleo de folhas, enquanto a presença de cis-ocimeno (36,5%) e ocimenonas (41,3%) no óleo de flores de *T. minuta*.

Dentre as amostras de óleo essencial analisadas, a última amostra coletada em 16 de junho, SLS-3, corresponde à maior concentração dos cis- β -ocimeno. Por ser uma população de ocorrência mais tardia, esteve exposta a temperaturas mais baixas e menor radiação fotossinteticamente ativa (PAR). Embora estes fatores não expliquem a variação na composição química do óleo essencial, é importante considerar essa relação, uma vez que influenciam a dinâmica do metabolismo da planta interferindo diretamente na realização da fotossíntese.

Segundo Gakuubi et al. (2016), pesquisas realizadas com *T. minuta* identificaram diferenças significativas nos perfis químicos do óleo essencial. Tais variações foram atribuídas a uma ampla gama de fatores, entre os quais o método de colheita, a localização geográfica da planta, o estágio de desenvolvimento no momento da colheita, as partes da planta utilizadas na obtenção do óleo e as condições climáticas sob as quais a planta cresce.

4.1.1 Análise de similaridade entre as populações de *Tagetes minuta* L.

Na Figura 4 é apresentada a análise de similaridade (NMDS) entre as amostras de óleo essencial de *T. minuta* L. das diferentes populações coletadas. O baixo valor do índice *stress* (*standardized residual sum of squares*) verificado na análise indica que ela tem elevada fidelidade e baixa probabilidade de má interpretação da ordenação. No Anexo C está a matriz de valores do índice de similaridade de Bray-Curtis e os gráficos de cluster.

A composição química do óleo essencial das populações RGDE e DPTO destoa das demais amostras (Figura 4 [A]). Diante desta constatação, optou-se por cultivar as sementes recolhidas no preparo do material para extração do óleo essencial e confecção de exsiccatas, as quais foram encaminhadas para o Herbário da Embrapa Clima Temperado (ECT) onde se procedeu à identificação botânica e depósito do material (Tabela 3). A identificação botânica demonstrou que RGDE trata-se da espécie *Tagetes ostenii* Hicken (Figura 5 [B]). A espécie habita solos arenosos e rochosos, diferindo de *Tagetes minuta* L. (Figura 5 [A]) na biologia vegetal pelo menor número de capítulos na inflorescência, pelo involúcro com cinco ou seis brácteas, pelo número de flores e pelas flores femininas distintamente menores (OLIVEIRA; DEBLE; MARCHIORI, 2005). A identificação dessa espécie nesse trabalho reforça a caracterização do ambiente de ocorrência de *T. ostenii*, uma vez que o local de coleta desta população corresponde ao município de Rio Grande, onde os solos são classificados como predominantemente arenosos (CUNHA, 1996). Quanto às amostras DPTO, acredita-se na possibilidade da identificação de um quimiotipo diferente de *T. minuta*, resultante de variações biológicas causada pelos efeitos de diferentes solos, temperatura, condições meteorológicas e luz entre outros fatores (ROHLOFF, 2003). Estudos realizados sobre a composição química do óleo essencial de *T. minuta* em diversos locais indicam a existência de diferentes quimiotipos desta espécie (SENATORE et al., 2004; TANKEU et al., 2013).

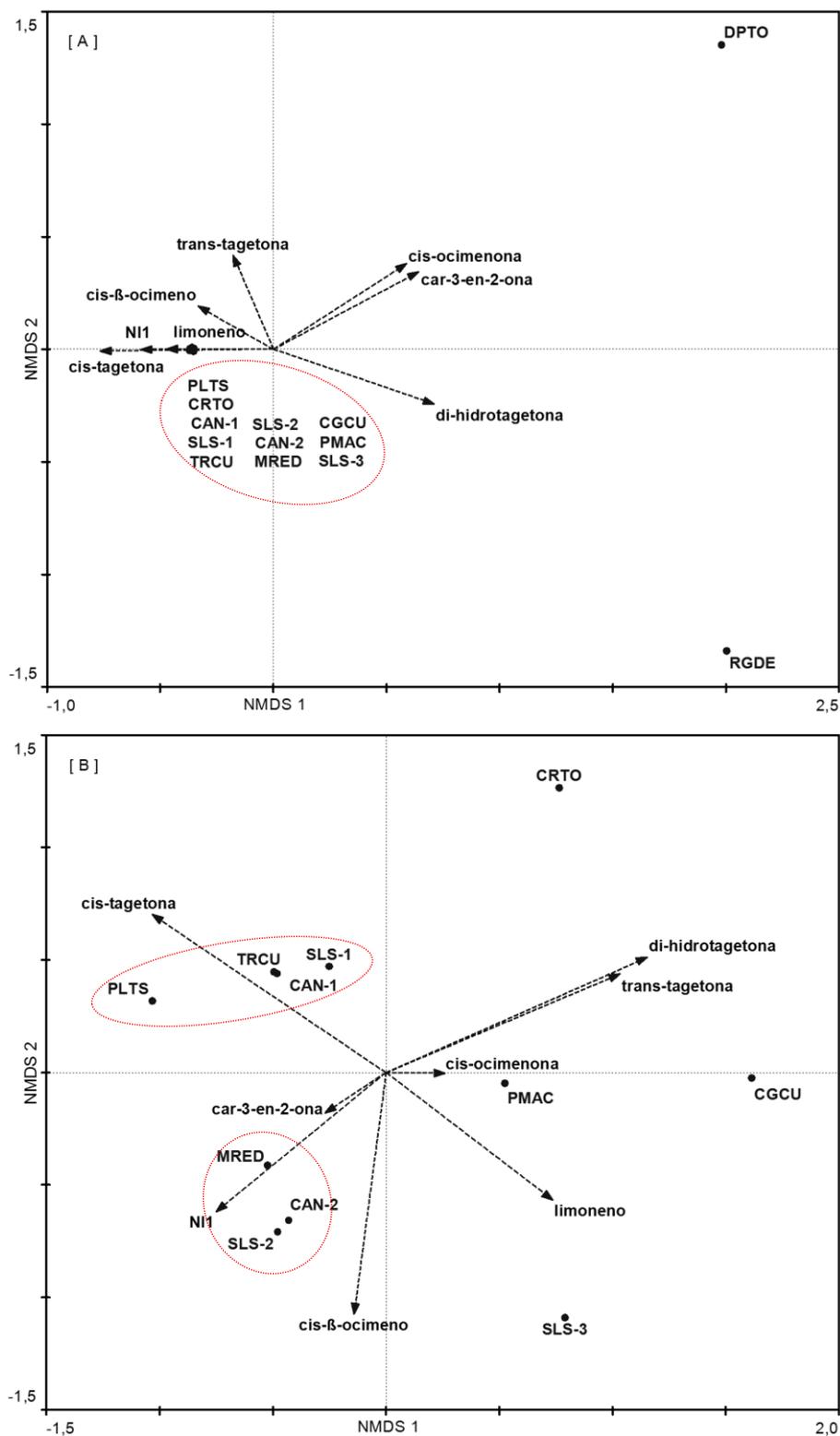


Figura 4 – Análise de similaridade por escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) de amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes populações, considerando todas as amostras [A] e excluídas as amostras DPTO e RGDE [B]. Stress (standardized residual sum of squares)= 0,00050. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2016/2017.

Tabela 3 - Informações dos espécimes, número de tombo das exsicatas no Herbário da Embrapa Clima Temperado (ECT), identificação de nove populações de *Tagetes* e local de coleta.

Código identificador	Espécie	Origem
ECT0005096	<i>Tagetes ostenii</i> Hicken	Rio Grande - RGDE
ECT0005097	<i>Tagetes minuta</i> L.	Pelotas – PLTS
ECT0005098	<i>Tagetes minuta</i> L.	Morro Redondo - MRED
ECT0005099	<i>Tagetes minuta</i> L.	São Lourenço do Sul – SLS 1
ECT0005100	<i>Tagetes minuta</i> L.	São Lourenço do Sul – SLS 2
ECT0005101	<i>Tagetes minuta</i> L.	Turuçu – TRÇU
ECT0005102	<i>Tagetes minuta</i> L.	Candiota – CAN 1
ECT0005103	<i>Tagetes minuta</i> L.	Pinheiro Machado - PMAC
ECT0005104	<i>Tagetes minuta</i> L.	Candiota – CAN 2



Figura 5 – [A] *Tagetes minuta* L. [B] *Tagetes ostenii* Hicken. Fonte: Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Na Argentina, três grupos de quimiotipos de óleo essencial de *T. minuta* foram identificados em diferentes locais: quimiotipo 1 com predomínio de cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, cis-tagetona, cis- e trans-ocimenona (entre 10 e 20%) e limoneno; quimiotipo 2 principalmente 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 quimiotipo 3 predominando trans- β -ocimeno (cerca

de 35%) e α -felandreno (cerca de 30%) (GIL; GHERSA; LEICACH, 2000). Analisando a composição química do DPTO, é possível observar uma grande semelhança entre este e a descrição do quimiotipo 1, identificado na Argentina.

Com relação à análise de similaridade (NMDS) (Figura 4 [B]), para evitar desvios na análise, foi processada sem as amostras RGDE e DPTO, verificou-se a formação de dois conjuntos distintos.

O primeiro conjunto indica uma forte correlação entre a expressão do composto cis-tagetona e as amostras PLTS, TRCU, CAN-1 e SLS-1. O outro aponta a correlação de um composto não identificado (NI1), cis- β -ocimeno e car-3-em-2-ona, com as populações MRED, CAN-2 e SLS-2. A análise de similaridade entre as 11 populações de *T. minuta* acusa a formação de dois padrões, um que agrupa quatro e outro, três populações, ambos com associação superior a 94% cada um. A relação entre as demais populações e compostos químicos das amostras de óleo essencial apresentam associação fraca, não permitindo a formação de agrupamentos. Embora as subpopulações correspondam à mesma espécie, é possível que apresentem variações na sua constituição genética, em função de sua adaptação a diferentes ambientes (SEBBENN et al., 1999).

Quanto aos compostos car-3-em-2-ona e cis-ocimenona, estes perdem importância no contexto da Figura 4 [B], isto se deve à expressão destes compostos estarem associados as amostras retiradas da análise.

As amostras PLTS, TRCU, CAN-1, MRED, CAN-2 e SLS-2, as quais correspondem aos agrupamentos identificados, apresentaram correlação negativa com a trans-tagetona, limoneno e a dihidrotagetona. Os maiores teores de trans-tagetona e dihidrotagetona foram observados nas amostras CRTO e CGCU. As amostras SLS-3 e CGCU foram as que apresentaram maior teor de limoneno e CRTO o menor teor de cis- β -ocimeno.

Na etapa de prospecção das populações de *T. minuta*, RGDE e DPTO foram as primeiras populações coletadas, o que corresponde aos dias julianos 118 e 129, respectivamente. Cabe destacar que, de acordo com a análise de cromatografia gasosa, o composto espatulenol ocorreu somente nestas duas amostras. Estes compostos são geralmente sintetizados pelas plantas de acordo com as suas necessidades específicas, que incluem as condições ambientais, as interações com outras plantas e a proteção contra predadores (SAVITHRAMMA et al., 2011).

4.1.2 Análise de componentes principais das populações de *Tagetes minuta* L.

Na Figura 6 é apresentada a análise de componentes principais (ACP) das amostras de óleo essencial de *T. minuta* L. considerando apenas os oito compostos com teor médio acima de 1%.

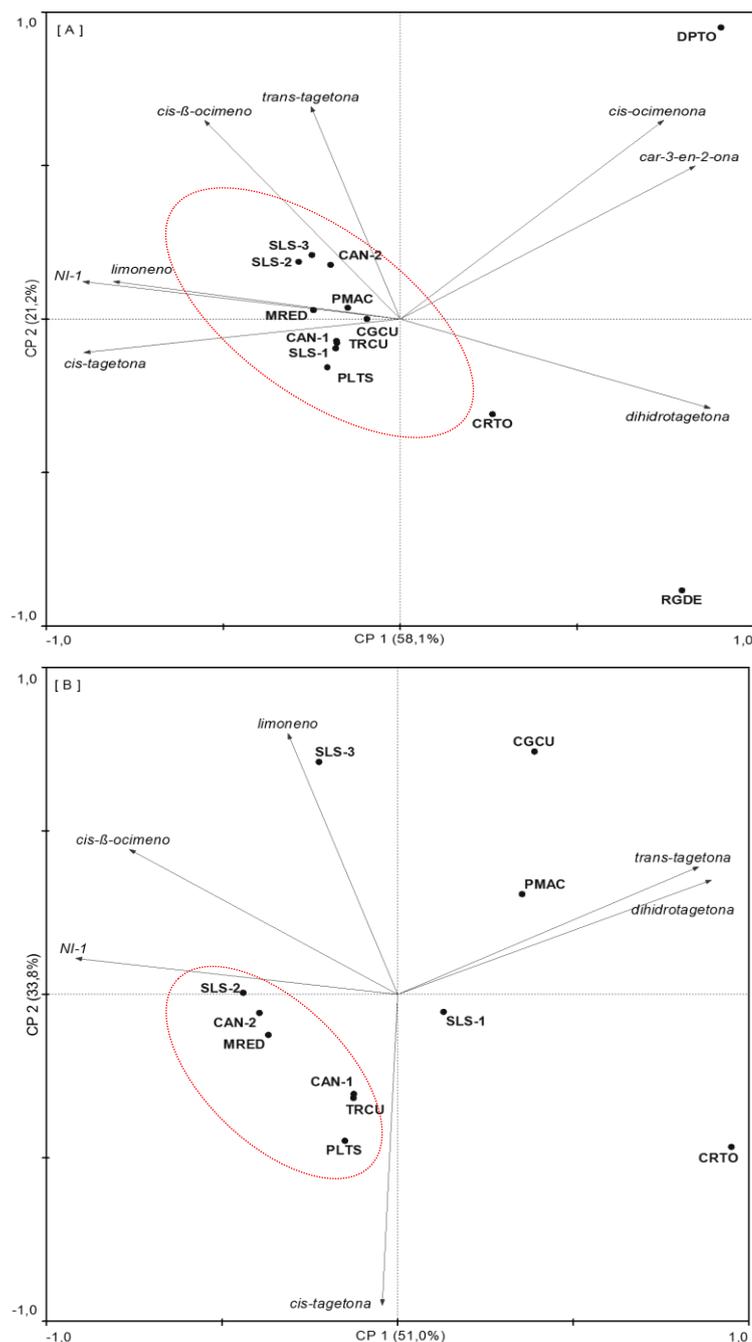


Figura 6 – Análise de componentes principais de amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes populações, considerando os compostos com teor >1%. [A] Todas as amostras e compostos com teor médio > 1% [B] Sem as amostras DPTO e RGDE e sem os compostos *cis-ocimeno* e *car-3-en-2-ona*. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2016/2017.

Os compostos utilizados na Figura 6 [A] explicaram 79,3% das variações existentes nas amostras coletadas, sendo 58,1% na CP 1 e 21,2% na CP 2. Os compostos cis-ocimenona e car-3-en-2-ona tiveram correlação positiva e fortemente relacionada com a amostra DPTO. A dihidrotagetona teve correlação negativa com a trans-tagetona, cis- β -ocimeno, limoneno, NI-1 e cis-tagetona, indicando que seu valor decresce à medida que esses compostos aumentam o seu teor no óleo essencial. Contudo, as amostras DPTO e RGDE, pelos motivos citados anteriormente, parecem distorcer a análise, uma vez que se comportam de forma anômala em relação às demais. Na Figura 6 [B], sem essas amostras e sem os compostos diretamente relacionados a elas, o resultado é bastante diferente. Os compostos explicaram 84,8% das variações entre as amostras, sendo 51,0% na CP 1 e 33,8% na CP 2. Agora é possível verificar que a trans-tagetona e a dihidrotagetona se correlacionaram positivamente entre si e possuem correlação negativa com ocis- β -ocimeno e NI-1. Ou seja, à medida que os teores de um composto aumentam, o do outro diminui. Por sua vez, o limoneno e a cis-tagetona mostraram correlação negativa entre si, sendo esse último composto aparentemente pouco correlacionado com a variação dos demais compostos.

As amostras PLTS, TRCU e CAN-1 tiveram uma maior correlação com a cis-tagetona enquanto MRED, CAN-2 e SLS-2, se correlacionaram melhor com NI-1 e cis- β -ocimeno. Porém, todas essas seis amostras apresentaram correlação negativa com a trans-tagetona e a dihidrotagetona. Os maiores teores de trans-tagetona e dihidrotagetona foram observados nas amostras CRTO e CGCU. Com relação ao teor de limoneno, composto de interesse da indústria para elaboração de inseticidas (WANJALA; WANZALA, 2016), CGCU e SLS-3 foram as amostras com maior teor. Sob a perspectiva da produção de base ecológica, estas populações que apresentam maior expressão do composto limoneno poderiam ser selecionadas para o manejo do sistema de produção, e utilizadas de forma a favorecer o desenvolvimento das culturas de interesse econômico.

Na Índia, a análise do óleo essencial da *T. minuta* apresentou maiores quantidades de ocimeno (54,97%) e dihidrotagetona (32,58%) (SINGH et al., 2003). Amostras de óleo essencial provenientes da região Centro-Oeste do Brasil, apresentaram maiores teores de dihidrotagetona (54,21%), limoneno (6,96%), tagetona (6,73%) e cis- β -Ocimeno (5,11%) (GARCIA et al., 2012).

O limoneno é também utilizado como componente de muitos produtos alimentares, sabonetes e perfumes por seu sabor e odor de limão. Além disso, também é um ingrediente ativo registrado em diversos produtos utilizados como inseticidas, repelentes de insetos, repelentes para cães e gatos. Esse composto foi registrado pela primeira vez como um inseticida nos EUA em 1985 (HEBEISH et al., 2008).

Para verificar quais variáveis ambientais poderiam explicar as variações nos compostos dos óleos essenciais entre as amostras, foi realizada a análise canônica de redundância (ACR), utilizando indicadores obtidos da análise do solo de cada local de coleta das populações e a data da coleta como co-variável (Figura 7). O detalhamento da ACR e a tabela completa dos indicadores do solo são apresentados no Anexo E. Apenas os teores de K ($p=0,006$) e H+Al ($p=0,032$) foram variáveis explicativas significativas e, portanto, incorporadas no modelo com todas as amostras e compostos com teor > 1% (Figura 7 [A]). A data da coleta utilizada como co-variável também foi significativa ($p=0,040$). A significância dessa relação é dada pelo resultado do Teste de Permutação de Monte Carlo ($p=0,0040$). Os teores de K e H+Al explicaram 34,2% da variação dos compostos do óleo essencial das diferentes populações de *T. minuta* enquanto a data da coleta explicou 41,2%%, totalizando 75,4%.

O teor de K apresentou forte correlação positiva com os percentuais de cis-ocimenona e car-3-en-2-ona ocorridos na amostra DPTO. O potássio (K) é um nutriente presente nos tecidos das plantas, não faz parte dos compostos orgânicos, porém interfere em vários processos fisiológicos tais como: fotossíntese, extensão celular, translocação de fotoassimilados para partes em crescimento, ativação enzimática de aproximadamente sessenta enzimas, síntese de amido e de proteínas, abertura e fechamento dos estômatos, resistência a doenças e melhor eficiência no uso da água (CAKMAK, 2005), o que pode estar relacionado a este resultado.

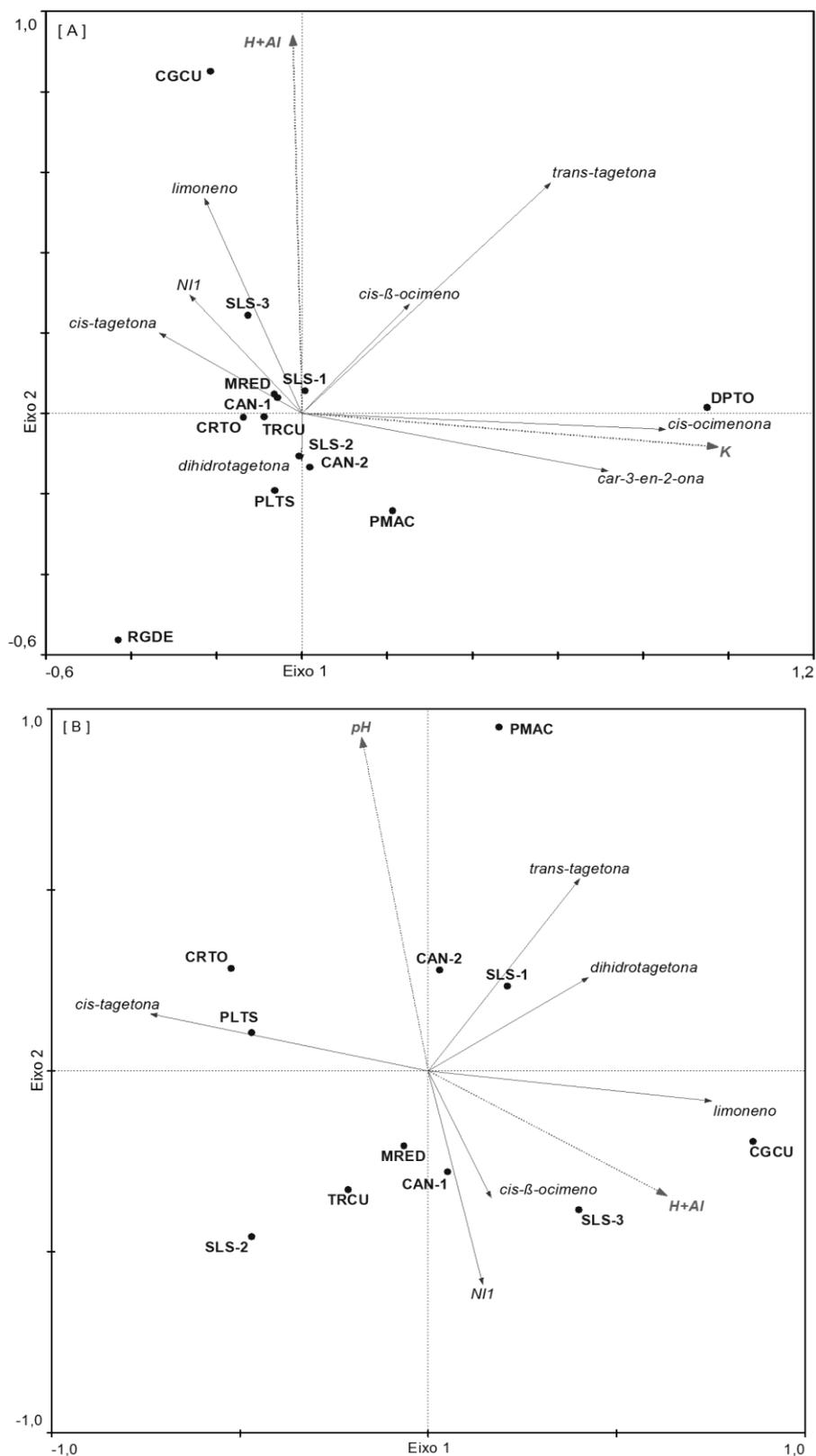


Figura 7 – Análise canônica de redundância (ACR) de amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes populações, considerando os compostos com teor > 1%. [A] Todas as amostras e compostos com teor médio > 1%. [B] Sem as amostras DPTO e RGDE e sem os compostos cis-ocimeno e car-3-en-2-ona. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018. Variáveis explicativas significativas ($p < 0,05$): H+Al, acidez potencial; pH, potencial hidrogeniônico; K, potássio. Co-variável: data de coleta (dia juliano).

Ao analisar os dados sem as duas amostras destoantes e sem os compostos cis-ocimeno e car-3-en-2-ona (Figura 7 [B]), as variáveis ambientais explicativas com significância estatística passam a ser o H+Al ($p=0,020$) e o pH ($p=0,028$), que em conjunto explicaram 39,2% as variações ocorridas na composição das amostras.

A data da coleta, usada na análise como co-variável, também foi significativa ($p=0,0220$), porém teve um grau de explicação menor (27,0%) do que a verificada quando foram utilizadas todas as amostras. A significância da relação verificada entre o H+Al, pH e data de coleta com a composição do óleo essencial das amostras é dada pelo resultado do Teste de Permutação de Monte Carlo ($p=0,0080$).

Sem as amostras DPTO e RGDE, os valores de H+Al foram mais elevados nas amostras CGCU e SLS-3, que, por sua vez, apresentaram os maiores percentuais de limoneno e do composto NI-1. É possível perceber também que a H+Al mostrou uma correlação negativa com a cis-tagetona e, conseqüentemente, com as amostras CRTO e PLTS, mais ricas nesse composto. Já o pH apresentou maior valor na amostra PMAC e uma correlação negativa com o composto NI-1. Segundo Wanzala e Wanjala (2016), *T. minuta* tolera um pH do solo entre 4,3 e 7,0. Várias reações enzimáticas, nas plantas aromáticas, são necessárias para a síntese dos monoterpenos, que são formados através da rota do ácido mevalônico (CROTEAU et al., 2000). É bastante provável que com o abaixamento do pH, ou seja, aumento da concentração de H⁺ no meio externo, a eficiência da “bomba iônica” ligada a ATPases de membrana decresce e a absorção passiva de H⁺ é aumentada (MARSCHNER, 1986). A associação apresentada entre os elementos químicos do solo e o metabolismo primário das plantas pode estar relacionada a enzimas que ativam rotas metabólicas no metabolismo secundário de *T minuta*.

Tanto as variáveis meteorológicas, como diferentes tipos de solos, vegetação, são elementos que imprimem ao ambiente, características específicas que levam a formação de nichos ecológicos², onde a relação do indivíduo ou da população com esses fatores determina a formação de padrões fitoquímicos. Assim, a caracterização do perfil fotoquímico através da prospecção de populações de uma espécie torna-se extremamente relevante, uma vez que permite qualificar o uso de produtos naturais,

² Segundo Odum (1998) sobre a dimensão do conceito de nicho ecológico, este extrapola o ambiente físico ocupado pelo organismo, abrangendo um papel funcional na comunidade e a sua posição em gradientes ambientais de temperatura, umidade, pH, solo, entre outros fatores.

como, por exemplo, os óleos essenciais, por considerar as especificidades de uma região. Neste sentido, a análise dos resultados traz elementos que corroboram para a tomada de decisão, uma vez que aponta variáveis ambientais com significativa correlação com a composição química do óleo essencial de *T. minuta*.

4.2 Fitotecnia de *Tagetes minuta* L. em condições de cultivo

4.2.1 Ciclo de cultivo

Através dos dados de graus-dia calculados para cada época de cultivo, foi possível estabelecer uma equação de regressão para prever o comprimento do ciclo entre o transplante e a colheita e, em última instância, prever a data provável da colheita. Tais informações são de extrema relevância para o planejamento dos cultivos e manejo da cultura, mas especialmente com relação à possibilidade de prever o momento de colheita, uma vez que os dados deste trabalho demonstram que há uma forte correlação entre este fator e a produtividade de óleo essencial ($p\text{-valor}=1,79e^{-05}$). No Anexo F é apresentado o detalhamento da análise realizada.

A equação para predição da duração do ciclo entre o transplante e a colheita apresentou elevado grau de ajuste ($pseudoR^2=0,9932$) e é apresentada abaixo:

$$Ciclo_{(dias)} = (-643,8240 + 0,1824 \times \Sigma GD + 1,3939 \times DJT_{(n^{\circ})})$$

onde a ΣGD é a soma dos graus-dia do transplante até a colheita e DJT é o dia juliano relativo ao dia do transplante de cada época. O DJT representa um número sequencial a partir do qual são determinados valores específicos de cada data. Nesse caso, a data do primeiro transplante (E1 em 20/dez/2016) foi calculada em 354, uma vez que o dia 20 de dezembro é o 354° dia do ano. Às datas de transplante subsequentes é acrescido o número de dias transcorridos a partir de 354, ou seja, 383 equivale a E2 (18/jan/2017), 409 a E3 (13/fev/2017) e 431 a E4 (7/mar/2017). Esse procedimento foi necessário uma vez que os dados possuem uma autocorrelação temporal, o que, por sua vez, viola o pressuposto da independência dos resíduos.

A correlação entre o momento da colheita e o rendimento de óleo essencial foi verificada por Badi et al. (2004) em estudo realizado com *Thymus vulgaris*, testando colheitas em três períodos (início da floração; plena floração; pós floração) verificaram que as colheitas realizadas em menor tempo de desenvolvimento foram mais rentáveis, tanto para biomassa quanto para rendimento e teor de óleo essencial. Assim, a equação desenvolvida para determinar o ciclo de *T. minuta* possibilita identificar com maior precisão o momento correto para a realização da colheita e obtenção de maior rendimento de óleo essencial.

Na Figura 8 é apresentado o ciclo de desenvolvimento de *T. minuta* L. em diferentes épocas de cultivo. Com relação a este aspecto, pode-se observar que a época de transplante alterou o ciclo de desenvolvimento da espécie. Dentre as épocas de cultivo, E1 corresponde ao plantio mais precoce e maior ciclo, 135 dias até alcançar o parâmetro estabelecido para a realização do início da colheita. Ainda com relação à época 1, é possível observar que, embora tenha alongado o ciclo, possibilitou o mesmo número de colheitas que a época 2, com um ciclo de 29 dias a menos. Considerando os dados apresentados na Figura 8, a época que demonstrou melhor para a semeadura foi E2, que teve um ciclo intermediário entre E1 e E3, como o mesmo número de colheitas que E1 e uma colheita a mais que E3. As semeaduras realizadas no verão E3 e E4 encurtaram o ciclo total e principalmente o período para atingir o ponto da primeira colheita. Os dados apresentados neste trabalho corroboram com os resultados observados por Kumar et al. (2012), os quais em seus estudos sobre o efeito da data de transplante no crescimento, rendimento e qualidade do óleo essencial de *T. minuta*, observaram que todas as fenofases foram encurtadas quando o transplante foi atrasado.

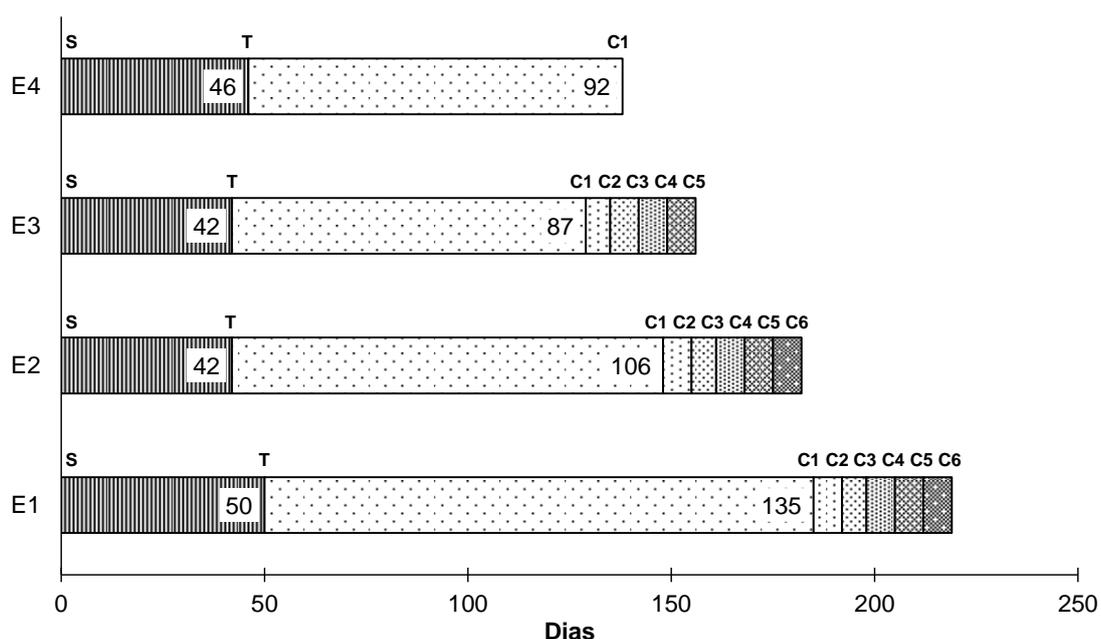


Figura 8 – Ciclo de desenvolvimento de *T. minuta* L. em diferentes épocas de cultivo. Fonte: Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018. E1 à E4, épocas de cultivo; S, sementeira; T, transplante; C1 a C6, colheitas.

O transplante mais cedo proporciona um maior período até a colheita, o que possibilita maior acúmulo de fotoassimilados pelas plantas. Tal fato pode ser verificado na matriz de correlação, a qual evidencia a forte correlação entre a época de plantio, o acúmulo de MST e a produtividade de óleo essencial ($R=0,91$). Ainda dentro desta análise, é possível observar que, neste caso, não houve correlação entre o rendimento de óleo essencial e as variáveis analisadas (Tabela 4). Porém, a significância estatística p -valor, demonstrou que quanto maior a proporção de flores em relação à proporção de folhas, maior é a produção de óleo essencial. Segundo Lopes (2014), a espécie *Rosmarinus officinalis* L. pode ser colhida ao longo do ano, quando destinada à extração de óleos essenciais, a colheita deve ser efetuada em plena floração, pois as concentrações de óleos essenciais são maiores, aumentando o rendimento da extração. Neste sentido, é possível que a dinâmica que ocorre com *T. minuta* seja semelhante a que ocorre com a espécie *R. officinalis*, onde a parte da planta que concentra mais óleo essencial é a flor.

Na Tabela 4 é apresentada a matriz de correlação e p -valor entre o ciclo transplante-colheita e parâmetros da produção de biomassa e óleo essencial de *Tagetes minuta* L. cultivado em diferentes épocas de cultivo.

Tabela 4 – Matriz de correlação e *p*-valor entre o ciclo transplante-colheita e parâmetros da produção de biomassa e óleo essencial de *Tagetes minuta* L. cultivado em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Correlação de Pearson							
	Ciclo	MFT	MST	FL:FH	FL+FH:MST	OE _{rend}	OE _{prod}
Ciclo	1						
MFT	0,80	1					
MST	0,82	0,99	1				
FL:FH	0,72	0,98	0,97	1			
FL+FH:MST	-0,86	-0,81	-0,87	-0,75	1		
OE _{rend}	0,09	-0,22	-0,16	-0,32	-0,07	1	
OE _{prod}	0,83	0,88	0,91	0,81	-0,87	0,24	1
Significância estatística <i>p</i> -valor							
	Ciclo	MFT	MST	FL:FH	FL+FH:MST	OE _{rend}	OE _{prod}
Ciclo	1						
MFT	6,45e ⁻⁰⁵	1					
MST	3,26e ⁻⁰⁵	1,54e ⁻¹⁵	1				
FL:FH	8,51e ⁻⁰⁴	6,85e ⁻¹³	3,99e ⁻¹¹	1			
FL+FH:MST	3,80e ⁻⁰⁶	5,04e ⁻⁰⁵	3,07e ⁻⁰⁶	3,29e ⁻⁰⁴	1		
OE _{rend}	0,7318	0,3873	0,5354	0,1883	0,7742	1	
OE _{prod}	1,79e ⁻⁰⁵	1,81e ⁻⁰⁶	1,96e ⁻⁰⁷	4,01e ⁻⁰⁵	2,83e ⁻⁰⁶	0,3435	1

MFT, massa fresca total; MST, massa seca total; FL:FH, relação flor:folha; FL+FH:MST, relação flor e folha:massa seca total; OE_{rend}, rendimento de óleo essencial; OE_{prod}, produtividade de óleo essencial.

4.2.2 Escala fenológica de *T. minuta* em condição de cultivo

Considerando que a composição fitoquímica dos óleos essenciais pode sofrer variações decorrentes da influência de fatores abióticos e bióticos, e que a identificação dos eventos fenológicos permite estabelecer relações entre as condições ambientais e o desenvolvimento das espécies, a escala fenológica torna-se um recurso elementar em cultivos voltados à produção de óleos essenciais. Além disso, descrever os estádios fenológicos permite caracterizar as necessidades e susceptibilidade das espécies (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014). Neste sentido, buscando compreender o desenvolvimento de *T. minuta* a partir de observações realizadas a campo em distintas épocas de plantio, foi elaborada uma escala fenológica para a espécie em estudo, onde é possível visualizar ilustrações da arquitetura da planta, assim como o tempo de duração dos estádios de desenvolvimento para o ciclo da espécie (Figura 9).

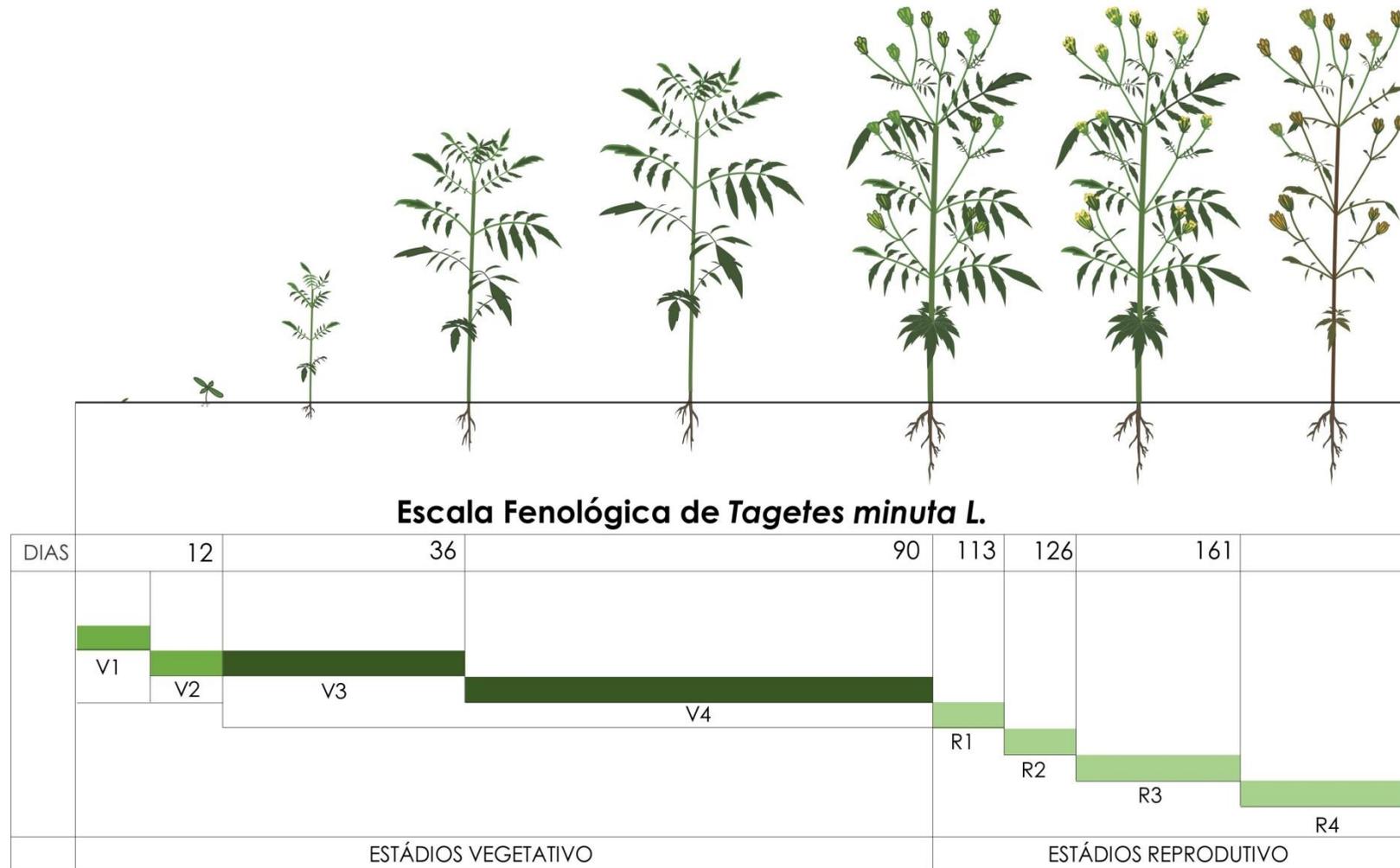


Figura 9 – Escala fenológica de *T. minuta*, em que corresponde V1 - Germinação, V2 - Emergência, V3 - Folhas permanentes, V4 - Crescimento das folhas e caule, R1 - Início da formação do capítulo floral, R2 - Plena floração, R3 - Dispersão dos frutos e R4 - Senescência.
 Fonte: Fonseca (2018). Arte: Silveira (2018).

O desenvolvimento de *T. minuta* foi classificado em dois macro estádios de desenvolvimento, representados por macro estágio 1, desenvolvimento vegetativo e macro estágio 2, desenvolvimento reprodutivo (HACK et al. 1991). Nesse trabalho é proposto a caracterização das fenofases com base nos principais estádios de desenvolvimento. Onde o desenvolvimento vegetativo corresponde a: V1-Germinação, V2-Emergência, V3-Folhas permanentes, V4-Crescimento das folhas e caule. E, para o desenvolvimento reprodutivo: R1-Início da formação do capítulo floral, R2-Plena floração, R3-Dispersão dos frutos e R4-Senescência.

A caracterização dos micros estádios de desenvolvimento contribui, entre outros aspectos, para determinar o momento da colheita/coleta, rendimento e atividade do óleo essencial de interesse. Cabe ressaltar que a transição entre um estágio de desenvolvimento e outro é um processo gradual, assim o tempo indicado na imagem corresponde a uma proposição para o local em que foi realizado o estudo. Para maior precisão desta estimativa, novos estudos devem ser realizados para aprofundar o detalhamento e exatidão da escala fenológica proposta neste trabalho.

4.2.3 Partição da biomassa seca

A análise de crescimento contribui para o conhecimento de características relacionadas à capacidade produtiva das espécies, permitindo assim manejar racionalmente, para que expressem o seu potencial de produção. Os dados apresentados na Tabela 5 permitem caracterizar a dinâmica de distribuição dos fotoassimilados nas diferentes partes da planta de *T. minuta*, por época de colheita. Os dados variam para as épocas de colheita, mas quando observadas as épocas de cultivo, verifica-se uma tendência de redução da massa seca total (MST). Tendência semelhante foi observada no caso da hortelã-japonesa estudada por Chagas et al. (2011), onde os autores identificaram a redução relativa no acúmulo de massa seca em colheita realizada após os 100 dias de cultivo.

Tabela 5 – Massa seca total (MST), massa seca total de flores e folhas (MST-FLFH), relação flores+folhas:ramos+caule (FL+FH:RS+CA) e relação flores:folhas (FL:FH). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Data	MST (T ha ⁻¹)				MST-FLFH (T ha ⁻¹)				FL+FH:RS+CA				FL:FH			
	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4
04/mai	21,45	20,31			8,42	8,39			0,65	0,70			1,16	1,13		
11/mai	16,20	13,02	6,07		6,93	6,28	3,35		0,75	0,93	1,24		0,87	1,24	0,63	
17/mai	23,15	21,20	5,95		9,83	9,48	3,21		0,74	0,81	1,17		1,98	1,73	2,00	
24/mai	14,00	16,88	5,94		5,07	5,83	3,11		0,57	0,53	1,10		1,21	1,01	1,29	
31/mai	23,42	19,75	7,82		7,95	7,63	4,06		0,51	0,63	1,08		1,25	1,11	1,37	
07/jun	27,13	17,51	6,05	4,27	9,57	7,28	3,36	2,59	0,55	0,71	1,25	1,54	1,42	1,21	1,30	1,27

Na Tabela 6, são apresentadas a média e o desvio padrão amostral referente às avaliações da massa seca total, considerando as diferentes épocas de plantio. A época 1 apresentou a maior média entre os tratamentos, com 20,89 (T ha⁻¹) de MST e 7,96 (T ha⁻¹) de MST-FLFH. Valores semelhantes foram obtidos para a espécie *Rosmarinus officinalis* a qual alcançou 8,39 (T ha⁻¹) de massa seca da parte aérea (MAY et al., 2010).

Tabela 6 – Massa seca total (MST), massa seca total de flores e folhas (MST-FLFH), relação flores+folhas:ramos+caule (FL+FH:RS+CA) e relação flores:folhas (FL:FH). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Época	MST (T ha ⁻¹)		MST-FLFH (T ha ⁻¹)		FL+FH:MST		FL+FH:RS+CA		FL:FH	
	Média	Dp	Média	Dp	média	Dp	Média	Dp	média	dp
E1	20,89	2,00	7,96	0,72	0,38	0,02	0,63	0,04	1,32	0,15
E2	18,11	1,22	7,48	0,55	0,42	0,02	0,72	0,06	1,24	0,10
E3	6,37	0,36	3,42	0,17	0,54	0,01	1,17	0,03	1,32	0,22
E4	4,27	-	2,59	-	0,61	-	1,54	-	1,27	-

As médias obtidas entre a relação de FL+FH:RS+CA indicam uma tendência de aumento na proporção da alocação de fotoassimilados de folhas e flores para ramos e caule. Considerando que o acúmulo de MS influencia diretamente o rendimento da cultura, possivelmente quanto mais tardio for realizado o plantio de *T. minuta*, menor também será o rendimento de óleo essencial.

Na Figura 10 são apresentadas as equações de regressão que permitem determinar a massa seca total de *T. minuta* a partir do valor da massa fresca total ou da data do transplante.

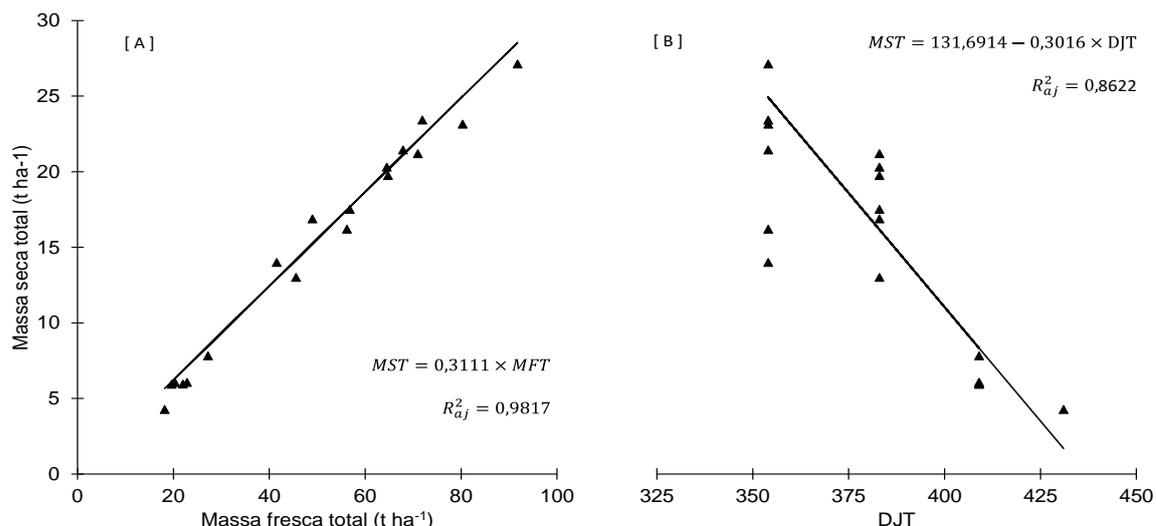


Figura 10 – Equação de regressão linear para predição da massa seca total (MST, T ha⁻¹) de *Tagetes minuta* L. a partir da massa fresca total (MFT, T ha⁻¹) [A] e do dia Juliano do transplante (DJT) [B]. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2016/2017. *DJT representa o dia juliano referente à data de transplante, a saber, E1 em 20/dez/2016 é equivalente ao número 354 do ano. Para as demais épocas de cultivo foi utilizado o número 354 acrescido do número de dias acumulados até respectiva data de transplante, sendo E2 em 18/jan/2017 equivalente à 383, E3 em 13/fev/2017 equivalente à 409 e E4 em 7/mar/2017 equivalente à 431.

Com o modelo matemático desenvolvido, é possível estimar o acúmulo de massa seca e o rendimento de *T. minuta*, a partir da massa fresca total e do dia Juliano do transplante. Outra possibilidade, embora não tão precisa como a anterior, seria utilizar o dia Juliano equivalente à data de transplante para estimar o rendimento da cultura. Para maior precisão desta estimativa, novos estudos devem ser realizados para reduzir a amplitude dos dados referentes à massa seca total, a fim de melhorar a equação aqui apresentada.

4.2.4 Área foliar e índice de área foliar (IAF)

A capacidade das plantas de interceptarem radiação solar e converterem esta radiação em matéria seca pelo processo fotossintético está diretamente relacionado ao rendimento das culturas. O IAF é a relação entre a área foliar (AF) e a área de solo ocupada pelo cultivo (HEIFFIG et al., 2006). A análise de regressão para predição do IAF (Anexo H) expressa uma tendência de redução da área foliar decorrente das épocas de cultivo. A equação é apresentada a seguir:

$$IAF = 5,5399 + \left(0,0314 \times MFT_{(T \text{ ha}^{-1})}\right) - (0,0301 \times DJC)$$

À medida que o ciclo de desenvolvimento da cultura avança, as folhas localizadas na região basal da planta iniciam o processo de senescência, o que implica na redução da área fotossinteticamente ativa (Figuras 10 e 11). Outro fator que deve ser considerado refere-se às características estruturais e morfogênicas da espécie, as quais apresentam larga variação.

4.2.5 Rendimento e produtividade de óleo essencial

Embora o potencial de rendimento seja determinado principalmente por fatores genéticos da espécie, para que expresse o seu potencial é necessário que as condições ambientais no período de cultivo sejam favoráveis. Os dados deste trabalho evidenciam a alta produtividade de óleo essencial da espécie *T. minuta*, apresentando uma tendência de incremento do rendimento nas colheitas mais tardias (Tabela 7). O rendimento percentual obtido na faixa de 3,0% pode ser comparado ao rendimento de óleo essencial de outras espécies como *Mentha arvensis* L. (CHAGAS et al., 2011) e *Rosmarinus officinalis* L. (MORAIS et al., 2009). Contrastam com estes resultados, dados de Tankeu et al. (2013), os quais apontam um rendimento médio de 0,38 a 1,53% de óleo essencial de *T. minuta*. É relevante considerar que as condições de um experimento, em geral, são mais favoráveis se comparadas às condições de um plantio comercial.

Tabela 7 – Rendimento médio (%) e produtividade média de óleo essencial (kg ha⁻¹) de *T. minuta* por época de cultivo e por data de colheita. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Variável	Níveis	n	Rendimento (%)		Produtividade (kg ha ⁻¹)	
			Média	Dp	Média	Dp
Época de transplante	E1 (20-dezembro)	6	3,30	0,38	277,43	25,52
	E2 (18-janeiro)	6	2,93	0,43	227,65	23,07
	E3 (13-fevereiro)	5	3,41	0,36	117,26	14,65
	E4 (7-março)	1	4,80		124,12	
Data de Colheita	4-maio	2	1,78	0,34	253,43	50,30
	11-maio	3	2,66	0,22	146,38	32,56
	17-maio	3	2,46	0,07	187,11	56,23
	24-maio	3	4,17	0,08	193,94	30,79
	31-maio	3	4,15	0,17	275,50	60,33
	7-junho	4	3,84	0,33	206,33	50,18

O potencial de rendimento das plantas está associado, entre outros fatores, à interceptação da radiação realizada por diferentes órgãos da planta, mas principalmente pelas folhas. O alto rendimento verificado neste trabalho pode estar relacionado à incidência de radiação solar nas plantas que foram favorecidas devido ao plantio em distintas épocas. O fator luz é importante no crescimento das plantas, não só por fornecer energia para a fotossíntese, mas também por prover sinais que regulam seu desenvolvimento através de receptores de luz sensíveis a diferentes intensidades (ATROCH et al., 2001).

Na Figura 11, são apresentados os dados da área foliar média de *T. minuta* considerando as épocas de colheita, onde é possível observar que, conforme avança o ciclo de desenvolvimento, há uma tendência à redução deste índice. Essa redução pode estar associada ao fato de as plantas encontrarem-se no final do processo de florescimento, apresentando perda de folhas decorrentes do início da senescência natural pós-florescimento (CHAGAS et al., 2011).

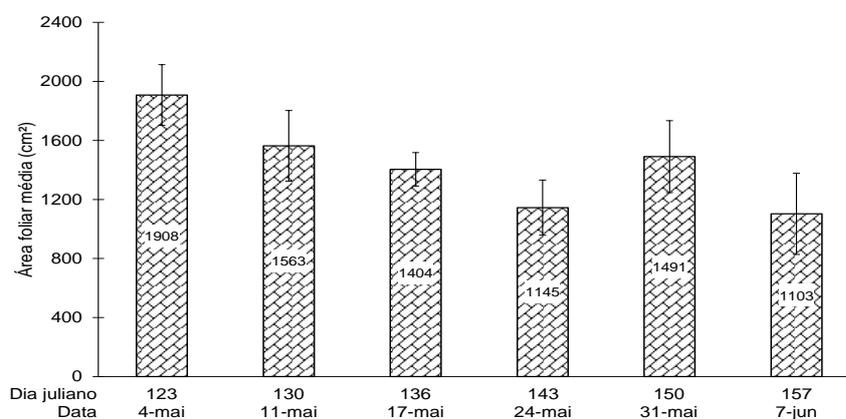


Figura 11 – Área foliar média (cm²) de *T. minuta* L. em diferentes épocas de colheita. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

O índice de área foliar (IAF) médio de *T. minuta* em diferentes épocas de cultivo é apresentado na Figura 12, onde observa-se que quanto mais tardio a realização do plantio, menor é o IAF das plantas. A redução do IAF da E1 para a E3 é superior a 50%. O resultado da avaliação do IAF reforça a observação realizada a campo, onde foi verificado que as plantas da E3 e E4 não se desenvolveram tanto quanto E1 e E2.

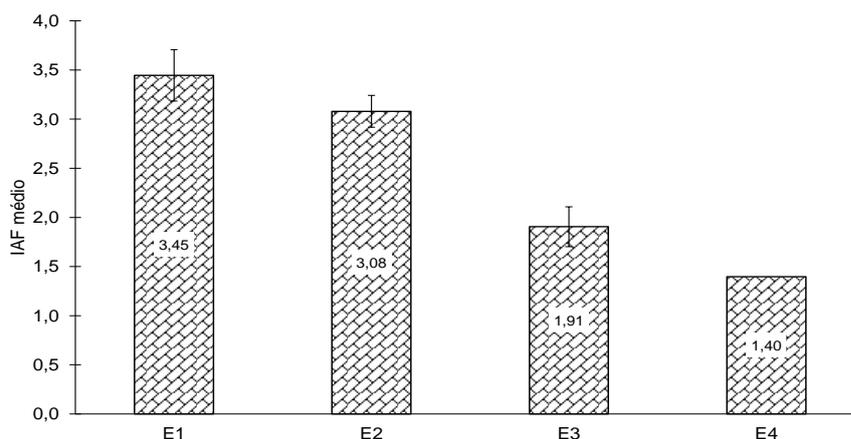


Figura 12 – Índice de área foliar (IAF) médio de *T. minuta* L. em diferentes épocas de cultivo. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018. E1 (n=6), E2 (n=6), E3 (n=5) e E4 (n=1), épocas de cultivo.

Conforme foi demonstrado anteriormente, as duas primeiras épocas de plantio apresentaram os melhores resultados tanto com relação ao IAF como MST, é possível que este resultado esteja relacionado às condições ambientais do período que favorecem o desenvolvimento de *T. minuta*, na região sul do Rio Grande do Sul.

A ACP para as diferentes épocas de cultivo (Figura 13) demonstra que a massa seca total, a massa seca de flores e folhas, o IAF e a produtividade de óleo essencial explicaram 97,2% das variações ocorridas nas amostras. As épocas E1 e E2 apresentaram os maiores valores em todas as variáveis enquanto as épocas E3 e E4 tiveram valores médios menores e inferiores à média geral. É possível verificar que a produtividade de óleo essencial apresentou correlação positiva com as variáveis de crescimento, especialmente com a massa seca total e de flores e folhas. Este fato evidencia que as épocas que tiveram um maior ciclo de cultivo, E1 e E2, acumularam mais fotoassimilados em comparação com as épocas E3 e E4, o que repercutiu diretamente na produtividade final do óleo essencial. Com base nas variáveis meteorológicas apresentadas no Anexo A, é possível observar que a radiação fotossinteticamente ativa média para o período em questão foi de 5,7 (MJm⁻²), enquanto que, considerando apenas o período que corresponde ao transplante de a E3 e E4 até o final do ciclo, a RFA média cai para 3,87 (MJm⁻²).

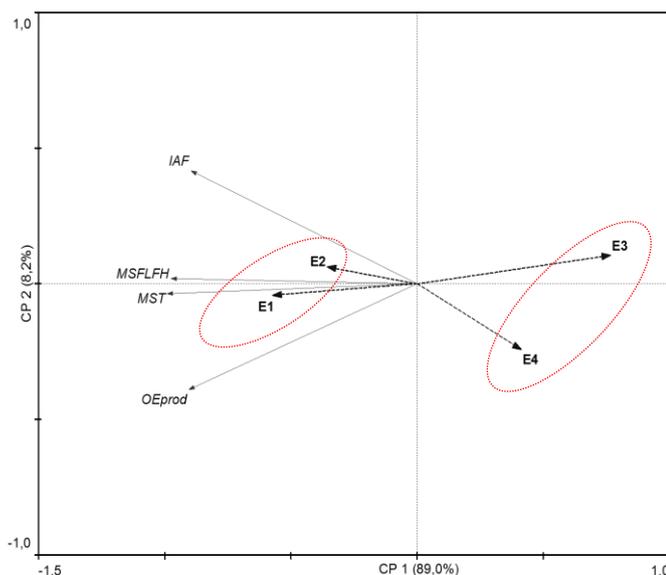


Figura 13 - Análise de componentes principais de massa seca total (MST), a massa seca de flores e folhas (MSFLFH), índice de área foliar (IAF) e produtividade de óleo essencial (OE_{prod}) de *T. minuta* em diferentes épocas de cultivo (E1, E2, E3 e E4). Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Em geral, plantas cultivadas sob baixa intensidade de radiação luminosa apresentam uma redução significativa na produção de biomassa, podendo ser observadas alterações na alocação de biomassa para os diferentes órgãos (CLAUSSEN, 1996; HOU et al., 2010; SILVA et al., 2006). O estudo realizado por Chang, Alderson e Wright (2008) com a espécie *Ocimum basilicum* demonstram que ocorreu uma redução significativa da produção de biomassa seca total nos tratamentos com menores níveis de radiação luminosa (CHANG; ALDERSON; WRIGHT, 2008).

Assim como para o IAF, também foi possível construir uma equação de regressão linear para prever o rendimento de óleo essencial de *T. minuta*, em $kg\ ha^{-1}$, utilizando os valores da massa seca total ($T\ ha^{-1}$) e o dia juliano da colheita (DJC). No Anexo I são apresentados os valores da análise estatística e os coeficientes e respectivas medidas da qualidade do ajuste.

$$OE_{(kg\ ha^{-1})} = -353,1259 + 10,6252 \times MST_{(t\ ha^{-1})} + 2,8171 \times DJC_{(n^{\circ})}$$

A relevância da equação desenvolvida está na possibilidade de planejamento e estimativa de produção, sobretudo na organização pré-plantio, otimizando os recursos disponíveis. A equação possibilita ainda estimar a produtividade potencial da

cultura para a região sul do Rio Grande do Sul, permitindo a otimização e controle do processo.

Na ACR, as variáveis explicativas duração do ciclo de cultivo (ciclo) e radiação fotossinteticamente ativa acumulada (RFA_{acum}) explicaram 74,2% de toda a variabilidade verificada entre as amostras (Figura 14 e Anexo J). Desse total, 19,2% são provenientes da RFA_{acum} , 6,4% da duração do ciclo de cultivo e 48,6% proveniente da interação entre essas duas variáveis. As demais variáveis testadas no modelo, graus-dia acumulados (GD_{acum}), precipitação pluviométrica acumulada (PP_{acum}) e nebulosidade média do período ($N_{média}$), apresentaram alta multicolinearidade com o ciclo e a RFA_{acum} , ou não foram estatisticamente significativos pelo teste de Monte Carlo, e por isso foram excluídas do modelo.

A biossíntese de metabólitos secundários, apesar de ser determinada geneticamente, é amplamente afetada pelos fatores ambientais (BLANK et al., 2007). A variação na composição química do óleo de *Tagetes* tem sido atribuída a parâmetros como a fase de crescimento na colheita, parte da planta utilizada, as condições climáticas sob as quais a planta cresce (MOHAMED et al., 2002; CHAMORRO et al., 2008; MESHKATALSADAT et al., 2010; MOGHADDAM, OMIDBIAGI, SEFIDKON, 2007).

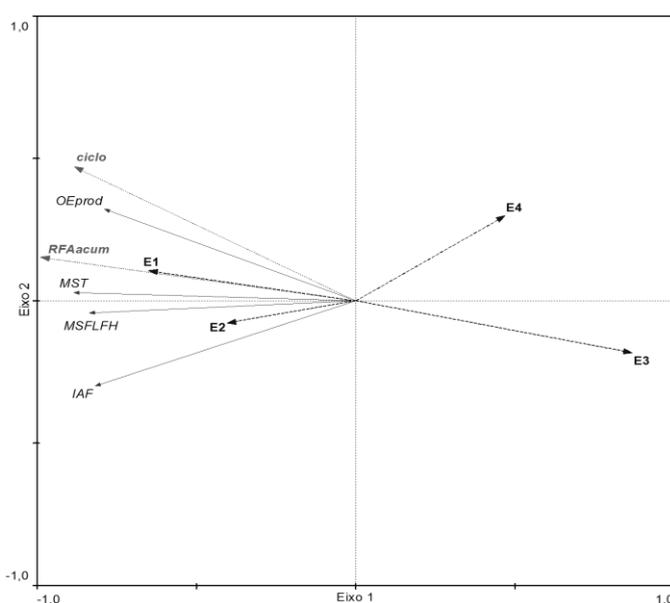


Figura 14 – Análise canônica de redundância (ACR) de amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes épocas de cultivo (E1, E2, E3 e E4), utilizando a duração do ciclo em dias (ciclo) e a radiação fotossinteticamente ativa acumulada (RFA_{acum}) como variáveis ambientais explicativas. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018. MST, massa seca total; MSFLFH, massa seca de flores e folhas; OE_{prod} , produtividade de óleo essencial; IAF, índice de área foliar.

4.3 Composição química de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em diferentes épocas de cultivo

4.3.1 Composição média e evolução da composição do óleo essencial

Na Tabela 8, é apresentada a composição química (%) do óleo essencial de *T. minuta*, cultivado em quatro épocas diferentes e colhido em datas diferentes, onde é possível observar que os compostos majoritários obtidos a partir do cultivo das plantas correspondem aos compostos obtidos de populações espontâneas do sul do Rio Grande do Sul, no ano anterior. Verifica-se a ocorrência de variação na composição química da espécie ao longo do ciclo de desenvolvimento, principalmente com relação à expressão dos compostos cis-tagetona e dihidrotagetona. Além da influência dos fatores ambientais, a concentração de constituintes químicos varia durante o ciclo circadiano e sazonal (TAIZ e ZAIGER, 2004; RAVEN, EVERT, EICHHORN, 2001). Segundo Kleine e Muller (2011), é possível encontrar variação em compostos químicos em plantas da mesma espécie. De forma geral, os cinco principais compostos representaram mais de 95% da composição do óleo e tiveram a seguinte proporcionalidade média: 1,0:0,6:0,3:0,1:0,0:6, para cis-tagetona, cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, trans-tagetona e D-limoneno, respectivamente.

Segundo Wanjala e Wanzala (2016), a qualidade do óleo essencial é determinada pela composição e, por exemplo, os óleos contendo 40-55% de cis- β -ocimeno são altamente avaliados no mercado. Ao olhar a Figura 15, é possível notar que a época de cultivo não produz um efeito muito sensível na composição média dos compostos majoritários, ainda assim, é possível observar que na E3 ocorreu a maior expressão do composto cis-tagetona, enquanto que cis- β -ocimeno ganha destaque na E4.

Tabela 8 – Composição química (%) do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. cultivado em quatro épocas diferentes e colhida em datas diferentes. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Composto– IR	DT	Época 1						Época 2					Época 3				Época 4		
		4-mai	11-mai	17-mai	24-mai	31-mai	7-jun	4-mai	11-mai	17-mai	24-mai	31-mai	7-jun	11-mai	17-mai	24-mai	31-mai	7-jun	7-jun
		DJ	123	130	136	143	150	157	123	130	136	143	150	157	130	136	143	150	157
CC	135	142	148	155	162	169	106	113	119	126	133	140	87	93	100	107	114	92	
Sabineno	975	0,61	0,45	0,26	0,20	0,16	0,16	0,59	0,29	0,45	0,18	0,25	0,27	0,24	0,38	0,25	0,18	0,19	0,30
D-Limoneno	1029	5,25	4,10	2,42	1,70	1,35	1,36	5,44	2,46	4,74	1,94	2,20	2,64	2,16	3,70	2,21	1,58	1,78	2,88
Cis- β -ocimeno	1037	25,48	23,18	25,18	23,87	24,99	27,76	21,18	26,04	25,52	27,24	28,93	22,51	24,44	24,51	23,68	26,55	27,06	29,50
Dihidrotagetona	1052	26,98	22,33	16,72	8,78	8,52	8,39	30,20	17,19	20,47	11,56	14,47	18,97	15,46	20,88	10,86	8,46	10,37	12,35
Trans-tagetona	1144	5,86	6,65	6,49	4,56	5,01	4,61	5,72	6,12	6,97	4,90	5,45	5,85	6,03	6,48	4,69	5,03	4,51	4,69
Cis-tagetona	1152	32,47	39,37	45,58	57,90	56,83	54,42	32,93	45,61	38,09	51,14	44,78	44,73	48,87	40,87	55,12	54,96	52,39	45,97
β -Cariofileno	1419	0,32	0,29	0,27	0,10	0,11	0,16	0,34	0,24	0,35	0,13	0,23	0,26	0,23	0,33	0,11	0,17	0,19	0,28
α -Cariofileno	1454	0,32	0,27	0,21	0,09	0,08	0,11	0,37	0,19	0,34	0,10	0,17	0,19	0,18	0,26	0,11	0,12	0,13	0,18
Biciclogermacreno	1500	0,15	0,12	0,25	0,24	0,32	0,36	0,00	0,41	0,16	0,29	0,33	0,00	0,31	0,22	0,25	0,41	0,44	0,40
Óxido de cariofileno	1583	0,31	0,28	0,24	0,00	0,00	0,08	0,27	0,13	0,32	0,00	0,20	0,15	0,16	0,28	0,00	0,00	0,09	0,27
Total		97,74	97,05	97,61	97,43	97,38	97,41	97,04	98,68	97,40	97,49	97,01	95,57	98,08	97,91	97,28	97,45	97,14	96,81

*IR, índice de retenção relativo aos n-alcenos C9–C15. DT, data de transplante; DJ, dia juliano da colheita; CC, ciclo de cultivo (n° de dias).

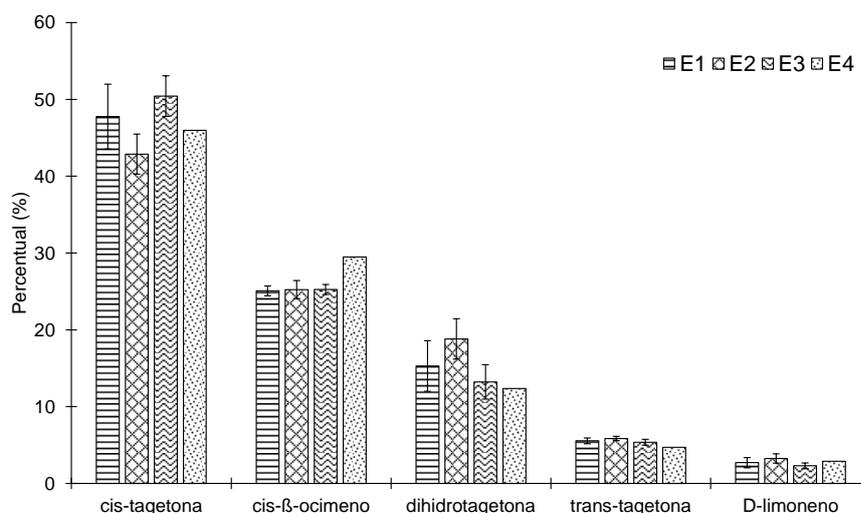


Figura 15 – Valores médios (%) dos compostos majoritários (> 1%) obtidos em amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em diferentes épocas de cultivo (E1 [n=6], E2 [n=6], E3 [n=5] e E4 [n=1]). As barras sobre as colunas indicam o desvio padrão da média. Fonte: Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

A evolução dos valores médios dos compostos majoritários apresentados na Figura 16 evidencia que a cis-tagetona e a dihidrotagetona possuem um comportamento inversamente proporcional, sendo a que a primeira aumenta seus teores ao longo do tempo, enquanto a segunda diminui. A partir de 24 de maio há uma aparente estabilização dos teores de cis-tagetona ao redor de 52% e de dihidrotagetona de 11% (Tabela 8). Esse fato possivelmente está relacionado à proporção desses compostos nos diferentes órgãos da planta. Enquanto a cis-tagetona predomina nas flores, a dihidrotagetona predomina nas folhas (KUMAR et al., 2012). Essa tendência de redução de um composto e concentração de outro, apresentada pela espécie *T. minuta* deve ser levada em consideração principalmente em cultivos comerciais, onde o agricultor pode determinar o momento da colheita em função da demanda de mercado ou de acordo com a finalidade de uso na propriedade. Avaliando duas épocas do ano, Luz et al. (2014) observaram que em *Melissa officinalis* L. houve influência da época de colheita sobre o teor de óleo essencial e constituintes majoritários. O cis-β-ocimeno mostrou uma leve tendência de elevação dos seus teores, saindo de pouco mais de 23% na primeira colheita em 4 de maio para quase 27% na última colheita em 7 de junho. Por sua vez, o D-limoneno e a trans-tagetona mostraram uma tendência de redução de seus valores, saindo de 5,3% para 2,1% e de 5,8% para 4,9% entre a primeira e a última colheita, respectivamente.

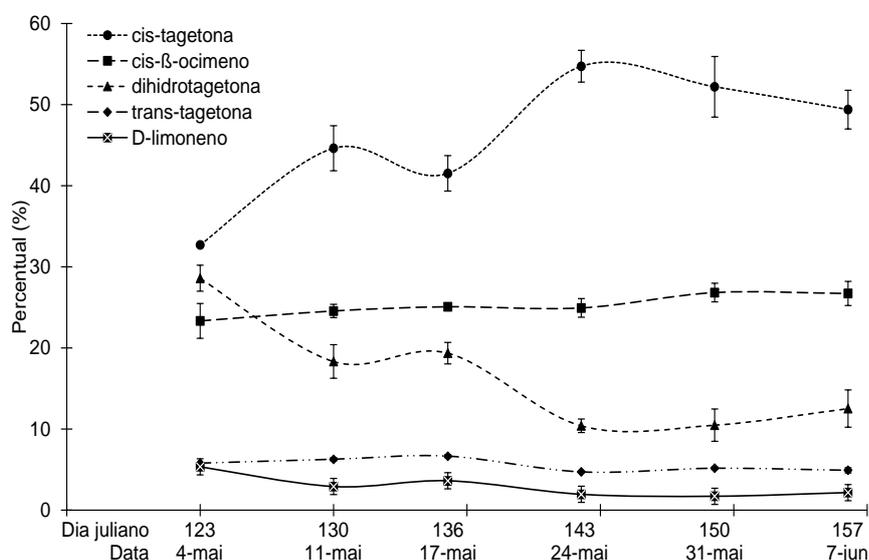


Figura 16 – Evolução dos valores médios (%) dos compostos majoritários (>1%) obtidos em amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. ao longo das datas de colheita. As barras sobre os pontos indicam o desvio padrão da média. Fonte: Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

4.3.2 Efeito dos fatores ambientais sobre a composição do óleo essencial

Na ACP (Figura 17), os compostos majoritários, com teor > 1% no óleo essencial, conseguiram discriminar as datas de colheita em dois grupos, explicando 85,2% das variações encontradas, sendo a maior parte na CP 1 (71,5%) e o restante na CP 2 (17,9%). As amostras de óleo obtidas nas três primeiras datas de colheita, 4, 11 e 17 de maio, apresentaram maior teor de D-limoneno, dihidrotagetona e trans-tagetona. Por sua vez, as amostras das três últimas colheitas, 24 e 31 de maio e 7 de junho, foram mais ricas em cis-β-ocimeno e cis-tagetona, além de serem as amostras que tiveram os melhores rendimentos de óleo essencial.

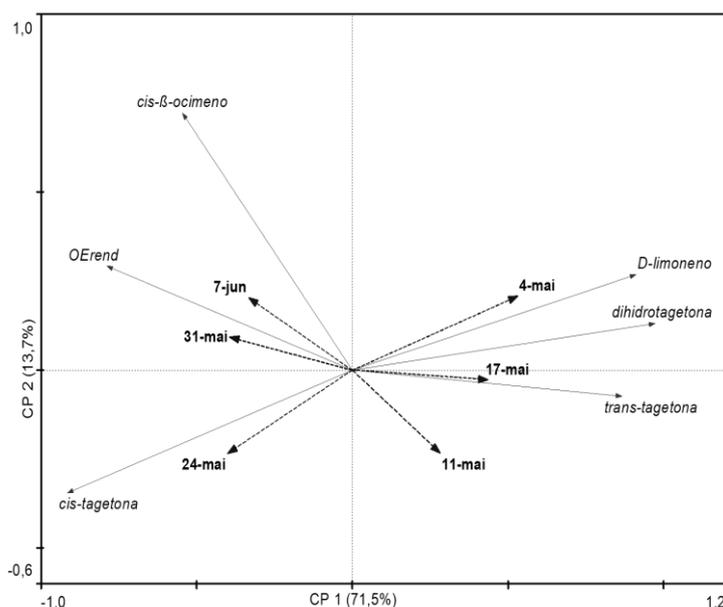


Figura 17 – Análise de componentes principais dos compostos majoritários (>1%) e rendimento de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em diferentes épocas de colheita. Fonte: Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Segundo estudos de Chalchat et al. (1995) sobre a composição química do óleo essencial de diferentes partes da planta (flores e folhas), predominam nas folhas de *T. minuta* a dihidrotagetona, enquanto que em flores destaca-se o (z)- β -ocimeno. Tal constatação corrobora com o resultado apresentados na ACP (Figura 15), onde o composto dihidrotagetona está fortemente correlacionado as primeiras épocas de colheita e cis- β -ocimeno as últimas épocas de colheita. Com o avanço do desenvolvimento das plantas, as folhas inferiores iniciam o processo de senescência reduzindo a proporção em relação as flores, o que pode influenciar a variação na composição química do óleo ao longo das colheitas. O resultado da ACP (Figura 17) demonstra que nas primeiras épocas de colheita há maior expressão do limoneno, composto com ação antifúngica comprovada (GAKUBBI et al., 2016). Considerando que o óleo essencial extraído de folhas de *T. minuta* tem maior atividade antifúngica que o óleo extraído de flores da mesma planta (GAKUBBI et al., 2016), é possível inferir que, quando a finalidade de uso do óleo essencial for à ação antifúngica, a colheita realizada entre os estádios de desenvolvimento R1 e R2 possivelmente contribuirá para obtenção do óleo essencial com o potencial desejado.

Dentre todas as variáveis explicativas utilizadas na ACR (Figura 18, Anexo L), a radiação fotossinteticamente ativa (RFA_{acum}), a média da temperatura média do ar

($T_{m\text{méd}}$) e a precipitação pluviométrica (PP_{acum}), registradas no dia anterior e da colheita, explicaram 65,5% das variações existentes. Desse total, a RFA_{acum} contribuiu com a fração mais expressiva, 50%, enquanto a $T_{m\text{méd}}$ e a PP_{acum} contribuíram com 8% e 7%, respectivamente. Pelo teste de Monte Carlo, essas variáveis são significativas estatisticamente ($F=8.845$; $p=0.0020$) quando inseridas conjuntamente no modelo, porém, de forma isolada a PP_{acum} no dia anterior e no dia da colheita apresenta um valor $p=0,096$. Ao olhar os dados meteorológicos, se constata que os valores dessa variável variaram entre 1 mm e zero mm, exceto na última colheita, quando esse valor foi de 11,9 mm. Esse fato fica muito bem caracterizado na Figura 18, onde se nota a forte correlação entre a PP_{acum} e a data de 7 de junho. A radiação solar determina as características térmicas do ambiente, principalmente as temperaturas do ar e do solo, a duração do dia ou fotoperíodo (PEREIRA; ANGELOCCI; SENTELHAS, 2002). Levantamentos realizados por Pereira et al. (2006) revelam que, no Brasil, as regiões Sul e Nordeste são os locais onde ocorrem os maiores níveis de incidência PAR durante o verão. A radiação solar é essencial no processo de acumulação de fotoassimilados, pois é determinante no processo de produção de biomassa vegetal (VILANI et al., 2007).

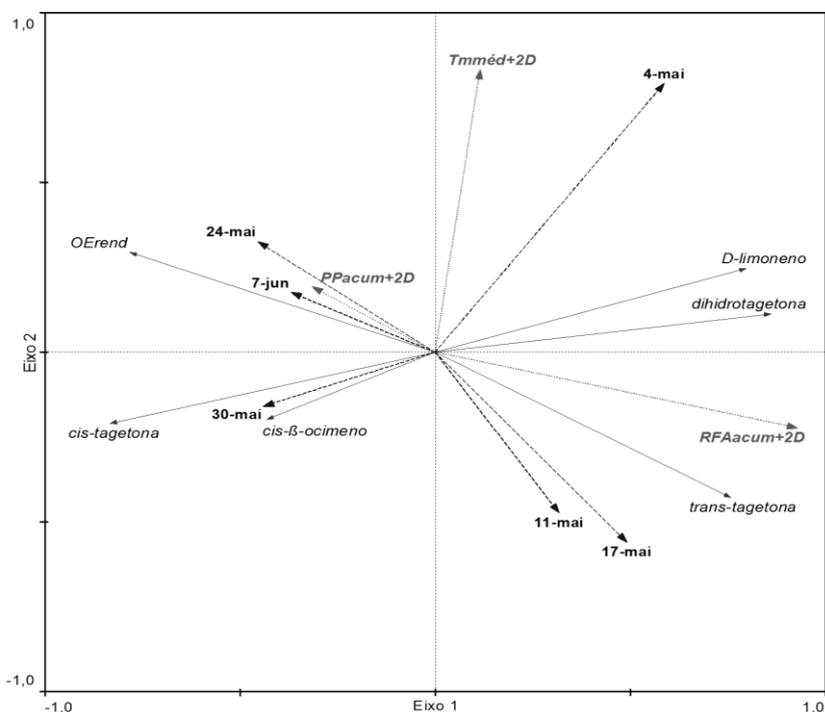


Figura 18 - Análise canônica de redundância (ACR) dos compostos majoritários (>1%) e rendimento de óleo essencial (OE_{rend}) de *Tagetes minuta* L. em diferentes épocas de colheita, utilizando a radiação fotossinteticamente ativa acumulada ($RFA_{acum}+2D$), a média da temperatura média do ar ($T_{m\text{méd}}+2D$) e a precipitação pluviométrica ($PP_{acum}+2D$), registradas no dia anterior e da colheita como variáveis ambientais explicativas. Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Cascata. Pelotas, RS, 2017/2018.

Como o cultivo de *T. minuta* foi realizado em ambiente aberto, é esperado que ao longo do ciclo as variáveis climáticas interferissem no desenvolvimento das plantas. Porém, com os dados obtidos nesse trabalho, é possível verificar que dentre as variáveis climáticas analisadas, a (PP_{acum}) foi a variável que mais influencia o rendimento de óleo essencial de *T. minuta*. Em pesquisa realizada na Índia por Singh et al. (2003), o maior rendimento de óleo essencial foi obtido no estágio de frutificação, os autores afirmaram que esse resultado poderia estar relacionado ao aumento na umidade do ar ocorrido durante o período de avaliação. Segundo Dutra et al. (2012), a partir do desenvolvimento de plantas de girassol sob diferentes condições de fornecimento de água, verificaram que as plantas apresentaram maior altura e diâmetro de colmo quando submetidas à maior disponibilidade de água.

Nas Figuras 17 e 18, o rendimento do óleo essencial aparece no quadrante superior e o composto trans-tagetona no quadrante inferior oposto, o que demonstra que há correlação negativa entre o rendimento de óleo e trans-tagetona. Ainda com relação ao resultado da ACP e ACR demonstrados nas figuras citadas, é possível verificar que os compostos D-limoneno e dihidrotagetona apresentam correlação negativa com cis-tagetona.

Como não houve colheita durante a ocorrência de chuva e tampouco o volume acumulado nos dia 7 de junho e anterior não foi muito elevado, é possível inferir que essa precipitação tenha apenas proporcionado uma melhor condição de umidade do solo e turgescência das plantas, mas não tenha afetado o rendimento de óleo essencial. Aliado a isso, o valor de RFA_{acum} nessa data, foi aproximadamente 37% do valor médio verificado nas três primeiras datas de colheita. A radiação solar global é um dos principais fatores da demanda atmosférica de água, estando, portanto, correlacionado negativamente com o rendimento do óleo essencial. É possível observar ainda que quanto mais avançado o estágio de desenvolvimento, maior é o rendimento de óleo de *T. minuta*. A produção de óleos essenciais não depende apenas do estado metabólico e do estágio de desenvolvimento do tecido sintetizador, mas também é altamente integrada com a fisiologia de toda a planta. A composição química do óleo essencial de *T. minuta* tem sido relatada em diferentes partes do mundo e, a partir dessas análises, percebe-se que a sua composição é variada, dependendo do local da colheita ou coleta, estágio de desenvolvimento do vegetal, partes da planta e quimiotipos (BRASIL, 2015).

Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que a composição química do óleo essencial de populações de *T. minuta* mantém um perfil fitoquímico, apresentando uma variedade de compostos que oscilam quanto à sua concentração. Com relação a datas de colheita, é possível observar que ocorrem variações na composição química do óleo ao longo do desenvolvimento da planta. Os resultados demonstram ainda a importância de se conhecer a fitoquímica, bem como a fenologia das espécies com potencial para produção de óleo essencial, visto que a atividade biológica dos óleos essenciais está associada à composição química constituída ao longo do ciclo de desenvolvimento.

5 Conclusão

O óleo essencial de *T. minuta*, oriundo de plantas coletadas ou cultivadas na região sul do Rio Grande do Sul, caracteriza-se pela presença dos compostos majoritários cis-tagetona, cis- β -ocimeno, dihidrotagetona, trans-tagetona e limoneno.

O estudo demonstrou que, no sul do Rio Grande do Sul, a melhor época para o plantio de *T. minuta* é E2 (18 de jan), a qual além de possibilitar alto rendimento de óleo essencial, se torna mais vantajosa devido à possibilidade de otimização do uso da área agrícola.

As fases fenológicas identificadas foram: V1 - Germinação, V2 - Emergência, V3 - Folhas permanentes, V4 - Crescimento das folhas e caule, R1 - Início da formação do capítulo floral, R2 - Plena floração, R3 - Dispersão dos frutos e R4 - Senescência.

A composição química do óleo essencial de *T. minuta* está mais relacionada ao estágio de desenvolvimento da cultura, enquanto que o rendimento é influenciado pela duração do ciclo da cultura.

Quanto à composição química, a expressão dos compostos D-limoneno, dihidrotagetona e trans-tagetona foi maior em plena floração. Conforme avança o estágio de desenvolvimento de R3 para R4, aumenta a expressão dos constituintes cis- β -ocimeno e cis-tagetona.

No âmbito da agricultura familiar de base ecológica, o uso e extração dos óleos essenciais para o manejo da propriedade pode ser viabilizado com a formação de grupos e através de trabalho cooperativo.

Referências

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

ALI, N. A. A. et al. Composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. and its cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities. **Natural product communications**, v. 9, n. 2, p. 265–8, 2014.

ALMASSY JUNIOR, A. A. **Análise das características etnobotânicas e etnofarmacológicas de plantas medicinais na comunidade de Lavras Novas, Ouro Preto/MG**. Tese (Doutorado). Vicosa/MG. UFV. 2004.

ALTIERI, M. A. **Agroecologia: as bases científicas da agricultura alternativa**. Rio de Janeiro: PTA: FASE, p. 42-48, 1989.

ALTIERI, M; TOLEDO, V. The agroecological revolution in Latin America: rescuing nature, ensuring food sovereignty and empowering peasants. **The Journal of Peasant Studies**, vol. 38, n. 3, p. 587-612, 2011.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais**. 2017, 66f. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. Porto, Portugal. 2017.

ANDRADE, S. F; CARDOSO, L. G; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacoly**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ANDREOTTI, R. et al. Protective immunity against tick infestation in cattle vaccinated with recombinant trypsin inhibitor of *Rhipicephalus microplus*. **Vaccine**, v. 30, n.47, p. 6678–6685, 2012.

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.

ARRUDA, R. "Populações Tradicionais" e a proteção de recursos naturais em Unidades de Conservação. **Ambiente & Sociedade**, ano II, n 5, 1999.

ASSOCIAÇÃO BIODINÂMICA: Disponível em: <<https://biodinamica.org.br/2-preparados-biodinamicos>>. Acesso em: 23 maio 2018.

ATROCH, E. M. A. C. et al. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forticata* submetidas a diferentes condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853-862, jul./ago. 2001.

BADI, N. H. et al. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. **Industrial Crops and Products**, v. 19, n.3, p. 231–236, 2004.

BAPTISTA, C. N. Agricultura biodinâmica: a arte de cuidar da terra. **Revista Biosofia**, n. 8, inverno 2000/2001. Disponível em: <<http://biosofia.net/2001-01/17/agricultura-biodinamica-a-arte-de-cuidar-da-terra/>> Acesso em: 14 Jun. 2018.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**. Porto Alegre: Emater: Ascar, 2014. Disponível em: <http://www.emater.tche.br/site/arquivos/milho/-O_Milho_e_o_Clima.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2018.

BERTRAND, G. **Paisagem e geografia física global - esboço metodológico**. RA'E GA, n. 8, p. 141-152, 2004. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/raega/article/viewFile/3389/2718>>. Acesso em: 23 mar. 2018.

BEVILAQUA, G. A. P; ANTUNES, I. F. **Agricultores guardiões de sementes e o desenvolvimento in situ de cultivares crioulas** (2008). Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/guardioes/index.htm>Acessado em: 21 jan. 2018.

BLANK, A. F. et al. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 557-564, 2007.

BOYER, S; ZHANG, H; LEMPERIERE, G. Uma revisão dos métodos de controle e mecanismos de resistência em insetos de produtos armazenados. **Boletim de Pesquisa Entomológica**. v.102, nº2, p. 213-229, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. Brasília, 2012.

BRASIL. **Portaria**: nº 886, 20 de abril de 2010. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde Disponível em: < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt0886_20_04_2010.html>. Acesso em: 21 fev. 2018.

BRASIL. **Monografia da espécie *Tagetes minuta* L.(cravo-de-defunto)** (2015) ANVISA. Disponível em:<<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/11/-MonografiaTagetes-minuta.pdf>> Acesso em: 14 jun. 2018

CAKMAK, I. Protection of plants from detrimental effects of environmental stress factors. In: YAMADA, T; ROBERTS, T.L. In: Simpósio sobre potássio na agricultura brasileira, 2, 2004, São Pedro, SP. **Anais...**Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potássio e do Fósforo, p. 261-279, 2005.

CAPORAL, F. R; COSTABEBER, J. A. **Agroecologia**: alguns conceitos e princípios. Brasília: MDA/SAF/DATER-IICA, p. 24, 2004.

CASTRO, D. M; MING, L. C; MARQUES, M. O. M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas da *Lippia alba* (Mill). N.E.Br em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.4, n.2, p. 75-9, 2002.

CASTRO, P. R; KLUGE, R. A; PERES, L. E. P. Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática. **Agrônoma Ceres**, Piracicaba, p. 650, 2005.

CERRUTI, R. R. H. et al. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. **Applied Soil Ecology**, v. 46, p. 307–320, 2010.

CHAGAS, J. H. et al. Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função da idade e época de colheita em plantas de hortelã-japonesa. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v. 33, n. 2, p. 327-334, 2011.

CHALCHAT, J.; GARRY, R.; MUHAYIMANA, A. Óleo Essencial de *Tagetes minuta* de Ruanda e França: Composição Química Segundo o Local de Colheita, Estágio de Crescimento e Parte da Planta Extraída, **Journal of Essential Oil Research**, v.7, n.4, p. 375-386, 1995. Versão online 2011.

CHAMORRO, E. R. et al. 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.

CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. **Environmental and Experimental Botany**, v.63, p. 216–223, 2008.

CLAUSSEN, J. W. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. **Forest Ecology Management** , v. 80, p. 245-255, 1996.

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**, p. 791–802, 2016.

CROTEAU, R. et al. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAM, B.B. et al. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: Courier Companies. p.1250-1318, 2000.

CUNHA, N. G. **Estudo dos solos do município de Rio Grande**. Pelotas: Universitária/UFPel, 74 p. 1996.

DUTRA, C. C. et al. Desenvolvimento de plantas de girassol sob diferentes condições de fornecimento de água. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n.1, p. 2657-2668, 2012.

EMBRAPA. Marco Referencial em Agroecologia. Brasília/DF: **Embrapa Informações Tecnológicas**. p.70, 2006.

FAGUNDES, J. D. et al. Temperatura-base e soma térmica de subperíodos do desenvolvimento de *Aspilia montevidensis*. **Bragantia**, v. 69, n. 2, p. 499–507, 2010.

FAO. Anexo Estatístico. **Organização das Nações Unidas para Alimentação e Organização Agrícola**. Roma, 2012.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma area emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 12, p. 175-204, 2000.

FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L.; BARROSO, J. G. Plantas aromáticas e medicinais - óleos essenciais e voláteis. **Revista Plantas Aromáticas e Medicinais**, n.114. 2014.

FLORA ARGENTINA. 2018. Disponível em: <<http://www.floraargentina.edu.ar/>> Acesso em: 22 jun. 2018.

FONSECA, C. **Escala fenológica de *Tagetes minuta* L.** Desenho gráfico elaborado por Larissa Fonseca Silveira com base nos dados fornecidos pela autora. UFPel, 2018.

GADELHA, R. S. S.; CELESTINO, R. C. A. Urina de vaca: Alternativa eficiente e barata. **Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://www.pesagro.rj.gov.br/urina.html>>. Acesso em: 26 mar. 2018.

GADIOLI, J.L. et al. Temperatura do ar, rendimento de grãos de milho e caracterização fenológica associada à soma calórica. **Scientia Agricola**, v.57, p.377-383, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010390162000000-300001&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 12 jun. 2018.

GAKUUBI, M. M. et al. 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, F. R. M. Produtos naturais como inseticidas e repelentes de insetos. In: **IV Jornada Catarinense de Plantas Medicinais**, Itajai, ACPM, p. 35-36, 2003.

GARCIA, L. M. Z. et al. S. 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.

GARCIA, M. V. et al. Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effect on ticks. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 4, p. 405-411, out, 2012.

GAKUUBI, M. M. et al. 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.

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. UFRGS, 2005.

HACK, H. et al. **Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono unddikotyle Pflanzen** – Erweiterte BBCH-Skala, Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes. Allgemein, v. 44, p. 265-270, 1992.

HEBEISH, A. et al. A. Preparation of durable insect repellent cotton fabric: Limonene as insecticide. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 268–273, 2008.

HEIFFIG, L. S. et al. Fechamento e índice de área foliar da cultura da soja em diferentes arranjos espaciais. **Bragantia**, v. 65, p. 285-295. 2006.

HEINRICH, M. et al. **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy**. London: Elsevier, 2007.

HOU, J. L. et al. Effect of low light intensity on growth and accumulation of secondary metabolites in roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.38, p. 160–168, 2010.

IRERI, L. N. et al. **The potential of the extracts of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae), *Acalypha fruticosa* Forssk (Euphorbiaceae) and *Tarhonanthus camphoratus* L. (Compositae) against *Phlebotomus duboscqi* Neveu Lemaire (Diptera: Psychodidae), the vector for leishmania major yakimoff and schokhor.** J. Vector Borne Dis. 47, p. 168–174, 2010.

JOSHI, V. P. et al. Chemical transformation of 3,7-dimethyl,5-one,1-octene (dihydrotagetone), into new odour molecules. *Flavour and Fragrance Journal*. n. 20, p. 637, 2005.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n.1, p. 45–66, 2006.

JAENSON, T. G; PÅLSSON, K; BORG-KARLSON, A. K. Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden. **Medical and Veterinary Entomology**. v. 19, n. 4, p. 345-52, 2005.

JARAMILLO, B. E; DUARTE, E; DELGADO, W. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. **Revista Cubana Plantas Mediciniais**, v. 17, n.1, p. 54-64, 2012.

KARIMIAN, P; KAVOOSI, G; AMIRGHOFAN, Z. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Tagetes minuta* essential oil in activated macrophages. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.4, n.3, p. 219-227, 2014.

KER, J.C. et al. Pedologia. In: IBGE. **Levantamento dos Recursos Naturais**, v.3. Rio de Janeiro: IBGE, p.405-540, 1986.

KLEINE, S; MÜLLER, C. Intraspecific plant chemical diversity and its relation to herbivory. **Oecologia**, Berlin, v. 166, n. 1, p. 175-186, 2011.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. Fondo de Cultura Econômica. México, 1948.

KOSTYUKOVSKY, M. et al. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. **Pest Manag. Sc**, v. 58, p. 1101-6, 2002.

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)**. 2007. 127p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2007.

KYARIMPA, C. M. et al. Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles gambiae*. **Industrial Crops and Products**, v.62, p. 400-404, 2014.

KUMAR, R. et al. Modulation of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) phenophases towards the varying temperature regimes - a field study. **Journal Agrometeorology**, v.12, n. 2, p. 234-240, 2010.

KUMAR, R. et al. 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. et al. 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**. p.1-12, 2014.

LAWS, B. **50 Plantas que mudaram o rumo da história**. Rio de Janeiro: Editora Sextante, 2013.

LEITE, C. D.; MEIRA, A. L.; MOREIRA, V. R. Tecnologia apropriada à agricultura orgânica. **Fichas Agroecológicas**. 2016. Sanidade Vegetal 18. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/fichas-agroecologicas/arquivos-sanidade-vegetal/25-extrato-de-alho-e-cebola-no-controle-de-insetos.pdf>>.

LIPORACCI, H. S. N.; SIMAO, D. G.. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais nos quintais do Bairro Novo Horizonte, Ituiutaba, MG. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais** [online]. v.15, n.4, p. 529-540, 2013.

LIZARRAGA, E. et al. Morpho anatomical characterization and essential oils of *Tagetes terniflora* and *Tagetes minuta* (Asteraceae) growing in Tucumán (Argentina). **Boletín de La Sociedad Argentina Botánica**. v.52, n.1. Córdoba, 2017.

LOCKERETZ, W. **Na agricultura orgânica: uma história internacional**. Ed. lockeretz, v. 1, n.8, CABI, 2007.

LOPES, J. F. D. **Cultivo e processamento de plantas aromáticas**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciência e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. p. 79, 2014.

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

LOVATTO, P. B; SCHIEDECK, G; GARCIA, F. R. M. A interação co-evolutiva entre insetos e plantas como estratégia ao manejo agroecológico em agroecossistemas sustentáveis. **Interciência**. p. 657-663, 2012.

LOVATTO, P. B. **As plantas bioativas como estratégia a transição agroecológica na agricultura familiar**: análise sobre a utilização empírica e experimental de extratos botânicos no manejo de afídeos em hortaliças. Pelotas, 2012 – 391f. – Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – Universidade Federal de Pelotas, 2012.

LUZ, J. M. Q. et al. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n.3, p. 552–560, 2014.

MARASCHIN, M; VERPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário: otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, n.10, p. 24-28, 1999.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press Inc., 1986.

MAY, A. et al. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo entre cortes. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v.12, n.2, 2010.

MESHKATALSADAT, M. H. et al. Chemical characterization of volatile components of *Tagetes minuta* L. cultivated in south west of iran by nano scale injection. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures** v. 5, n. 1, p. 101–106, 2010.

MOGHADDAM, M; OMIDBIAGI, R; SEFIDKON, F. Chemical Composition of the Essential Oil of *Tagetes minuta* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n.1, p. 3–4, 2007.

MOHAMED, M. et al. of drought stress on the yield and composition of volatile oils of drought-tolerant and nondrought-tolerant clones of *Tagetes minuta*. **Planta Medica**, v. 68, p. 472-474, 2002.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira** v. 27, n. 2 (Suplemento - CD Rom). 2009.

MORAIS, L. A. S. et al. Composição e rendimento de óleo essencial de alecrim em diferentes horários coleta. **Instituto de Botânica, IX Jornada Paulista de Plantas Mediciniais**. São Paulo, SP, 2009.

MORAIS, L. A. S. Controle fitossanitário em assentamento de base agroecológica: um resgate do conhecimento tradicional. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n.1, p. 57- 66, 2011.

NCHU, F; MAGANO, S. R; ELOFF, J. N. In vitro anti-tick properties of the essential oil of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) on *Hyalomma rufipes* (Acari: Ixodidae). **Onderstepoort J. Vet. Res.** v.79, p. 1–5, 2012.

NENNAH, G; IBRAHIM, S. I. A; AL-ASSIUTY, B. A. Composição química, atividade inseticida e persistência de três óleos essenciais de Asteraceae e suas nanoemulsões contra *Callosobruchus maculatus*(F.) **Jornal de Produtos Armazenados**, n. 9, p. 16, 2015.

NODARI, R.O.; GUERRA, M. P. A agroecologia: estratégias de pesquisa e valores estudos avançados. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 29, n. 83. 2015.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro, Guanabara. 1988. 434p.

OLIVEIRA, L. P. D.; DEBLE, I. P.; MARCHIORI, J. N. C. *Tagetes ostenii* Hicken, citação nova para a flora sul-brasileira. **Balduinia**. n. 2, p. 4-6, 2005.

ONU 2015. **Plataforma Agenda 2030**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>>. Acessado em: 15 mar. 2018.

PANDEY, V; PATEL, A; PATRA, D. D. Amelioration of mineral nutrition, productivity, antioxidant activity and aroma profile in marigold (*Tagetes minuta* L.) with organic and chemical fertilization. **Industrial Crops and Products**, v.76, p. 378–385, 2015.

PEREIRA, A. R; ANGELOCCI, L. R; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia – Fundamentos e aplicações práticas**. Porto Alegre: Agropecuária, 2002.

PEREIRA, E. B. et al. **Atlas brasileiro da energia solar**. 1a edição. São José dos Campos: Projeto SWERA-INPE. 2006. 60p.

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

REFLORA. **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.ibri.gov.br/reflora/listaBrasil/Ficha-PublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB16341>>. Acesso em: 15 Abr. 2018.

RIZVI, S. J. H. et al. A discipline called allelopathy. In: RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. (Ed.) **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, p. 1-10, 1992.

ROHLOFF, J. **Cultivation of Herbs and Medicinal Plants in Norway – Essential Oil Production and Quality Control**. PhD. Thesis, Norwegian University of Science and Technology, Norway, 2003.

SACCO, P. R; FERREIRA, G. C. G. B; SILVA, A. C. C. Aromaterapia no auxílio do combate ao estresse: bem-estar e qualidade de vida. **Revista Científica da FHO|UNIARARAS** v. 3, n. 1/2015.

SAMUNI-BLANK, M. et al. Intraspecific directed deterrence by the mustard oil bomb in a desert plant. **Current Biology**., v. 22, n. 13, p. 1218-1220, 2012.

SANTILLI, J. F. R. **Agrobiodiversidade e direito dos agricultores**. 2009. 409f. Tese (Doutorado em Direito), Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2009.

SAVITHRAMMA, N. et al. Screening of medicinal plants for secondary metabolites. **Middle-East J. Sci. Res.**, v. 8, p. 579-584, 2011.

SEBBENN, A. M. et al. Variação genética entre e dentro de populações de amendoim - *Pterogyne niten*. **Scientia Florestalis**, n. 56, p. 29-40, 1999.

SEBBENN, A. M; ETTORI, L. C. Conservação genética ex situ de *Esenbeckia leiocarpa*, *Myracrodruon urundeuva* e *Peltophorum dubium* em teste de progênes misto. **Revista do Instituto**. January 2001.

SENATORE, F. et al. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. **Flavour and Fragrance Journal**. v.19, p. 574-578, 2004.

SENTELHAS, P. C. et al. Brasil - **Balancos Hídricos Climatológicos de 500 localidades brasileiras**. ESALQ/USP 2003.

SEYOUM, A. et al. Traditional use mosquito-repellent plants in western Kenya and their evaluation in semi-field experimental huts against *Anopheles gambiae*: ethnobotanical studies and application by thermal expulsion and direct burning. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene**, v. 96, p. 225-231, 2002.

SHIRAZI, M. T. et al. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. **Food Science & Nutrition**, v.2, n.2, p.146-155, 2014.

SIGNORINI, C. B. **Potencial de *Tagetes minuta* (Asteraceae) para o manejo de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) em cultivos orgânicos de brássicas no município de Pelotas, RS, Brasil.** 2015. 88f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas, 2015.

SILVA, F. G. et al. Influence of radiation level on plant growth, yield and quality of essential oil in carqueja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. n. 1, p. 52-57, 2006.

SILVA, P. M.; FERNANDES, L. A. O. Entre a valoração e o direito: o que está em debate nas estratégias de conservação da agrobiodiversidade. X ENCONTRO DA ECOECO. **Anais...** Vitória - ES – Brasil, 2013.

SILVA, S. F.; NETO, J. F. M. Universidade Federal da Paraíba – UFPB. SABER POPULAR E SABER CIENTÍFICO. **Revista Temas em Educação**, João Pessoa, v.24, n. 2, p. 137-154, jul. dez. 2015.

SIMÕES, C. M. O; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, Cap.18, 2000.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P; SIMON, D. **O guia decepar chora de ervas: 40 receitas naturais para sua saúde perfeita.** Rio de Janeiro: Campus, 2001.

SINGH, V; SINGH, B; KAUL, V. K. Domestication of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) as a potential economic crop in western Himalaya and north Indian plains. **Economic Botany**, v. 57, p.535–544, 2003.

SIVAKUMAR, D, BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection** v. 64, p. 27–37, 2014.

SOUZA, J. R. P. et al. Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. **Horticultura Brasileira**. v. 26, p. 40-44, 2008.

SOUZA, M. F. et al. Tipos de controle alternativo de pragas e doenças nos cultivos orgânicos no estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n.1, p. 132-138, 2012.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. Porto Alegre. 2010. 68f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PUC do Rio Grande do Sul. 2010.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TANKEU, S. Y. et al. Essential oil variation of *Tagetes minuta* in South Africa - A chemometric approach. **Biochemical Systematics and Ecology**. v.51, p. 320-327, 2013.

TRECHA, C.O. et al. Efeito do óleo de *Tagetes minuta* (Asteraceae) sobre caracteres agrônômicos de batata cultivar Cristal. VII COBRADAN - Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2015.

TRECHA, C. O. **Contribuição da espécie *Tagetes minuta* (Asteraceae) ao manejo agroecológico de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) em batata**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pelotas. 140 f. 2018

VALE, N. B. A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 3, p. 368-380, 2002.

VIEGAS, J. C. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390- 400, 2003.

VILANI, M. T. et al. Estimativa da absorvância da radiação fotossinteticamente ativa de uma vegetação de transição floresta Amazônica-cerrado por três métodos. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**. v. 15, n. 3, p. 289-298, 2007.

WANZALA, W. Ethnobotanicals for Management of the Brown Ear Tick, *Rhipicephalus appendiculatus* in Western Kenya. Wageningen University and Research Centre, Wageningen. Printed by Ponsen & Looijen, Wageningen. **The Netherlands**, p. 231, 2009.

WANZALA, W; OGOMA, S. B. Chemical composition and mosquito repellency of essential oil of *Tagetes minuta* from the southern slopes of Mount Elgon in western Kenya. **J. Essent. Oil Bear Plants**, v.16, p. 216–332, 2013.

WANJALA, W. C; WANZALA, W. **Essential Oils**. Food Preservation, Flavor and Safety, First Edition, p. 791-802, 2016.

WILLER, H; LERNOUD, J. (Eds.). **Mundo da agricultura orgânica: estatísticas e tendências emergentes**. FIBL-IFOAM, 2015.

WOOD, P. J; BURLEY, J. **A tree for all reasons**: Introduction and evaluation of multipurpose trees for agroforestry. Nairobi, Kenya: Science and Practice of Agroforestry: ICRAF, 1991. 158 p.

Anexos

Anexo A – Variáveis meteorológicas

Valores decendiais das variáveis meteorológicas analisadas entre 31 de outubro de 2016 e 7 de junho de 2017, durante o cultivo de *T. minuta* L.

Temperatura média do ar (M, °C), temperatura máxima do ar (MX, °C), umidade relativa do ar (UR, %), precipitação pluviométrica (PP, mm) e velocidade média do vento (VV, m s⁻¹), no dia da coleta (+1D) e média/acumulada nos dois dias anteriores mais o dia da coleta (+3D).

Decêndios	Temperatura do ar (°C)			GD (°C dia ⁻¹)	Umidade relativa do ar (%)		PR (mm)	Temperatura do solo (°C, 20 cm)			RFA (μmol s ⁻¹ m ⁻²)			RFA (MJ m ⁻²)
	méd	máx	mín		máx	mín		méd	máx	mín	méd	máx	mín	
1	19,7	26,7	14,4	9,7	88,9	83,3	85,3	21,4	25,3	19,4	658,2	1009,4	378,7	6,7
2	18,4	24,8	13,1	8,3	86,0	79,5	62,2	20,3	23,9	18,2	770,4	1174,5	445,0	7,9
3	18,3	24,4	13,7	8,5	90,3	85,1	30,0	20,2	23,6	18,1	728,1	1112,3	420,0	7,5
4	20,1	26,7	15,0	10,1	86,3	79,9	32,3	21,7	25,3	19,8	804,5	1224,7	465,2	8,3
5	21,3	28,9	15,5	11,2	84,9	78,1	1,3	22,8	26,8	20,8	813,2	1237,5	470,3	8,4
6	22,9	29,7	18,9	12,9	94,0	89,8	137,9	24,2	27,5	22,3	630,8	968,9	362,5	6,4
7	23,6	29,7	19,7	13,6	93,8	89,4	73,6	24,8	27,5	23,0	655,7	1005,7	377,3	6,7
8	23,1	29,5	19,1	13,1	93,9	89,6	91,9	24,3	27,3	22,5	648,2	994,5	372,8	6,6
9	21,4	27,6	16,5	11,4	89,4	83,9	21,8	22,9	26,0	21,0	801,5	1220,2	463,4	8,3
10	23,9	30,2	19,7	13,9	89,8	84,4	30,5	25,0	27,8	23,3	711,7	1088,1	410,3	7,3
11	23,8	30,6	19,7	13,8	94,2	90,0	76,9	24,9	28,1	23,2	588,2	906,3	337,3	5,9
12	24,2	31,2	19,5	14,2	95,7	90,4	146,8	25,4	28,0	23,7	597,6	921,4	299,6	6,4
13	23,5	29,8	19,2	13,5	94,8	89,3	88,9	24,7	26,7	23,2	518,1	805,7	231,9	5,7
14	18,4	26,1	13,1	8,5	90,3	84,0	66,5	22,4	27,0	19,3	664,5	930,9	476,2	6,8
15	20,5	26,5	16,6	10,5	95,5	90,9	9,4	22,8	26,6	20,3	490,5	979,9	211,8	5,0
16	20,7	27,2	16,0	10,7	92,0	87,1	2,0	23,1	27,3	20,3	469,5	825,4	258,0	4,8
17	18,1	22,9	15,0	8,1	95,0	90,8	98,5	20,7	22,9	19,2	299,6	534,0	145,3	3,0
18	16,5	22,1	12,9	6,9	88,6	84,1	24,3	18,6	21,2	17,0	385,9	554,6	210,0	3,6
19	17,5	25,3	12,3	8,2	93,5	88,6	2,8	19,5	23,7	17,0	428,1	553,8	240,5	3,7
20	14,8	19,3	11,5	5,2	97,2	94,6	152,9	17,3	20,2	15,4	267,0	463,3	127,6	2,3
21	16,2	19,7	13,4	6,2	97,5	95,5	185,1	16,9	19,2	15,3	191,8	282,5	130,0	1,7
22	13,1	16,9	10,8	3,5	99,0	97,1	34,5	15,2	17,7	13,5	235,8	395,3	145,2	2,1
Média	20,0	26,2	15,7	10,1	92,3	87,5	66,1	21,8	25,0	19,8	561,8	872,2	317,2	5,7
Máximo	24,2	31,2	19,7	14,2	99,0	97,1	185,1	25,4	28,1	23,7	813,2	1237,5	476,2	8,4
Mínimo	13,1	16,9	10,8	3,5	84,9	78,1	1,3	15,2	17,7	13,5	191,8	282,5	127,6	1,7
Acumulado				2218,4			14551,6				123589,9		1249,4	

Anexo B – Análise do solo nos locais de coleta.

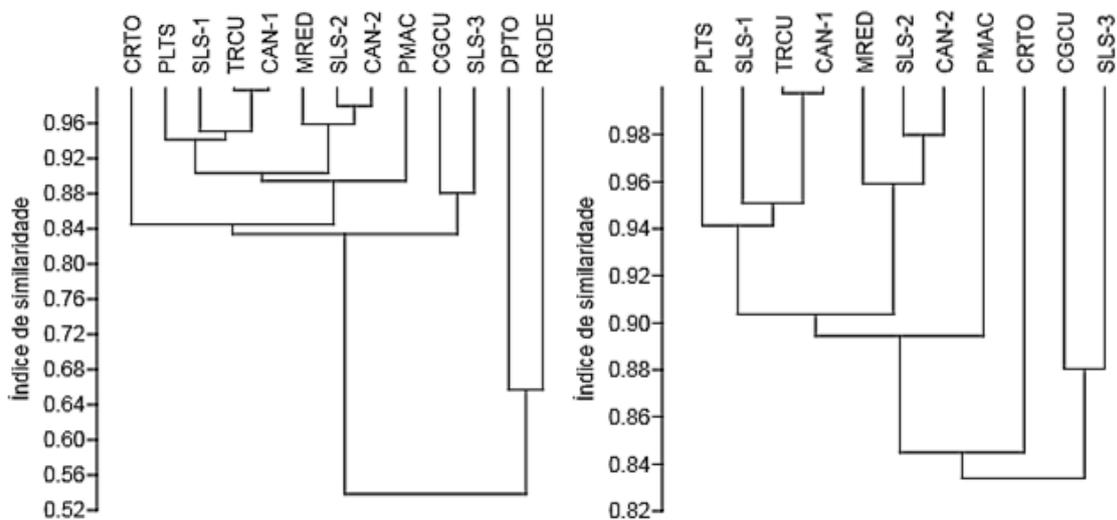
Pop	pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTCefet	Saturação (%)		ÍndSMP	% MO	% Argila	CTCpH7	K
		cmol/dm ³					Al	Bases		m/v		cmol/dm ³	
RGDE	6,1	2,7	0,1	0	1,7	2,9	0	64	6,8	1,52	8	4,6	0,11
DPTO	5,2	3,5	1,6	0,3	5,5	6,1	4,9	51	5,8	2,76	18	11,3	0,68
CRTO	5,5	4,7	1,4	0,4	5,5	6,8	5,9	54	5,8	2,9	20	11,9	0,2
CGCU	4,6	3,6	1,2	1,5	12,3	6,5	23,1	29	5,1	2,79	27	17,3	0,13
PLTS	5,6	2,8	1	0	2,8	4	0	59	6,4	1,8	21	6,8	0,2
MRED	5,2	2,2	0,5	0,1	4,4	3	3,3	40	6	1,66	24	7,3	0,18
SLS-1	5,7	5,1	1,3	0,2	4,4	6,9	2,9	60	6	1,66	29	11,1	0,21
SLS-2	5	8,2	2,5	0,2	3,1	11,2	1,8	78	6,3	1,93	24	14,1	0,21
TRCU	5,1	0,7	0,2	0,4	3,9	1,5	26,7	22	6,1	1,66	20	5	0,17
CAN-1	5,2	3,4	0,3	0,2	3,9	4,1	4,9	50	6,1	1,79	40	7,8	0,17
PMAC	6,7	5,8	0,1	0	1,6	6,2	0	80	6,9	1,52	17	7,8	0,3
CAN-2	5	3,3	0,5	0,5	5,5	4,5	11,1	43	5,8	1,66	24	9,5	0,13
SLS-3	5,9	7,9	1,4	0,1	2,5	9,7	1	79	6,5	2,35	28	12,1	0,21

Anexo C – Matriz de correlação e análise de agrupamento

Matriz de correlação entre amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes populações, utilizando o índice de Bray-Curtis.

	RGDE	DPTO	CRTO	CGCU	PLTS	MRED	SLS-1	SLS-2	TRCU	CAN-1	PMAC	CAN-2	SLS-3
RGDE	1,00												
DPTO	0,66	1,00											
CRTO	0,59	0,65	1,00										
CGCU	0,58	0,68	0,85	1,00									
PLTS	0,45	0,53	0,85	0,80	1,00								
MRED	0,45	0,57	0,83	0,81	0,91	1,00							
SLS-1	0,47	0,57	0,88	0,85	0,93	0,92	1,00						
SLS-2	0,44	0,56	0,80	0,80	0,88	0,96	0,88	1,00					
TRCU	0,47	0,57	0,87	0,82	0,95	0,93	0,95	0,90	1,00				
CAN-1	0,47	0,57	0,87	0,82	0,95	0,94	0,95	0,91	0,99	1,00			
PMAC	0,49	0,62	0,85	0,88	0,87	0,90	0,93	0,88	0,90	0,90	1,00		
CAN-2	0,45	0,57	0,81	0,80	0,88	0,96	0,88	0,98	0,91	0,91	0,89	1,00	
SLS-3	0,49	0,61	0,75	0,88	0,79	0,87	0,84	0,89	0,83	0,83	0,87	0,90	1,00

Gráficos de cluster para as amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. de diferentes populações, utilizando o índice de Bray-Curtis.



Anexo D – Detalhamento da análise de componentes principais (ACP) do óleo essencial de populações de *Tagetes minuta* L.

Análise de componentes principais (ACP) de amostras de óleo essencial de diferentes populações de *Tagetes minuta* L. considerando apenas os compostos majoritários >1%, com e sem as amostras DPTO e RGDE.

**** Summary **** ACP com todas as amostras e 8 compostos majoritários					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0,581	0,212	0,107	0,066	1,000
Cumulative percentage variance of species data	58,1	79,3	90,0	96,7	
Sum of all eigenvalues					1,000
**** Summary **** ACP sem as amostras DPTO e RGDE e 6 compostos majoritários					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0,510	0,338	0,105	0,033	1,000
Cumulative percentage variance of species data	51,0	84,8	95,4	98,6	
Sum of all eigenvalues					1,000

Anexo E – Parâmetros da análise do solo e detalhamento da ACR.

Valores das variáveis explicativas utilizadas na análise canônica de redundância (ACR) das amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L.

Amostra	Data (dia juliano)	Argila m/v (%)	MO	H+Al	Ca	Mg	K	pH _{água} (1:1)
RGDE	118	8	1,52	1,7	2,7	0,1	0,1	6,1
DPTO	129	18	2,76	5,5	3,5	1,6	0,7	5,2
CRTO	129	20	2,9	5,5	4,7	1,4	0,2	5,5
CGCU	131	27	2,79	12,3	3,6	1,2	0,1	4,6
PLTS	152	21	1,8	2,8	2,8	1,0	0,2	5,6
MRED	158	24	1,66	4,4	2,2	0,5	0,2	5,2
SLS-1	159	29	1,66	4,4	5,1	1,3	0,2	5,7
SLS-2	159	24	1,93	3,1	8,2	2,5	0,2	5,0
TRCU	159	20	1,66	3,9	0,7	0,2	0,2	5,1
CAN-1	166	40	1,79	3,9	3,4	0,3	0,2	5,2
PMAC	166	17	1,52	1,6	5,8	0,1	0,3	6,7
CAN-2	166	28	2,35	2,5	7,9	1,4	0,2	5,9
SLS-3	167	24	1,66	5,5	3,3	0,5	0,1	5,0

ACR utilizando a data de coleta como variável explicativa com todas as amostras e compostos com teor > 1%

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.412	0.268	0.147	0.085	1.000
Species-environment correlations	0.854	0.000	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance of species data	41.2	68.0	82.6	91.1	
Cumulative percentage variance of species-environment relation	100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.412
**** Summary of Monte Carlo test ****					
Test of significance of all canonical axes	Trace	F-ratio	P-value		
	0.412	7.694	0.0040		

Efeitos marginais e condicionais e significância ($p < 0,05$) das variáveis explicativas utilizadas na ACR com todas as amostras e compostos com teor > 1%

Marginal Effects			Conditional Effects				
Variable	Var.N	Lambda1	Variable	Var.N	LambdaA	p	F
K	6	0.23	K	6	0.23	0.006	6.62
H+Al	9	0.11	H+Al	9	0.11	0.032	3.92
MO	5	0.10	PH	1	0.05	0.150	1.76
PH	1	0.06	MO	5	0.03	0.260	1.47
Mg	3	0.06	Ca	2	0.02	0.520	0.73
ARG	13	0.03	Mg	3	0.05	0.088	2.36
Ca	2	0.01	ARG	13	0.01	0.538	0.74

ACR utilizando K e H+Al ($p < 0,05$) como variáveis explicativas e a data de coleta como co-variável, com todas as amostras e compostos com teor > 1%

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.235	0.107	0.121	0.058	1.000
Species-environment correlations	0.957	0.866	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance of species data	40.0	58.1	78.6	88.4	
Cumulative percentage variance of species-environment relation	68.8	100.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					0.588
Sum of all canonical eigenvalues					0.342
**** Summary of Monte Carlo test ****					
Test of significance of all canonical axes	Trace	F-ratio	P-value		
	0.342	6.237	0.0040		

(Continua)

(continuação Anexo E)

ACR utilizando a data de coleta como variável explicativa sem as amostras DPTO e RGDE sem os compostos cis-ocimeno e car-3-en-2-ona

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.270	0.339	0.253	0.104	1.000
Species-environment correlations	0.735	0.000	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance of species data	27.0	60.8	86.2	96.6	
Cumulative percentage variance of species-environment relation	100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.270
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.270	3.322	0.0220		

Efeitos marginais e condicionais e significância ($p < 0,05$) das variáveis explicativas utilizadas na ACR sem as amostras DPTO e RGDE sem os compostos cis-ocimeno e car-3-en-2-ona

Marginal Effects			Conditional Effects				
Variable	Var.N	Lambda1	Variable	Var.N	LambdaA	p	F
H+Al	9	0.23	H+Al	9	0.23	0.020	3.57
pH	1	0.15	Ph	1	0.16	0.028	3.45
K	6	0.12	Ca	2	0.05	0.402	1.08
Mg	3	0.06	ARG	13	0.07	0.198	1.63
MO	5	0.05	Mg	3	0.06	0.300	1.31
Ca	2	0.03	MO	5	0.04	0.502	0.89
ARG	13	0.02	K	6	0.04	0.476	0.96

ACR utilizando H+Al e pH ($p < 0,05$) como variáveis explicativas e a data de coleta como co-variável, sem as amostras DPTO e RGDE sem os compostos cis-ocimeno e car-3-en-2-ona

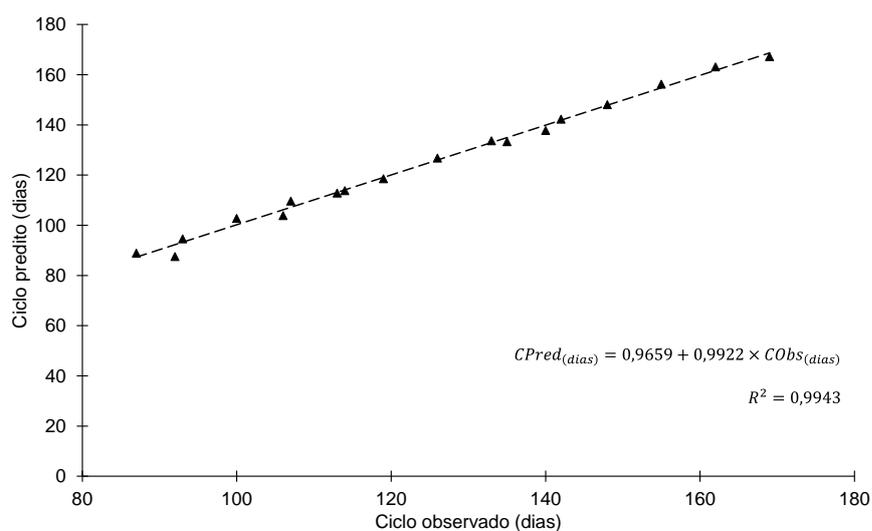
**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.250	0.142	0.140	0.121	1.000
Species-environment correlations	0.873	0.759	0.000	0.000	
Cumulative percentage variance of species data	34.3	53.7	72.9	89.6	
Cumulative percentage variance of species-environment relation	63.8	100.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					0.730
Sum of all canonical eigenvalues					0.392
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.392	4.063	0.0080		

Anexo F – Análise de regressão para determinação da duração do ciclo de cultivo do transplante até a colheita

Coefficientes de regressão para predição do ciclo de cultivo (transplante-colheita) de *Tagetes minuta* L. utilizando o modelo Quasi-Poisson (função de ligação: identidade) e as medidas descritivas da qualidade do ajuste.

Preditores	Coeficientes		IC		Deviance				pseudoR ²
	Est	P-valor	2,50%	97,50%	Nula	GL	Residual	GL	
Int	-643,8240	2,73e ⁻⁰⁹	-745,51	-542,14					
∑GD _{T-C}	0,1824	1,18e ⁻¹²	0,17	0,20	84,98	17	0,57	15	0,9932
DJT*	1,3939	1,46e ⁻⁰⁹	1,18	1,60					

*DJT representa o dia juliano referente à data de transplante, a saber, E1 em 20/dez/2016 é equivalente ao número 354 do ano. Para as demais épocas de cultivo foi utilizado o número 354 acrescido do número de dias acumulados até respectiva data de transplante, sendo E2 em 18/jan/2017 equivalente à 383, E3 em 13/fev/2017 equivalente à 409 e E4 em 7/mar/2017 equivalente à 431.



Regressão linear entre a duração do ciclo observado (CObs) do transplante até a colheita de *Tagetes minuta* L. e a duração do ciclo predito (CPred) pelo modelo ajustado

Anexo G – Análise de regressão para predição da massa seca total (t ha⁻¹) de *T. minuta* L.

Coefficientes de regressão linear para predição da massa seca total (MST, t ha⁻¹) de *Tagetes minuta* L. a partir da massa fresca total (MFT, t ha⁻¹) e do dia juliano do transplante (DJT) e as medidas descritivas da qualidade do ajuste.

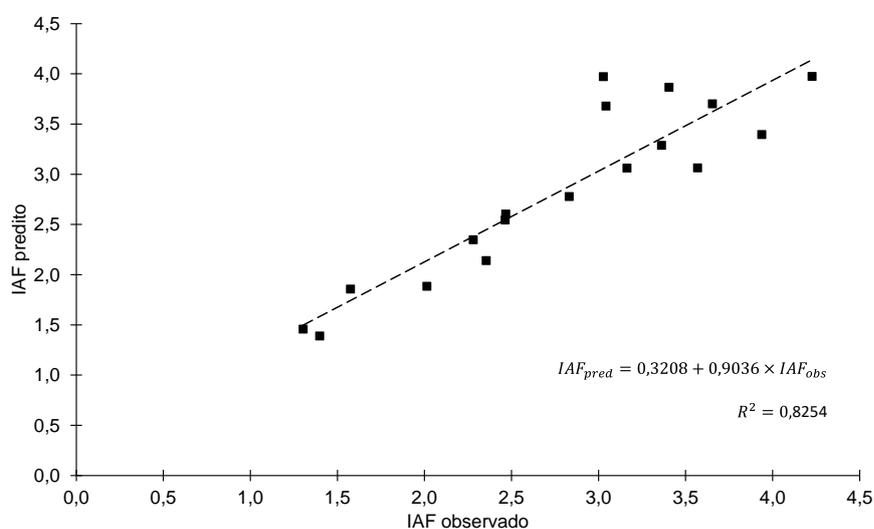
Fatores	ANOVA			Coeficientes			IC		R^2_{aj}
	G.L.	F	P-valor	Pred	Est	P-valor	2,50%	97,50%	
MFT	1	912,18	$1,54e^{-15}$	Int	-0,3967	0,4901	-1,59	0,79	0,9817
Resíduos	16			MFT	0,3111	$1,54e^{-15}$	0,29	0,33	
DJT*	1	94,87	$1,29e^{-07}$	Int	131,6914	$2,93e^{-08}$	105,95	157,44	0,8622
Resíduos	14			DJT	-0,3016	$1,29e^{-07}$	-0,37	-0,24	

*DJT representa o dia juliano referente à data de transplante, a saber, E1 em 20/dez/2016 é equivalente ao número 354 do ano. Para as demais épocas de cultivo foi utilizado o número 354 acrescido do número de dias acumulados até respectiva data de transplante, sendo E2 em 18/jan/2017 equivalente à 383, E3 em 13/fev/2017 equivalente à 409 e E4 em 7/mar/2017 equivalente à 431.

Anexo H – Análise de regressão para predição do IAF de *T. minuta* L.

Coeficientes de regressão linear para predição do IAF de *Tagetes minuta* L. a partir da massa fresca total (MFT, t ha⁻¹) e do dia juliano da colheita (DJC) e as medidas descritivas da qualidade do ajuste.

Fatores	ANOVA			Coeficientes			IC		R^2_{aj}
	G.L.	F	<i>p</i> -valor	Pred	Est	<i>p</i> -valor	2,50%	97,50%	
MFT	1	87,06	2,19e ⁻⁰⁷	Int	5,5399	6,21e ⁻⁰⁵	3,43	7,65	0,8680
DJC	1	20,14	5,11e ⁻⁰⁴	MFT	0,0314	3,89e ⁻⁰⁷	0,02	0,04	
Resíduo	14			DJC	-0,0301	5,11e ⁻⁰⁴	-0,04	-0,02	

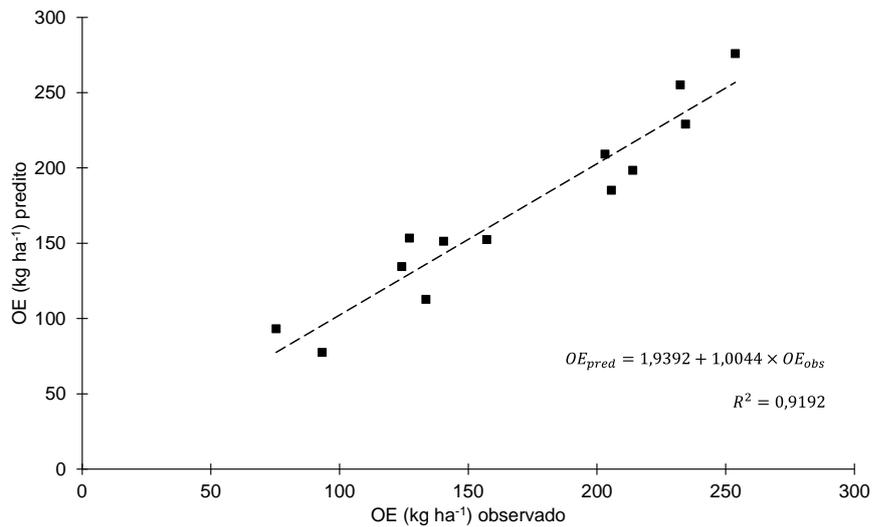


Qualidade do ajuste da regressão linear entre o IAF_{obs} e o IAF_{pred} de *Tagetes minuta* L. para o modelo ajustado

Anexo I – Análise de regressão para predição do rendimento de óleo essencial de *T. minuta* L.

Coeficientes de regressão linear para predição do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. a partir da massa fresca total (MFT, t ha⁻¹) e do dia juliano da colheita (DJC) e as medidas descritivas da qualidade do ajuste.

Fatores	ANOVA			Coeficientes			IC		R ² _{aj}
	G.L.	F	P-valor	Pred	Est	P-valor	2,50%	97,50%	
MST	1	102,72	6,46e ⁻⁰⁷	Int	-353,1259	2,77e ⁻⁰³	-555,76	-150,50	0,9036
DJC	1	21,10	7,73e ⁻⁰⁴	MST	10,6252	2,52e ⁻⁰⁷	8,52	12,73	
Resíduos	11			DJC	2,8171	7,73e ⁻⁰⁴	1,47	4,17	



Qualidade do ajuste da regressão linear entre o rendimento de OE_{obs} e o OE_{pred} de *Tagetes minuta* L. para o modelo ajustado

Anexo J – Parâmetros produtivos, variáveis climáticas e detalhamento da ACR.

Época, data de transplante e colheita, duração do ciclo de cultivo (ciclo), massa seca total (MST) e de flores e folhas (MSFLFH), produtividade de óleo essencial (OE_{prod}) e índice de área foliar (IAF) de *Tagetes minuta*, e valores de radiação fotossinteticamente ativa (RFA_{acum}), graus-dia (GD_{acum}), precipitação pluviométrica (PP_{acum}) e nebulosidade (N_{média}).

Época	Transplante	Colheita	Ciclo (dias)	MST (t ha ⁻¹)	MSFLFH (t ha ⁻¹)	OE _{prod} (kg ha ⁻¹)	IAF	RFA _{acum} (MJ m ⁻²)	GD _{acum} (°C dia ⁻¹)	PP _{acum} (mm)	N _{média} (0-1)
E1	20/12/16	4-mai	135	21,45	8,42	303,73	4,23	788,18	1555,60	870,97	5,59
		11-mai	142	16,20	6,93	205,54	3,94	809,63	1604,86	872,72	5,60
		17-mai	148	23,15	9,83	253,68	3,03	823,06	1636,29	1024,59	5,67
		24-mai	155	14,00	5,07	213,92	2,46	838,10	1681,12	1082,48	5,70
		31-mai	162	23,42	7,95	355,10	3,36	847,24	1718,96	1212,98	5,86
		7-jun	169	27,13	9,57	332,61	3,65	862,07	1741,42	1244,17	5,94
E2	18/01/17	4-mai	106	20,31	8,39	203,12	3,41	600,47	1172,41	568,07	5,35
		11-mai	113	13,02	6,28	140,37	3,16	621,92	1221,66	569,82	5,37
		17-mai	119	21,20	9,48	232,32	3,04	635,35	1253,10	721,69	5,48
		24-mai	126	16,88	5,83	234,38	2,83	650,39	1297,93	779,58	5,52
		31-mai	133	19,75	7,63	314,21	3,57	659,53	1335,77	910,08	5,73
		7-jun	140	17,51	7,28	241,51	2,47	674,36	1358,23	941,27	5,83
E3	13/02/17	11-mai	87	6,07	3,35	93,23	2,28	430,88	891,44	485,01	5,38
		17-mai	93	5,95	3,21	75,32	2,35	444,31	922,88	636,88	5,52
		24-mai	100	5,94	3,11	133,51	1,57	459,34	967,70	694,77	5,57
		31-mai	107	7,82	4,06	157,18	2,01	468,48	1005,55	825,27	5,82
		7-jun	114	6,05	3,36	127,08	1,30	483,31	1028,01	856,46	5,94
E4	07/03/17	7-jun	92	4,27	2,59	124,12	1,40	346,25	716,29	622,15	5,92

Efeitos marginais e condicionais e significância (p<0,05) das variáveis explicativas utilizadas na ACR

Marginal Effects		Conditional Effects				VIF
Variable	Lambda1	Variable	LambdaA	p	F	
RFA	0.68	RFA	0.68	0.002	33.72	1020.0219
GD	0.65	GD	0.07	0.016	4.41	1164.6858
CICLO	0.55	PP	0.04	0.074	2.37	68.9613
PP	0.31	N	0.01	0.610	0.57	10.7720
N	0.05	CICLO	-0.00	0.868	0.20	94.7970

continua

(continuação Anexo J)

ACR parcial - Decomposição da variabilidade utilizando as variáveis RFA e CICLO

**** Summary **** [RFA + CICLO]					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.693	0.049	0.199	0.034	1.000
Species-environment correlations	0.883	0.775	0.000	0.000	
Cumulative % variance of species data	69.3	74.2	94.1	97.5	
Cumulative % variance of species-environment relation	93.4	100.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.742
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.742	21.616	0.0020		
**** Summary **** [RFA]					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.678	0.216	0.079	0.024	1.000
Species-environment correlations	0.873	0.000	0.000	0.000	
Cumulative % variance of species data	67.8	89.4	97.4	99.8	
Cumulative % variance of species-environment relation	100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.678
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.678	33.725	0.0020		
**** Summary **** [CICLO]					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.550	0.366	0.058	0.023	1.000
Species-environment correlations	0.792	0.000	0.000	0.000	
Cumulative % variance of species data	55.0	91.6	97.4	99.8	
Cumulative % variance of species-environment relation	100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.550
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.550	19.586	0.0040		
**** Summary **** [RFA+covariável CICLO]					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.192	0.199	0.034	0.023	1.000
Species-environment correlations	0.744	0.000	0.000	0.000	
Cumulative % variance of species data	42.7	86.9	94.4	99.5	
Cumulative % variance of species-environment relation	100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					0.450
Sum of all canonical eigenvalues					0.192
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.192	11.181	0.0040		
**** Summary **** [CICLO + covariável RFA]					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.064	0.199	0.034	0.023	1.000
Species-environment correlations	0.706	0.000	0.000	0.000	
Cumulative % variance of species data	19.9	81.7	92.2	99.2	
Cumulative % variance of species-environment relation	100.0	0.0	0.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					0.322
Sum of all canonical eigenvalues					0.064
**** Summary of Monte Carlo test ****					
	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.064	3.737	0.0420		
Decomposição da variabilidade					
	Sem CV	Com CV	Interação		Partial variance
RFA	0.678	0.192	0.486		0.192
CICLO	0.550	0.064	0.486		0.064
Interação					0.486
Total variance					0.742

Anexo K – Detalhamento da análise de componentes principais (ACP) do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em diferentes datas de colheita

Análise de componentes principais (ACP) de amostras de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em condição de cultivo em diferentes datas de colheita, considerando apenas os compostos majoritários (>1%).

**** Summary ****ACP com 5 compostos majoritários (>1%)					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.715	0.137	0.110	0.027	1.000
Cumulative percentage variance of species data	71.5	85.2	96.1	98.8	
Sum of all eigenvalues					1.000

Anexo L – Composição química dos compostos majoritários e rendimento de óleo essencial de *Tagetes minuta* L. em diferentes datas de colheita e detalhamento da análise canônica de redundância (ACR).

Época, data de colheita, percentual dos compostos majoritários (>1%) em cada data de colheita e rendimento de óleo essencial de *Tagetes minuta* L.

Época	Colheita	D-limoneno	Cis- β -ocimeno	Dihidrotagetona	Trans-tagetona	Cis-tagetona	OE _{rend}
		(%)					
E1	4-mai	5,25	25,48	26,98	5,86	32,47	3,61
	11-mai	4,10	23,18	22,33	6,65	39,37	2,96
	17-mai	2,42	25,18	16,72	6,49	45,58	2,58
	24-mai	1,70	23,87	8,78	4,56	57,90	4,22
	31-mai	1,35	24,99	8,52	5,01	56,83	4,46
	7-jun	1,36	27,76	8,39	4,61	54,42	3,47
E2	4-mai	5,44	21,18	30,20	5,72	32,93	2,42
	11-mai	2,46	26,04	17,19	6,12	45,61	2,24
	17-mai	4,74	25,52	20,47	6,97	38,09	2,45
	24-mai	1,94	27,24	11,56	4,90	51,14	4,02
	31-mai	2,20	28,93	14,47	5,45	44,78	4,12
	7-jun	2,64	22,51	18,97	5,85	44,73	3,32
E3	11-mai	2,16	24,44	15,46	6,03	48,87	2,78
	17-mai	3,70	24,51	20,88	6,48	40,87	2,35
	24-mai	2,21	23,68	10,86	4,69	55,12	4,29
	31-mai	1,58	26,55	8,46	5,03	54,96	3,87
	7-jun	1,78	27,06	10,37	4,51	52,39	3,78
E4	7-jun	2,88	29,50	12,35	4,69	45,97	4,80

Variáveis ambientais explicativas em cada data de colheita *Tagetes minuta* L.

Época	Colheita	MST	MSFLFH	DJC	CICLO	Dia anterior e dia da colheita (+2D)			
						RFA _{acum}	GD _{acum}	T _m méd ar	PP _{acum}
		(kg ha ⁻¹)		(dias)		(MJ m ⁻²)	(°C dia ⁻¹)	(°C)	(mm)
E1	4-mai	21,45	8,42	123	135	6,92	15,98	17,99	1,00
	11-mai	16,20	6,93	130	142	6,63	6,57	11,60	0,75
	17-mai	23,15	9,83	136	148	6,18	7,29	13,15	0,50
	24-mai	14,00	5,07	143	155	3,15	13,45	16,73	0,25
	31-mai	23,42	7,95	150	162	3,82	6,88	13,11	0,00
	7-jun	27,13	9,57	157	169	2,41	4,31	12,19	11,90
E2	4-mai	20,31	8,39	123	106	6,92	15,98	17,99	1,00
	11-mai	13,02	6,28	130	113	6,63	6,57	11,60	0,75
	17-mai	21,20	9,48	136	119	6,18	7,29	13,15	0,50
	24-mai	16,88	5,83	143	126	3,15	13,45	16,73	0,25
	31-mai	19,75	7,63	150	133	3,82	6,88	13,11	0,00
	7-jun	17,51	7,28	157	140	2,41	4,31	12,19	11,90
E3	11-mai	6,07	3,35	130	87	6,63	6,57	11,60	0,75
	17-mai	5,95	3,21	136	93	6,18	7,29	13,15	0,50
	24-mai	5,94	3,11	143	100	3,15	13,45	16,73	0,25
	31-mai	7,82	4,06	150	107	3,82	6,88	13,11	0,00
	7-jun	6,05	3,36	157	114	2,41	4,31	12,19	11,90
E4	7-jun	4,27	2,59	157	92	2,41	4,31	12,19	11,90

*MST, massa seca total; MSFLFH, massa seca de flores e folhas; DJC, dia juliano da colheita; RFA_{acum}, radiação fotossinteticamente ativa acumulada nos dias anterior e da colheita; GD_{acum}, graus-dia acumulados nos dias anterior e da colheita; T_mméd ar, média da temperatura média do ar nos dias anterior e da colheita; PP_{acum}, precipitação pluviométrica acumulada nos dias anterior e da colheita

continua...

(continuação Anexo L)

Efeitos marginais e condicionais, significância ($p < 0,05$) e fator de inflação da variância (VIF), antes e após *forward selection*, das variáveis explicativas utilizadas na ACR

Marginal Effects		Conditional Effects				VIF	
Variable	Lambda1	Variable	LambdaA	P	F	Without forward selection	With forward selection
RFA _{acum}	0.50	RFA _{acum}	0.50	0.002	16.01	218.7179	1,6609
DJC	0.43	PP _{acum}	0.07	0.096	2.30	11.7727	1.9286
MSFLFH	0.09	T _m méd	0.08	0.020	3.57	438.6612	1.2197
GD _{acum}	0.08	GD _{acum}	0.03	0.500	0.87	876.0240	
PP _{acum}	0.07	DJC	0.02	0.468	0.94	427.0453	
T _m méd	0.06	Ciclo	0.01	0.848	0.31	5.5572	
Ciclo	0.04	MSFLFH	0.02	0.520	0.70	41.8717	
MST	0.03	MST	0.01	0.802	0.32	50.5602	

*MST, massa seca total; MSFLFH, massa seca de flores e folhas; DJC, dia juliano da colheita; RFA_{acum}, radiação fotossinteticamente ativa acumulada nos dias anterior e da colheita; GD_{acum}, graus-dia acumulados nos dias anterior e da colheita; T_mméd ar, média da temperatura média do ar nos dias anterior e da colheita; PP_{acum}, precipitação pluviométrica acumulada nos dias anterior e da colheita

ACR para a composição dos compostos majoritários (>1%) do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. após *forward selection* utilizando RFA_{acum}, PP_{acum} e T_mméd como variáveis explicativas

**** Summary ****					
Axes	1	2	3	4	Total variance
Eigenvalues	0.574	0.071	0.009	0.153	1.000
Species-environment correlations	0.897	0.821	0.306	0.000	
Cumulative percentage variance of species data	57.4	64.5	65.5	80.8	
Cumulative percentage variance of species-environment relation	87.7	98.6	100.0	0.0	
Sum of all eigenvalues					1.000
Sum of all canonical eigenvalues					0.655
**** Summary of Monte Carlo test ****	Trace	F-ratio	P-value		
Test of significance of all canonical axes	0.655	8.845	0.0020		