**INFLUÊNCIA DE EXTRATOS E ÓLEOS DE *Tagetes minuta* (ASTERACEAE) NO CONSUMO FOLIAR E SOBREVIVÊNCIA LARVAL DE *Ascia monuste orseis* (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)**

Resumo - Considerando a bioatividade e a disponibilidade de *Tagetes minuta* (Asteraceae) no ambiente de estudo, bem como a necessidade de ampliação dos métodos de manejo destinados ao equilíbrio populacional de insetos nos cultivos orgânicos a pesquisa teve como objetivo avaliar o consumo foliar e sobrevivência larval de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) em couve tratada com extratos e óleos de *T. minuta*, em bioensaios sem e com chance de escolha. Os tratamentos consistiram de extratos de folha e flor sem (10 e 30% v/v) e com o adjuvante farinha de trigo (1% p/v) e óleos de folha e flor (0.25, 0.5 e 1% v/v), comparados com a testemunha água destilada e óleo de nim 1% v/v. Nos bioensaios sem chance de escolha os tratamentos foram aplicados em discos de couve fornecidos à cinco lagartas incluindo 10 repetições. Nos bioensaios com chance de escolha, os discos tratados foram fornecidos a seis lagartas incluindo 20 repetições. Os bioensaios foram mantidos em BOD por 24h (12h e 25 ± 2°C). Os resultados indicaram que os extratos reduziram em média o consumo foliar em 13.2% e 46.3% nos bioensaios sem e com chance de escolha, respectivamente, enquanto que os óleos de folha e flor (1% v/v) levaram a uma redução média de 37% na sobrevivência larval.

Palavras-chave: chinchilho, fitoprotetor botânico, curuquerê-da-couve, olericultura

**INFLUENCE EXTRACTS AND OILS *Tagetes minuta* (ASTERACEAE) IN FOLIAR CONSUMPTION AND SURVIVAL LARVAL OF *Ascia monuste orseis* (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)**

Abstract – Considering the bioactivity and the availability of *Tagetes minuta* (Asteraceae) in the study environment and the need for expansion of management methodologies for the population balance of insects in the research organic crops aimed to evaluate the leaf consumption and larval survival *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) in kale treated with extracts and oils *T. minuta* draft in bioassays and without free choice. The treatments consisted of extracts of leaf and flower without (10 and 30% v/v) and wheat flour adjuvant (1% v/v) and leaf and flower oils (0.25, 0.5 and 1% v/v) compared with the control distilled water and neem oil 1% v/v. Bioassays no choice treatments were applied in cabbage disks provided to five tracks including 10 repetitions. Bioassays free choice, the treated discs were provided to six tracks including 20 repetitions. The bioassays were held in BOD for 24h (12h and 25 ± 2°C). The results indicated that the extracts reduced in average leaf consumption by 13.2% and 46.3% in bioassays with and without the chance to choose, respectively, whereas the leaf and flower oils (1% v/v) led to an average reduction of 37% in larval survival.

Keywords: marigold, safener botanical, leafworm-of-cabbage, olericulture.

**1. INTRODUÇÃO**

A couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) é uma hortaliça de grande importância econômica para as unidades de produção agrícola familiar, ocupando lugar de destaque entre as hortaliças orgânicas cultivadas e comercializadas na Região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil (Martinez & Peil, 2010; Lovatto, 2012).

Entre os entraves para o cultivo da couve está a lagarta curuquerê-da-couve, *Ascia monuste orseis* (Latr., 1819) (Lepidoptera: Pieridae), responsável por grande desfolha das plantas, necessitando de aplicações periódicas de inseticidas químicos sintéticos utilizados no controle convencional, os quais segundo Filgueira (2008), favorecem a indução de resistência dos insetos, além de causar impactos ao ambiente e a saúde humana.

Dentre as alternativas para o manejo destes lepidópteros nos cultivos orgânicos está a utilização de fitoprotetores botânicos, como é o caso da espécie *Tagetes minuta* L. (Asteraceae), planta conhecida como chinchilho e de ocorrência espontânea em áreas agrícolas do RS (Lorenzi & Matos, 2008).

A espécie *T. minuta* parece ser nativa da América Central e, atualmente, ocorre espontaneamente na Bolívia, Paraguai, Argentina, México e no Brasil, onde é encontrada nos estados do Piauí, Pernambuco, Bahia, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e no Distrito Federal (Hattori, 2009; Roca et al., 2009). O óleo essencial de *T. minuta* tem larga utilização como condimento e em perfumaria, além de ser conhecido por suas propriedades biocidas. (Chamorro et al., 2008).

Estudos realizados com espécies do gênero *Tagetes,* demonstram seus efeitos benéficos no manejo da produção orgânica através da utilização de extratos, óleos essenciais ou consorciação com cultivos agrícolas no manejo de nematóides, insetos e doenças, além de ser reconhecida e utilizada por agricultores como alternativa a sanidade dos cultivos na transição agroecológica na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil (Lovatto et al., 2013), podendo apresentar ampla ação sobre diversos organismos, incluindo insetos, bactérias e outras plantas (Gakuubi et al., 2016).

Considerando a disponibilidade da planta na região de estudo e a viabilidade da utilização de *T. minuta* para o manejo de insetos em cultivos orgânicos de hortaliças, a pesquisa objetivou avaliar o potencial de extratos aquosos e óleos essenciais de folhas e flores de *T. minuta* no consumo foliar e sobrevivência larval de *A. monuste orseis* em couve, sob condições de laboratório.

**2. MATERIAL E MÉTODOS**

A coleta de *T. minuta*, criação dos insetos e os bioensaios foram realizados na Estação Experimental Cascata (EEC), Embrapa Clima Temperado (31°37’ Sul e 52°31’ Oeste), Pelotas, RS, Brasil.

As plantas foram coletadas em plena floração, em dias de sol, nas primeiras horas da manhã nos meses de abril e maio de 2013. Para extração de óleo essencial, foram separadas folhas e flores, colocadas em balões volumétricos acoplados em aparelho de Clevenger modificado para hidrodestilação e obtenção dos óleos essenciais, que posteriormente foram centrifugados e armazenados em vidro âmbar a - 4°C, seguindo a metodologia de Castro et al. (2006).

Para a obtenção do extrato aquoso, folhas e flores da planta foram desidratadas em estufa a 40°C por 24h, armazenadas em embalagens de papel e mantidas em ambiente seco até a sua utilização. De acordo com Lovatto (2012), optou-se por utilizar o material de *T. minuta* desidratado devido á ausência de plantas de chinchilho em plena floração no período de primavera-verão, momento de maior ocorrência de *A. monuste orseis*.

Para criação dos insetos, foram coletados ovos e lagartas de *A. monuste orseis* em cultivos de couve localizadas em propriedades orgânicas certificadas do município de Pelotas, RS, Brasil. As lagartas foram alimentadas diariamente com couve até atingir a fase pupal. Posteriormente os adultos emergidos destas pupas, foram alimentados com solução de mel (10% p/v), e mantidos em gaiola telada, em casa de vegetação, contendo vasos com couve para oviposição, conforme sugerido por Biermann (2009), sendo as posturas coletadas diariamente para eclosão das lagartas e realização dos bioensaios, no período de janeiro a abril de 2014.

Para a manutenção dos insetos e realização dos bioensaios, plantas de couve, oriundas de sementes agroecológicas da BioNatur Ltda., foram cultivadas sob manejo orgânico em canteiros da EEC/Embrapa Clima Temperado.

Os extratos aquosos de folhas e flores foram obtidos através da infusão do material vegetal desidratado na proporção de 10g para 100mL de água destilada fervente por 15min, obtendo-se após a filtragem em algodão, o extrato bruto 10% p/v. Posteriormente, foram obtidas as diluições 10 e 30% v/v e 10 e 30% v/v + adjuvante (farinha de trigo 1% p/v). Os óleos essenciais de folhas e flores foram diluídos em água destilada a 0,25; 0,5 e 1% v/v, com adição de Tween® 80.

Os bioensaios foram confrontados com a testemunha negativa água destilada e testemunha positiva óleo de nim (1% v/v), proveniente da espécie *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) planta mundialmente conhecida e utilizada para obtenção de produtos fitoprotetores aplicados no cultivo de orgânicos (MAPA, 2013).

Como fonte hospedeira foram utilizados discos de couve orgânica com 5cm de diâmetro pulverizados em ambas as faces com 1,5mL de suspensão de cada tratamento, através de borrifador manual.

Para o bioensaio sem chance de escolha, lagartas de três dias de vida foram colocadas sobre discos de couve tratados e dispostos individualmente no centro de placas de Petri de 9cm de diâmetro, forradas com papel filtro umedecido, totalizando 10 repetições por tratamento, com delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos testados constituíram-se em: extratos de folha e flor 10 e 30% (v/v); 10 e 30% + adjuvante (farinha de trigo 1% p/v), óleo de folha 0,25, 0,5 e 1% (v/v) e óleo de flor 0,25, 0,5 e 1% (v/v) além das testemunhas negativa água destilada e positiva óleo de nim 1% (v/v), totalizando 16 tratamentos.

Nos bioensaios com chance de escolha foram avaliadas quatro baterias formadas por pares de formulações de óleo ou extrato aquoso de folha e flor de *T. minuta,* confrontadas com a testemunha negativa água destilada e testemunha positiva óleo de nim 1% v/v, conforme ilustrado na Tabela 1. Neste caso, placas de Petri de 14cm de diâmetro constituíram as unidades experimentais, onde discos foliares tratados foram distribuídos de forma equidistante sobre papel filtro umedecido, para posterior liberação de seis lagartas com seis dias de vida, totalizando 20 repetições em cada bateria. Para identificação e fixação dos discos foliares, foram utilizados alfinetes de cores distintas presos a uma base de isopor disposta no fundo de cada placa.

Tabela 1. Bateria de tratamentos utilizados no bioensaio com chance de escolha.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Bateria 1 | Bateria 2 | Bateria 3 | Bateria 4 |
| H2O | H2O | H2O | H2O |
| Nim 1% | Nim 1% | Nim 1% | Nim 1% |
| Ext. folha 10% | Ext. folha 30% | O. folha 0,5% | O. folha 1% |
| Ext. flor 10% | Ext. flor 30% | O. flor 0,5% | O. flor 1% |

Nos bioensaios sem e com chance de escolha, as placas de Petri foram fechadas com fitas de silicone e armazenadas em estufa BOD com fotoperíodo de 12h e temperatura de 25 ± 2°C, até a avaliação do consumo foliar, e sobrevivência larval, após 24h.

A área foliar resultante dos bioensaios foi medida com auxílio de aparelho Li-Cor modelo Li 3100C, sendo a área consumida obtida pela diferença entre a área do disco de folha íntegra e a área foliar após o consumo. As análises estatísticas foram feitas empregando as provas estatísticas não paramétricas de Kruskall-Wallis seguidas do teste de comparações múltiplas de Dunn, com nível de significância α = 0.05, disponíveis no programa computacional PAST Version 2.15 (Hammer et al., 2001).

**3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos bioensaios sem chance de escolha, os extratos aquosos de flor (10% v/v) sem e com adjuvante (1% p/v), o óleo de folha (0,5% v/v) e a testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) apresentaram diferenças significativas quando comparados com a testemunha negativa água destilada (p<0.05), reduzindo o consumo foliar pelas lagartas em 12,6, 13,8, 10,8 e 11,54%, respectivamente (Figura 1).



Figura 1. Médias (± desvio-padrão) de consumo foliar do bioensaio sem chance de escolha. Estação Experimental Cascata – EEC, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, mar/2014. ■ Diferença significativa (Kruskal Wallis/Dunn, p<0,05) a respeito da testemunha negativa água destilada. ● Diferença significativa (Kruskal Wallis/Dunn, p<0,05) a respeito da testemunha positiva óleo de nim 1% v/v.

Em relação à sobrevivência após 24h, avaliada em conjunto com o consumo foliar, os tratamentos a base de óleo de flor e folha (1% v/v) apresentaram diferenças significativas com a testemunha negativa água destilada e testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) (p<0,05), reduzindo a sobrevivência larval em 26 e 48%, respectivamente. A testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) diferiu da testemunha negativa (p<0,05) reduzindo a sobrevivência em 91,3%.

Nos bioensaios com chance de escolha, os extratos aquosos de flor (10% v/v) e folha (10% v/v) da bateria 1 apresentaram diferenças significativas quando comparados com a testemunha negativa água destilada (p<0,05), reduzindo o consumo pelas lagartas em 43,1 e 37,4%, respectivamente. Da mesma forma, o extrato aquoso de flor (10% v/v) comparado à testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) (p<0,05), reduziu o consumo pelas lagartas em 32,8% (Figura 2).



Figura 2. Médias (± desvio-padrão) de consumo foliar com chance de escolha da bateria 1. Estação Experimental Cascata – EEC, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, mar/2014. ■ Diferença significativa (Kruskal Wallis/Dunn, p<0,05) a respeito da testemunha negativa água destilada. ● Diferença significativa (Kruskal Wallis/Dunn, p<0,05) a respeito da testemunha positiva óleo de nim 1% v/v.

Na bateria 2, o extrato aquoso de folha (30% v/v) apresentou diferenças significativas quando comparado com a testemunha negativa água destilada e testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) (p<0,05), reduzindo o consumo foliar em 58,3 e 50,3%, respectivamente (Figura 3).



Figura 3. Médias (± desvio-padrão) de consumo foliar com chance de escolha da bateria 2. Estação Experimental Cascata – EEC, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, mar/2014. ■ Diferença significativa (Kruskal Wallis/Dunn, p<0,05) a respeito da testemunha negativa água destilada. ● Diferença significativa (Kruskal Wallis/Dunn, p<0,05) a respeito da testemunha positiva óleo de nim 1% v/v.

No bioensaio referente a bateria 3, não houveram diferenças significativas entre os tratamentos (p>0.05). Já na bateria 4, o tratamento com óleo de folha (1% v/v) diferiu da testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) e óleo de flor (1% v/v) (p<0,05) ocasionando um aumento do consumo foliar pelas lagartas de 35,2% em relação ao nim e 24% em relação ao óleo de flor (1% v/v).

Corroborando com os resultados obtidos através da utilização dos extratos e óleos de *T. minuta* sobre a alimentação e sobrevivência de *A. monuste orseis*, Lovatto et al. (2013) verificaram ação repelente dos extratos de folhas e flores de *T. minuta* sobre *Brevicoryne brassicae* (L., 1758) (Hemiptera: Aphididae). Neste trabalho os autores verificaram a ação do extrato de flor 30% (v/v) sobre a mortalidade de 75% dos afídeos *B. brassicae.* Já Motazedian et al. (2014), testando o óleo de *T. minuta* sobre *B. brassicae* verificaram mortalidade de 98 e 84% nas concentrações de 125,8 e 62,5 μl L -1, respectivamente.

 Com relação a alimentação, Mong’are et al. (2012) ao testarem o extrato de *T. minuta* junto a dieta de *Phlebotomus duboscqi* (Diptera: Psychodidae), verificaram a interferência do extrato sobre a digestão do alimento, ocasionando baixa no aporte nutricional e na fecundidade das fêmeas do inseto. Da mesma forma, Salinas-Sanchez et al. (2012) avaliando o efeito de extratos de *T. erecta* L. sobre *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) apontaram que os extratos de folhas causaram efeito anti-alimentar nas lagartas, reduzindo o seu peso em 50%, além de causar efeito adicional como alongamento da duração do estádio larval e aumento da mortalidade pupal. Trindade et al. (2013) também verificaram que o extrato de raízes na concentração de 5000 mg.mL-1 causou mortalidade em 85% das lagartas de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), dados ampliados por Reddy et al. (2015) que evidenciaram o efeito fagodeterrente do óleo essencial sobre o mesmo inseto.

Lima (2010) avaliando a mortalidade de larvas de três diferentes populações de mosquitos de *A. aegypti* (Diptera: Cucilidae) observou que óleo essencial na diluição 0,3ml L-1 foi capaz de causar mortalidade acima de 93% nas três distintas populações do inseto, após 24h, enquanto que Kiarimpa et al. (2014) verificou 100% de mortalidade de larvas de 3° e 4° de *Anopheles gambiae*, agente transmissão da malária, quando tratadas com óleo essencial de *T. minuta*, após 24h de exposição.

De acordo com Lacroix et al. (2011) o óleo essencial também apresenta ação antiplasmódica e citotóxica, com inibição superior a 60% sobre *Plasmodium falciparum* FcB1 na concentração de 10 μg mL-1.

Garcia et al. (2012) também observaram a eficácia do óleo essencial a 20% sobre quatro espécies de carrapatos, entre eles *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus sanguineus, Amblyomma cajennense* e *Argas miniatus* (Acarina: Ixodidae), causando mortalidade de 95%, sendo que Coelho et al. (2013), obtiveram controle de 99,11% sobre fêmeas de *R.* (B) *microplus* utilizando óleo essencial a 10%.

No tocante a amplitude de dados favoráveis à bioatividade da planta sobre diferentes insetos e organismos demonstrada pelos diversos autores, os resultados do trabalho ora apresentado indicam uma tendência a maior efetividade dos óleos essenciais de flor e folha (1% v/v) sobre a redução da sobrevivência larval e maior desempenho dos extratos aquosos na diminuição do consumo foliar de *A. monuste orseis* nas condições testadas, confirmando a divergência da sua atividade sobre insetos, que podem ocorrer através de mecanismos diversos (Meshktalsadat et al., 2010), uma vez que a espécie *T. minuta* é rica em monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides e tiofenóis, distribuídos de forma heterogênea na planta (Zygadlo et al., 1999; Garcia et al., 1995) o que pode explicar a diferença de resultados para óleos e extratos obtidos de partes iguais da planta.

Segundo Andreotti et al. (2013), entre os compostos identificados em maior teor no óleo essencial está o limoneno (6,96%), ocimeno (5,11%), di-hidrotagetona (54,10%) e tagetona (6,73%). Já em trabalho realizado por Medeiros (2015) o óleo essencial de plantas coletadas em local e condições semelhantes as experimentadas neste trabalho apresentou a dihidrotagetona (12,5%), cis-tagetona (49%) e cis-β-ocimeno (26%) como componentes majoritários.

A distinção da composição química observada nos diferentes trabalhos podem estar relacionadas com a organização fitoquímica de diferentes partes da planta, conforme destaca Chamorro et al. (2008), que ao estudar a composição de *T. minuta* coletada em diferentes regiões da Argentina, verificaram que o principal constituinte do óleo essencial das folhas é a dehidrotagetona, enquanto que nas flores prevalecem β-ocimeno e tagetona.

A colheita, localização geográfica, fase fenológica, partes utilizadas e condições climáticas onde plantas de *T. minuta* crescem também exercem influencias sobre a composição química de seus produtos (Gakuubi et al., 2016), assim como a biologia do inseto e o tipo de extração dos componentes da planta, seja extrato ou óleo essencial utilizados também resultam em diferentes efeitos como demonstrado por Shahzadi et al. (2010) que ao utilizaram duas frações distintas de extrato de sementes de *T. minuta* sobre larvas de três espécies de insetos de grãos armazenados, obtiveram 80% e 0% de mortalidade sobre *Callosobruchus analis* (Coleoptera: Chrysomelidae ) utilizando a fração solúvel em n-hexano e a fração solúvel em éter, respectivamente, enquanto que para *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), a mortalidade apresentada foi de 70% para ambas as frações.

Quanto aos efeitos da testemunha positiva óleo de nim (1% v/v) foi observado em bioensaios realizado por Biermann (2009) que as concentrações de óleo de nim 1, 5 e 10% (v/v) causaram mortalidade de 100% com em lagartas de *A. monuste orseis* somente após o sétimo dia de exposição aos tratamentos.

Estes dados evidenciam que a azadiractina, um dos componentes presentes nas Meliáceas, causa entre outros danos, inibição de crescimento e alteração na metamorfose de larvas da ordem Lepidoptera, impedindo a ecdise (Menezes, 2005), e levando a morte por inanição ao longo de alguns dias. Como foi observado no bioensaio sobre a sobrevivência larval realizado neste trabalho, o óleo de nim 1% v/v, utilizado como testemunha positiva, reduziu a sobrevivência em 91,3%, porém conforme Menezes (2005) e considerando que o bioensaio foi avaliado após 24h, não teria havido tempo para uma inibição da síntese de quitina e consequentemente a morte dos insetos.

**4. CONCLUSÃO**

Nos bioensaios com chance de escolha a redução do consumo foliar de *A. monuste orseis* foi mais evidente, ocasionado uma redução quando utilizado o extrato aquoso da folha de *T. minuta* (30% v/v). Já os óleos de flor e folha (1% v/v) foram os mais eficientes na redução da sobrevivência larval de *A. monuste orseis*.

**5. LITERATURA CITADA**

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. C.; BARROS, J.C. 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, p.341–345, 2013.

BIERMANN, A. C. S. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Santa Maria, RS: UFSM, 2009. 73f.

CASTRO, D.P.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; SANTOS, N.M.; BALIZA, D.P. Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, n.4, p.27-32, 2006.

CHAMORRO, E.R.; SEQUEIRA, A.F.; VELASCO, G.A.; ZALAZAR, M.F. Chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers. **Journal of the Argentine Chemical Society**,v.96, p80-86, 2008.

COÊLHO, M.D.G.; da SILVA, V.A.R.; AKISUE, G.; PEREIRA, J.R.; da SILVA, V.A.R.; FURTADO, F.N. Avaliação “in vitro" do potencial acaricida do óleo essencial de *Tagetes minuta* frente a *Riphicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887). **Revista Biociências**, v.19, n.1, p.104 -110, 2013.

FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa, UFV, 2008, 421p.

GAKUUBI, M.M.; WANZALA, W.; WAGACHA, J.M.; DOSSAJI, S.F. Bioactive properties of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oils: A review. **Ameriacan Journalof Essencial Oilsand Natural Products**, v.4. n.2, p.27-36, 2016.

GARCIA, D.A.; PERILLO, M.A.; ZYGADLO, J.A.; MARTINEJA, I.D. The essential oil from *Tagetes minuta* L. modulates the binding of [3H] flunitrazepan to crude membranes from chick brain. **Lipids**, v.30, p.1105-1109, 1995.

GARCIA, M.V.; MATIAS, J.; BARROS, J.C.; LIMA, D.P.D.; LOPES, R.S.; ANDREOTTI, R. Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effecton ticks. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.4, p.405-411, 2012.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Paleontologia Electronica**, 4(1): 9p. 2001.

HATTORI, E. K. O. **Asteraceae da estação ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais). Uberlândia, MG: UFU, 2009. 169p.

KYARIMPA, C.M.; BOHMDORFER, S.; WASSWA, J.; KIREMIRE, B.T.; NDIEGE, I.O.; KABASA, J.D. Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles gambiae*. **Industrial Crops and Products**, v.62, p.400-4004, 2014.

LACROIX, D.; PRADO, S.; KAMOGA, D.; KASENENE, J; NAMUKOBE, J.; KRIEF, S.; DUMONTET, V.; MOURAY, E.; BODO, B.; BRUNOIS, F. Antiplasmodial and cytotoxic activi- tiesof medicinal plants traditionally used in the village of Kiohima, Uganda. **Journal of Ethnopharmacol**, v.133, p.850-855, 2011.

LIMA, P.W. **Toxicidade do óleo essencial de *Tagetes minuta* L (Asteraceae) em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e protocolo de alimentação em camundongos SwissCalb/C**. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). São José do Rio Preto, SP: FAMERP, 2010. 64f.

LORENZI, H.; MATOS, F.J. As Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas. 2ª ed. **Instituto Plantarum**. Nova Odessa, Brasil. 2008. 544p.

LOVATTO, P.B. **As plantas bioativas como estratégia à transição agroecológica na agricultura familiar: análise sobre a utilização empírica e experimental de extratos botânicos no manejo de afídeos em hortaliças**. Tese (Doutorado em Agronomia). Pelotas, RS: UFPel, 2012. 392f.

LOVATTO, P.B.; SCHIEDECK, G.; MAUCH, C.R. Extratos aquosos de *Tagetes minuta* (Asteraceae) como alternativa ao manejo agro-ecológico de afídeos em hortaliças. **Revista Interciência**, v.38, n.9, p. 676-680, 2013.

**MAPA**, Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC Nº 2, de julho de 2013. <http://www.agricultura.gov.br/arq\_editor/file/vegetal/agrotoxicos/Produtos%20Fitossaniarios%20%20Organicos/INC%20SDASDC%20N\_%202%20de%2012%20de%20julho%20de%202013.pdf. (Acessado em 27 Agosto de 2015).

MARTINEZ, E.A.; PEIL, R.M.N. Caracterização da comercialização e da diversidade da produção dos agricultores familiares associados à Cooperativa Sul Ecológica. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.16, p.149-152, 2010.

MEDEIROS, C.H. **Alterações bioquímicas e fisiológicas em couve submetidas à aplicação de óleos essenciais e húmus de minhoca**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Pelotas, RS: UFPel, 2015. 59f.

MENEZES, E.L.A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: **Embrapa Agrobiologia**, 2005. 58p.

MESHKATALSADAT, M. H.; SAFAEI-GHOMI, J.; MOHARRAMIPOUR, S.; NASSERI, M. Chemical characterization of volatile componentes of *Tagetes minuta* L. cultivated in South west of Iran by nano scale injection. **Digest Journal Nano Matherials Biostruction**,v.5, p.101-106, 2010.

MONG’ARE, S.; NG’ANG’A, Z.; MARANGA, R.; OSIEMO, Z.; NGURE, P.; NGUMBI, P.; TONUI, W. Effect of leaf crude extracts of *Tarchonanthus camphoratus* (Asteraceae), *Acalypha fruticosa* (Fabacea) and *Tagetes minuta* (Asteraceae) on fecundity of *Phlebotomus duboscqi*. **American International Journal of Contemporary Research**, v.2, n.8, p.194-200, 2012.

MOTAZEDIAN, N.; ALEOSFOOR, M.; DAVOODI, A.; BANDANI, A.R. Insecticidal activity of five medicinal plant essential oil sagainst the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*. **Journal of Crop Protection**, v.3, n.2, p.137-146, 2014.

REDDY, S.E.; KIRTI, D.S.; KOUNDAL, R.; SINGH, B. Chemical composition and insecticidal activities of essential oil sagainst Diamond back moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Natural Product Research**, v.30, p.1-5, 2015.

ROCA, L. B.; GUZMÁN, B. H.; GÓMEZ, A. M. B.; SOSA, E.H.; PEREZ, M.G.; NAVARRO, B.A. Caracterización física y tamizaje fitoquímico de la especie *Tagetes erecta* Lin. **Revista Cubana de Química**, v. 21, n.2, p.10-15, 2009.

SALINAS-SÁNCHEZ, D. O.; ALDANA-LLANOS, L.; VALDÉS-ESTRADA, M. E.; GUTIÉRREZ-OCHOA, M.; VALLADARES-CISNEROS, G.; RODRÍGUEZ-FLORES, E. Insecticidal activity of *Tagetes erecta* extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, v.95, n.2, p. 428-432, 2012.

SHAHZADI, I.; HASSAN, A.; KHAN, U.W.; SHAH, M.M. Evaluating biological activities of the seed extracts from *Tagetes minuta* L. found in Northern Pakistan. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.4, n.20, p.2108-2112. 2010.

TRINDADE, R.C.P.; DE LIMA, I.S.; SANT'ANA, A.E.G.; DA SILVA, P.P. Atividade de extratos de plantas na mortalidade de lagartas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Revista Ciência Agrícola**, v.11, p.21-28. 2013.

ZYGADLO, J.A.; GROSSO, N.R.; ALBURRA, R.E.; GUZMAN, C.A. Essential oil variation in *Tagetes minuta* populations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.18, p.405-407, 1999.