

Extratos de *Ocimum campechianum* para controle de lagartas *Ascia monuste orseis*: respostas sobre preferência e desenvolvimento

Extracts of *Ocimum campechianum* for the control of *Ascia monuste orseis* caterpillars: responses on preference and development

Ana Cláudia Vieira dos Santos^{ID}¹; Carromberth Carioca Fernandes^{ID}²; Jamila Farias Mendonça^{ID}³; Lucas Martins Lopes^{ID}⁴; Adalberto Hipólito de Sousa^{ID}^{5*}

¹Doutora em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, anaclaudia.vietos@outlook.com; ²Doutor em Biotecnologia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, carromberth.fernandes@ufac.br; ³Mestra em Ciência Florestal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, jamila.farias@gmail.com; ⁴Doutor em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, lucas.lopes@ufac.br; ⁵Doutor em Entomologia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, adalberto.sousa@ufac.br. *Autor Correspondente

ARTIGO

Recebido: 05-11-2023
Aprovado: 23-12-2023

Palavras-chave:

Curuquerê-da-couve
Bioatividade
Preferência alimentar
Bioinseticida
Alfavaca-de-galinha

RESUMO

Ascia monuste orseis Godart, destaca-se como inseto praga em cultivos de brássicas. Entre as estratégias de controle, o uso de pesticidas é a mais utilizada, porém com uso contínuo e indiscriminado ocasionam problemas para o meio ambiente e para a saúde humana. Os inseticidas botânicos são alternativa promissora. Assim, este trabalho investigou o estímulo-resposta do extrato bruto hidroalcoólico de *Ocimum campechianum* Mill. (Lamiaceae) e de sua fração diclorometano (DCM) sobre a toxicidade, preferência alimentar e o desenvolvimento de lagartas de *A. monuste orseis*. Avaliou-se a toxicidade, a preferência alimentar (teste com e sem chance de escolha) e o desenvolvimento das lagartas até a fase pupal. Nos testes de desenvolvimento e preferência alimentar, utilizou-se as concentrações subletais definidas a partir do teste de toxicidade, 10,00 e 2,50 mg mL⁻¹, para o “extrato bruto” e sua “fração DCM”, respectivamente. Utilizou-se oito repetições com cinco lagartas. Observou-se que o extrato bruto e a fração DCM de *O. campechianum* foram tóxicos e reduziram a alimentação das lagartas de três dias (dias após a eclosão), apresentando CL₅₀ de 52,95 e 20,90 mg mL⁻¹, respectivamente. Entretanto, não afetaram o desenvolvimento do inseto. Portanto, o extrato bruto e sua fração DCM de *O. campechianum* apresentam potencial para uso no controle alternativo de lagartas de *A. monuste orseis*.

ABSTRACT

Ascia monuste orseis Godart, stands out as a pest insect in brassica crops. Among control strategies, the use of pesticides is the most common, however, continuous and indiscriminate use poses problems for the environment and human health. Botanical insecticides are a promising alternative. This study investigated the stimulus-response of the hydroalcoholic crude extract of *Ocimum campechianum* Mill. (Lamiaceae) and its dichloromethane (DCM) fraction on the toxicity, feeding preference, and development of *A. monuste orseis* caterpillars. Toxicity, feeding preference (choice and no-choice tests), and development of the caterpillars to the pupa stage were evaluated. In the development and feeding preference tests, sublethal concentrations were used based on the toxicity test: 10.00 and 2.50 mg mL⁻¹ for the "crude extract" and its "DCM fraction," respectively. Eight replicates with five caterpillars each were used. It was observed that the crude extract and the DCM fraction of *O. campechianum* were toxic and reduced the feeding of three-day-old caterpillars (days after hatching), with LC₅₀ values of 52.95 and 20.90 mg mL⁻¹, respectively. However, they did not affect the insects development. Therefore, the crude extract and its DCM fraction from *O. campechianum* show potential for alternative control of *A. monuste orseis* caterpillars.

Key words:

Cabbage looper
Bioactivity
Feeding preference
Bioinsecticide
Chicken basil

INTRODUÇÃO

Ascia monuste orseis Godart (Lepidoptera: Pieridae), é um importante inseto-praga desfolhador de Brassicaceae. Seu ataque resulta em prejuízos econômicos, devido à grande

voracidade das lagartas (CARDOSO et al., 2010). Dependendo do nível de infestação, as lagartas são capazes de destruir o plantio, resultando prejuízo ao produtor (MAPELI et al., 2015; PEREIRA et al., 2003). Visando evitar perdas decorrentes do

ataque dessa praga, a medida de controle mais utilizada é a aplicação de inseticidas sintéticos (KUHAR et al., 2003). Esses produtos geram grandes prejuízos ambientais, para a saúde humana e financeiros (CORDERO et al., 2006; ZHAO et al., 2016).

Os inseticidas botânicos são alternativas promissoras para essa finalidade, pois os metabólitos secundários, produzidos por diferentes grupos de plantas, atuam sobre os insetos de diferentes formas, toxicidade, repelência, inibição da alimentação, crescimento, desenvolvimento e reprodução (SILVA et al., 2012). Entre as vantagens dos inseticidas botânicos têm-se, rápida degradação no ambiente, toxicidade baixa a moderada para mamíferos, maior seletividade e baixa fitotoxicidade (CORRÊA; SALGADO, 2011), maior dificuldade dos insetos em desenvolver resistência, pois esses inseticidas são formados por complexos conjuntos de substâncias (BORGES et al., 2012).

Ocimum campechianum Mill. (Lamiaceae) é uma planta comum na região norte do Brasil. Suas folhas são utilizadas como condimento (BENITEZ et al., 2009) e em diversas atividades biológicas, como inseticida (CABALLERO-GALLARDO et al., 2014), fungicida (JARAMILLO et al., 2014) e bactericida (CAROVIC-STANKO et al., 2011) sendo atribuídas ao uso na forma de extratos e óleo essencial.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a bioatividade do extrato bruto hidroalcoólico de *O. campechianum* e de sua fração diclorometano (DCM) sobre a toxicidade, preferência alimentar e o desenvolvimento de lagartas de *A. monuste orseis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo dos Extratos de *Ocimum campechianum* Mill.

Para o extrato bruto de folhas de *O. campechianum*, foram coletadas no município de Boca do Acre, Amazonas, seguindo as coordenadas geográficas de 8°44'11"S; 67°23'24"W. As folhas foram separadas das demais estruturas vegetais e postas para secar em temperatura ambiente, até obtenção de peso constante. Em seguida foram trituradas em moinho de facas obtendo-se o pó. Foi elaborada uma exsiccata, com a finalidade de compor a coleção botânica regional, a qual foi encaminhada ao Herbário UFACPZ da Universidade Federal do Acre (UFAC), recebendo o tombo nº 20643.

O material fragmentado (320,00 g) foi colocado em um frasco Erlenmeyer de 2000 mL, adicionando-se 1,50 L de solução etanol/água (7:3). Foi submetido ao processo de extração utilizando-se aparelho de ultrassom, repetindo-se o processo por quatro vezes, cada extração com duração de 120 minutos. O extrativo obtido foi filtrado e o solvente recuperado em rotaevaporador com potência de 60 rpm. O extrato foi posto sob ventilação até obtenção do peso constante (FERNANDES et al., 2009). O Extrato bruto foi submetido aos processos de fracionamento, primeiro, com o sistema cromatográfico (coluna filtrante), e outra alíquota foi submetida ao processo extrativo líquido-líquido (partição).

Para preparação do extrato diclorometano (DCM), em uma ampola de separação (500,00 mL) de vidro com uma mecha de algodão no fundo, colocou-se 300,00 g de sílica gel 60 (0,04-0,063 mm) 230~400 mesh, e empacotou-se utilizando hexano (200,00 mL), calculando-se o volume morto. Em seguida, com o auxílio de um bastão de vidro com uma borracha na ponta foi tocado as extremidades externas da ampola de separação, para eliminar as bolhas de ar, o solvente

(hexano) foi mantido aproximadamente 3,00 cm acima da fase estacionária (FERNANDES et al., 2009).

Utilizando-se a coluna filtrante, foi adicionada uma alíquota do extrato bruto (10,00 g) na parte superior da fase estacionária de forma homogênea. Como proteção fixou-se uma mecha de algodão sobre o extrato macerado em sílica, dando-se início ao fracionamento. Utilizou-se o solvente acetato de etila (ACOET) (900,00 mL) para a eluição, o qual foi recuperado em rotaevaporador, obtendo-se os extrativos. Em seguida, foi cromatografada com etanol/água (7:3), 900,00 mL.

Para proceder com a cromatografia em coluna cromatográfica de sílica gel, preparou-se uma coluna de vidro (80,00 cm), foi empacotada com sílica gel 60 e hexano. Colocou-se no topo da coluna, gel do sub-extrato "ACOET" em sílica gel. Realizou-se a eluição com solução de hexano:diclorometano (1:1). Obteve-se 12 frações na cromatografia que foram avaliadas preliminarmente quanto à atividade biológica sobre lagartas de *A. monuste orseis* com três dias. Observou-se que somente as frações 1, 2 e 3 apresentaram atividade larvicida. Estas foram então fracionadas numa nova coluna.

As frações coletadas de 1 a 3, foram agrupadas e submetidas a novo processo cromatográfico em coluna de sílica gel, eluídas com hexano:diclorometano (2:1). No fracionamento obteve-se 10 frações, que foram avaliadas, de forma preliminar, sobre lagartas curuquerê-da-couve de três dias.

A obtenção do extrato diclorometano foi realizada por sistema de partição (solvente/solvente), na qual se utilizou uma alíquota (15,00 g) do extrato bruto que foi solubilizado em 500,00 mL de solução etanol:água (7:3). A extração líquido-líquido foi particionada por três vezes consecutivas com diclorometano (100,00 mL), totalizando-se 300,00 mL, foi transferida para um funil de separação, agitando-se suavemente, após repouso, separou-se os imiscíveis: fase orgânica (FO) da fase aquosa (FA). A recuperação dos solventes foi realizada em rotaevaporador e em seguida o extrato da fase orgânica (FO) foi colocado sob ventilação até peso constante (ANDRADE et al., 2005).

Bioensaios com *A. monuste orseis*

Todos os bioensaios foram conduzidos sob condições constantes de temperaturas (25±2 °C), umidade relativa (70±5%) e fotoperíodo (12 horas), no laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP) da Universidade Federal do Acre (UFAC), Campus Rio Branco, utilizando como organismo-teste lagartas de *A. monuste orseis* com idade de três dias após a eclosão.

Para obtenção das lagartas, os ovos de *A. monuste orseis* foram coletados no plantio de couve instalado na horta da UFAC, sem uso de controle químico. As posturas coletadas foram transportadas ao laboratório, depositadas em recipientes plásticos contendo algodão umedecido com água destilada, para evitar a desidratação. Os recipientes foram mantidos nas condições em que foram realizados os bioensaios. Após a eclosão, as lagartas foram alimentadas com folhas de couve in natura isentas de extrativos químicos, quando foram utilizadas nos bioensaios com três dias.

Toxicidade

Para determinar a toxicidade do extrato bruto e da fração diclorometano (DCM) de *O. campechianum*, foram realizados

bioensaios de concentração-mortalidade. Inicialmente, foram realizados testes preliminares para estimar as maiores concentrações, que não ocorresse morte das lagartas (extremo inferior), e as menores concentrações, em que ocorresse a maior mortalidade (extremo superior). Com base nos dados obtidos, foram estabelecidas para os bioensaios definitivos, concentrações (15, 25, 50, 75, 100 mg mL⁻¹) e (5, 15, 25, 50, 75 mg mL⁻¹) para o extrato bruto e sua fração DCM, respectivamente. Para preparar os extratos nas diferentes concentrações utilizando-se solução Tween 80 a 1% (v/v) em água.

As unidades experimentais foram constituídas por placas de Petri de 9,00 cm de diâmetro e 1,50 cm de altura, contendo um disco de couve (18,40 cm²) impregnado nas soluções do extrato bruto e da fração DCM. No tratamento controle, as lagartas foram acondicionadas em placas de Petri contendo um disco de couve impregnado apenas em solução Tween 80 a 1% (v/v) em água. Em cada placa foram acondicionadas cinco lagartas, as quais foram posteriormente fechadas e mantidas sob condições constantes de temperatura (25±2 °C), umidade relativa (70±5%) e fotoperíodo de 12 horas. A mortalidade das lagartas foi avaliada após 24 horas do início dos bioensaios.

Preferência alimentar

O efeito do extrato bruto e da fração DCM de *O. campechianum*, sobre a preferência alimentar das lagartas de *A. monuste orseis* de três dias foi avaliado em teste com e sem chance de escolha. Na avaliação com chance, utilizou-se metodologia adaptada de Baldin e Lara (2002). Cada unidade experimental constituiu-se de uma placa de Petri de 12,00 cm de diâmetro, na qual foram depositados dois discos de couve. Um disco foi impregnado em solução do extrato bruto e da fração DCM. O outro foi impregnado em solução Tween 80 a 1% (v/v) em água (testemunha). Foram utilizadas as concentrações subletais de 10,00 e 2,50 mg mL⁻¹, definidas a partir do teste toxicidade, para o extrato bruto e a fração DCM, respectivamente.

No teste sem chance de escolha utilizou-se metodologia adaptada de Boiça Junior et al. (2012). Cada unidade experimental constituiu-se de uma placa de Petri de 9,00 cm de diâmetro contendo apenas um disco de couve, impregnado nas soluções do extrato bruto ou da fração DCM, ou na solução Tween 80 a 1% (v/v) em água (testemunha). Em cada placa foram acondicionadas cinco lagartas, posteriormente, as placas foram fechadas e mantidas sob condições constantes de temperatura (25±2 °C), umidade relativa (70±5%) e fotoperíodo de 12 horas. O consumo dos discos de couve pelas lagartas foi avaliado com 24 horas do início dos bioensaios, utilizando um medidor de área foliar portátil modelo AM350 (ADC Bio Scientific Ltd., Hoddesdon, UK).

O índice de preferência alimentar foi calculado conforme Kogan e Goeden (1970), com base na seguinte equação: $IP = 2A/(M+A)$, em que IP = índice de preferência; A = área consumida nos discos tratados e M = área consumida nos discos não tratados. Sendo classificado como: fagostimulante se $IP > 1$, neutro se $IP = 1$, e fagodeterrente se $IP < 1$.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (extrato bruto, fração DCM e testemunha) e dez repetições de cinco lagartas, para os dois testes.

Desenvolvimento de lagarta-pupa

Os tratamentos foram representados pelo extrato bruto e pela fração DCM, nas concentrações subletais de 10,00 e 2,50 mg mL⁻¹, respectivamente e pela solução Tween 80 a 1% (v/v) em água (testemunha). O bioensaio consistiu da alimentação diária de lagartas de *A. monuste orseis* com discos de couve (18,40 cm²), impregnados com as diferentes concentrações do tratamento bruto e de sua fração DCM.

Os discos de couve foram imersos nas soluções dos tratamentos por cinco segundos, expostos ao ar para retirar o excesso de umidade e em seguida oferecido às lagartas, que foram mantidas em potes plásticos de 200,00 mL, individualmente, até a fase adulta. A dieta foi trocada diariamente e a quantidade de discos oferecidos aumentou de acordo com a capacidade de ingestão das mesmas, de forma que não faltasse alimento. As lagartas foram pesadas em balança analítica Shimadzu modelo AY220, com precisão de quatro casas decimais, em dias alternados, quando também foram contabilizadas as lagartas vivas e as mortas.

O delineamento experimental foi em DIC com três tratamentos e oito repetições de cinco lagartas. Os experimentos foram conduzidos em condições constantes de temperatura (25±2 °C), umidade relativa (70±5%) e fotoperíodo (12 h). Os parâmetros biológicos avaliados foram: peso e viabilidade de lagartas, duração do período da fase de lagartas, peso e viabilidade de pupas e duração do período pupal.

Análises estatísticas

No teste de toxicidade com lagartas de três dias, os dados de concentração-mortalidade foram submetidos à análise probit (SAS INSTITUTE, 2011). Os intervalos de confiança para as razões de toxicidade (RT_s) foram calculados segundo Robertson e Preisler (1992) e os valores das concentrações letais (CL_s) foram considerados significativamente diferentes quando os intervalos de confiança das RT_s de 95% não englobaram o valor 1.

No teste de preferência com lagartas de três dias, os dados de consumo das lagartas e no teste de desenvolvimento os dados referentes ao peso das lagartas, duração do período da fase de lagartas, peso de pupas e viabilidade de pupas, foram verificadas quanto à presença de dados discrepantes pelo teste de Grubbs e a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, posteriormente foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Toxicidade para lagartas de três dias

A fração DCM apresentou maior toxicidade quando comparado ao extrato bruto de *O. campechianum*, para as lagartas de *A. monuste orseis* de três dias. A concentração letal para 50% dos insetos (CL₅₀) para o DCM foi de 20,90 mg mL⁻¹, enquanto no extrato bruto verificou-se 52,95 mg mL⁻¹, com razão de toxicidade (RT₅₀) de 2,53. Isso significa que, para ocasionar a morte de 50% das lagartas é necessário utilizar uma quantidade 2,53 vezes maior do extrato bruto quando comparada à fração DCM (de baixa polaridade). A CL₉₀ foi de 53,14 e 133 mg mL⁻¹ para fração DCM e extrato bruto, respectivamente com RT₉₀ de 2,50 (Tabela 1).

Tabela 1. Toxicidade relativa do extrato bruto e da fração DCM de folhas de *O. campechianum* sobre lagartas de três dias de *A. monuste orseis*, em 24 horas de exposição, em laboratório (25±2 °C, UR = 70±5%, fotoperíodo 12 h).

Tratamento	N ¹	Inclinação ± E. P. M. ²	CL ₅₀ (IF 95%) mg mL ⁻¹	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₀ (IF 95%) mg mL ⁻¹	RT (IC 95%) CL ₉₀	χ ²	P
Extrato bruto	150	3,20 ± 0,47	52,95 (44,58 - 63,58)	2,53	133,00 (101,94-207,07)	2,50	13,10	0,44
Fração DCM	150	3,08 ± 0,41	20,90 (17,56-24,95)	-	53,14 (41,84 - 75,34)	-	12,83	0,46

¹ N= Número total de insetos; ² E.P.M.= Erro padrão da média; CL= Concentração letal; RT= Razão de toxicidade para CL₅₀ E CL₉₀; IF 95%= Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; IC 95%=Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; χ²= Qui-quadrado; P= probabilidade.

Esses resultados confirmam a maior concentração de metabólitos secundários com ação larvicida na fração DCM oriunda de uma alíquota do extrato bruto (extraída por partição), justificando assim que os metabólitos secundários presentes no extrato bruto são misturas desses, estando em maior concentração os de alta polaridade. Portanto as substâncias responsáveis pela bioatividade são as de baixa polaridade.

Lucena et al. (2017), encontraram CL₅₀ do extrato hexânico de folhas de *Piper aduncum* para *Spodoptera frugiperda* menor que dos extratos acetato de etila e etanólico. Esses resultados estão de acordo com os obtidos no presente trabalho, onde a maior concentração de metabólitos bioativos foi encontrada no extrato de menor polaridade. Porém, de acordo com Coelho et al. (2006), a polaridade dos metabólitos secundários varia entre plantas da mesma espécie, assim como entre as diferentes partes da mesma.

A síntese de metabólitos secundários é um procedimento complexo que sofre a influência de diversos fatores ambientais, como luz, temperatura, solo e água (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Além disso, a época e o método de colheita, a secagem, o armazenamento e o material genético também desempenham papéis essenciais, podendo impactar tanto a qualidade quanto a quantidade dos produtos secundários (RICARTE et al., 2020). Investigações anteriores sobre a espécie *O. campechianum*, sob as mesmas condições, encontraram composição química semelhante (SILVA et al., 2004; TREVISAN et al., 2006; VIEIRA et al., 2014).

Teste de preferência alimentar

Verificou-se diferenças significativas entre o índice de preferência alimentar (IP) de *A. monuste orseis*, nos testes com

chance de escolha (F= 5,62; P< 0,05) e sem chance de escolha (F= 18,28; P< 0,05). No teste com chance, as lagartas consumiram mais os discos tratados com fração DCM (0,39 ± 0,12) cm², do que os discos tratados com extrato bruto (0,03 ± 0,03) cm². No teste sem chance de escolha, as lagartas alimentaram-se mais dos discos tratados com extrato bruto (0,71 ± 0,11) cm² em comparação aos tratados com a fração DCM (0,29 ± 0,06) cm² (Figura 1). Contudo, em ambos os testes, o índice de preferência (IP) foi menor que o número um (1). Portanto os compostos presentes nas folhas de *O. campechianum*, fração DCM, apresentam maior ação deterrente alimentar para *A. monuste orseis* de três dias.

O gênero *Ocimum* é conhecido por propriedades pesticidas devido a diversos grupos de compostos contidos nos seus extratos e óleo essencial. Os constituintes bioativos atuam provocando mortalidade, alterações comportamentais e fisiológicas de insetos (CABALLERO-GUALLARDO et al., 2014; PANDEY et al., 2014). É admitido que os principais constituintes determinam as propriedades inseticidas dos extratos e óleos essenciais (RIELLA et al., 2012; DIAS; MORAES, 2014).

Mota et al. (2017), encontraram como principais compostos químicos no óleo essencial de *O. campechianum* os fenilpropanóides eugenol (41,05%) e elemicina (16,09%) e o sesquiterpeno β-cariofileno (14,10%). Sousa (2004), identificou nos extratos metanólicos e benzênicos de folhas frescas de *O. campechianum* a presença de eugenol, monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenóides, polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides) e açúcares redutores.

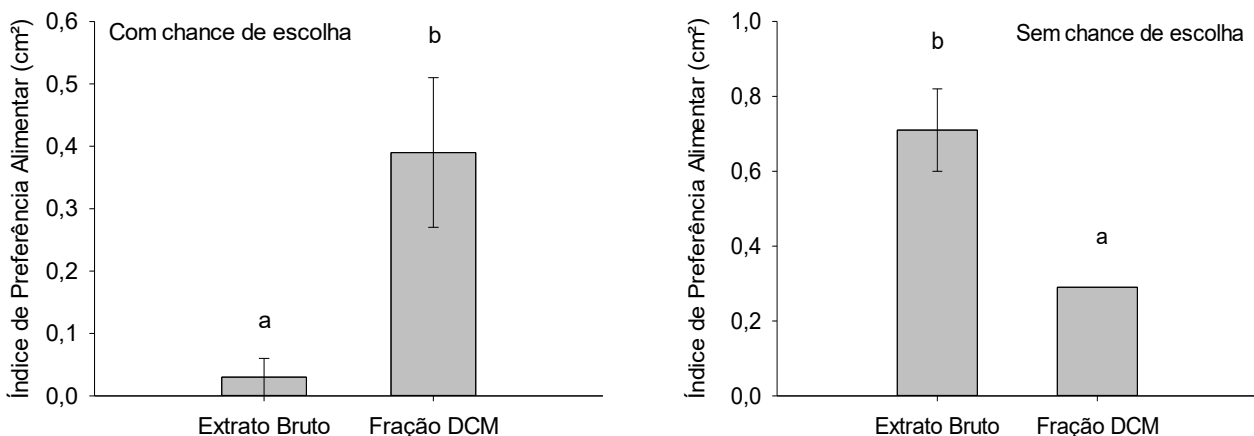


Figura 1. Índice de preferência alimentar de *A. monuste orseis* de três dias, em relação a discos de couve tratados com extrato bruto e com a fração DCM de *O. campechianum*, em teste com e sem chance de escolha, em laboratório (25±2 °C, UR = 70±5%, fotoperíodo 12 h).

Huang et al. (2002), observaram que os fenilpropanóides, em testes sem escolha utilizando farinha, reduziu significativamente o consumo alimentar de adultos de *Sitophilus zeamais*. Singh et al. (2014), em avaliações de escolha alimentar, observaram que lagartas de *Helicoverpa armigera* consumiram expressivamente menos tecido foliar de *Ocimum kilimandscharicum* do que de folhas de tomateiro. As classes de compostos identificadas nas folhas da planta foram monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides. A ação fagoderrente do extrato bruto e da fração DCM de *O. campechianum* sobre lagartas de *A. monuste orseis* observada neste trabalho é em decorrência a presença de fenilpropanóides.

Os monoterpenos são compostos tipicamente voláteis e bastante lipofílicos que podem penetrar nos insetos e interferir em suas funções fisiológicas (CABALLERO-GALLARDO et al., 2011). Os compostos pertencentes a este grupo são descritos na literatura como bioativos eficazes no controle de artrópodes (PALUCH et al., 2009; MANZOOR et al., 2011; CABALLERO-GUALLARDO et al., 2014).

Desenvolvimento das lagartas

Os resultados das variáveis ganhos de peso, viabilidade e período das lagartas de *A. monuste orseis* alimentadas com couve, tratada com o extrato bruto e com a fração DCM, são apresentados na Tabela 2. Verificaram-se diferenças significativas somente para o ganho de peso das lagartas ($F=8,89$; $P<0,05$), sendo o extrato bruto o que proporcionou maior ganho de peso. As lagartas alimentadas com couve tratada com a fração DCM não diferiram da testemunha ($P\geq 0,05$) quanto ao ganho de peso.

Tabela 2. Peso médio de lagartas, duração do período da fase de lagartas e viabilidade de lagartas de *A. monuste orseis* alimentadas com couve tratada com extrato bruto e fração DCM de *O. campechianum*, em laboratório (25 ± 2 °C, UR = $70\pm 5\%$, fotoperíodo 12 h).

Tratamento	Ganho de peso de lagartas (g)	Período de lagartas (dias)	Viabilidade de lagartas (%)
Extrato Bruto	0,330 \pm 0,01 a ¹	13,29 \pm 0,17 a	87,500 \pm 5,26 a
Fração DCM	0,292 \pm 0,01 b	13,25 \pm 0,16 a	74,286 \pm 5,34 a
Testemunha	0,288 \pm 0,01 b	13,07 \pm 0,08 a	87,500 \pm 3,66 a
CV (%)	7,20	3,32	15,87

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Apesar do extrato bruto ter proporcionado maior ganho de peso em relação a fração DCM e a testemunha, investigar os efeitos sobre o desenvolvimento das pupas de *A. monuste orseis* é fundamental para compreender a ação dos componentes químicos de *O. campechianum*. É reconhecido que a ação dos fenilpropanóides e sesquiterpenos podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas dos insetos (LUCENA et al., 2017). Diversos trabalhos relatam que a presença de inibidores de peptidase, expressos pelas plantas como mecanismo de defesa, resultam no atraso de desenvolvimento dos insetos (MACEDO et al., 2011; CRUZ et al., 2013; GHODKE et al., 2013).

Na Tabela 3, são apresentados os resultados de período, peso e viabilidade de pupas de *A. monuste orseis* alimentadas

com couve, tratada com o extrato bruto e a fração DCM de folhas de *O. campechianum*. Houve diferenças significativas para o período de pupa ($F=8,35$; $P<0,05$), onde o extrato bruto proporcionou o menor período de pupa. Em relação ao peso de pupas ($F=12,15$; $P<0,05$), houve diferenças significativas, sendo que o extrato bruto proporcionou o maior ganho de peso.

Tabela 3. Período, peso e viabilidade de pupas de *A. monuste orseis* alimentadas com couve tratada com extrato bruto e fração DCM de *O. campechianum*, em laboratório (25 ± 2 °C, UR = $70\pm 5\%$, fotoperíodo 12 h).

Tratamento	Período de pupa (dias)	Peso de Pupas (g)	Viabilidade de pupas (%)
Extrato Bruto	6,86 \pm 2,43 a ¹	0,312 \pm 0,11 a	92,50 \pm 4,79 a
Fração DCM	7,28 \pm 2,65 b	0,300 \pm 0,12 b	96,87 \pm 3,12 a
Testemunha	7,00 \pm 2,47 b	0,247 \pm 0,07 b	85,00 \pm 5,00 a
CV (%)	2,94	9,76	12,80

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Lagartas alimentadas com couve, tratada com extrato bruto, tiveram uma redução significativa no período de pupa, chegando há 6,86 dias, contra 7,00 dias da testemunha e 7,28 dias da fração DCM, além de originarem pupas com maiores massas corporais. Substratos alimentares que proporcionam menor duração do ciclo dos insetos são considerados os melhores para o desenvolvimento biológico dos indivíduos, pois os alimentos mais adequados, normalmente, propiciam menor duração das fases de desenvolvimento e maior sobrevivência (PRATISSOLI et al., 2008). Para estratégias de manejo do controle de *A. monuste orseis*, estes resultados não são os ideais.

O alongamento dos períodos de larva e pupa pode ser atribuído à presença de inibidores de crescimento ou substâncias tóxicas (fenilpropanóides e sesquiterpenos) (MAPELI et al., 2015). Em condições de campo, prolongar o estágio de desenvolvimento de lepidópteros pode aumentar o tempo de exposição da praga à inimigos naturais e reduzir o número de gerações (TORRES et al., 2001). Estudos evidenciaram que compostos orgânicos em plantas com atividade inseticida podem atuar como inibidores da síntese de quitina e afetar o crescimento, desenvolvimento, reprodução e diapausa em insetos (KIM; LEE 2014; FREITAS et al., 2014).

CONCLUSÕES

O extrato bruto hidroalcoólico e a fração DCM, de *Ocimum campechianum* apresentaram atividade inseticida e reduziram a alimentação lagartas de *Ascia monuste orseis*. Entretanto, uso de concentrações subletais do extrato bruto e de sua fração DCM, em lagartas de três dias, não interfere no desenvolvimento normal de *A. monuste orseis*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o financiamento e as bolsas oferecidas pelas seguintes instituições: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C. A.; PEITZ, C.; CÚNICO, M.; CARVALHO, J. L. S.; ABRAHÃO, W. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; KERBER, V. A. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don Leguminosae-Mimosoideae. Revista Brasileira de Farmacognosia, 15(1):13-15, 2005. [10.1590/S0102-695X2005000100004](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100004)
- BALDIN, E. L. L.; LARA, F. M. Atratividade e preferência alimentar de adultos de *Epicauta atomaria* (Germ., 1821) (Col.: Meloidae) em maracujazeiros (*Passiflora* spp.), sob condições de laboratório. Revista Brasileira de Fruticultura, 24(1):68-71, 2002. [10.1590/S0100-29452007000300013](https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000300013)
- BENITEZ, N. P.; LEÓN, E. M. M.; STASHENKO, E. E. Eugenol and methyl eugenol chemotypes of essential oil of species *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum campechianum* Mill. from Colombia. Journal of Chromatographic Science, 47(9):800-803, 2009. [10.1093/chromsci/47.9.800](https://doi.org/10.1093/chromsci/47.9.800)
- BOIÇA JUNIOR, A. L.; BOTTEGA, D. B.; LOURENÇÃO, A. L.; RODRIGUES, N. E. L. Não preferência para oviposição e alimentação por *Tuta absoluta* (Meyrick) em genótipos de tomateiro. Arquivos do Instituto Biológico, 79(4):541-548, 2012.
- BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M. G.; ALVES, J. A.; LUCENA, E. M. P. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 14(4):656-665, 2012. [10.1590/S1516-05722012000400013](https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400013)
- CABALLERO-GALLARDO, K.; PINO-BENITEZ, N.; PAJARO-CASTRO, N.; STASHENKO, E.; OLIVERO-VERBEL, J. Plants cultivated in Choco, Colombia, as source of repellents against *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Asia-Pacific Entomology, 17(4):753-759, 2014. [10.1016/j.aspen.2014.06.011](https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.06.011)
- CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. E. Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(5):1690-1696, 2011. [10.1021/jf103937p](https://doi.org/10.1021/jf103937p)
- CARDOSO, M. O.; PAMPLONA, A. M. S. R.; MICHEREFF FILHO, M. Recomendações técnicas para o controle de lepidópteros-praga em couve e repolho no Amazonas. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010, 16p. (Circular Técnica, 35).
- CAROVIC-STANKO, C.; LIBER, Z.; POLITEO, O.; STRIKIC, F.; KOLAK, I.; MILOS, M.; SATOVIC, Z. Molecular and chemical characterization of the most widespread *Ocimum* species. Plant Systematics and Evolution, 294(3-4):253-262, 2011. [10.1007/s00606-011-0471-x](https://doi.org/10.1007/s00606-011-0471-x)
- COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E. de; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal activity of Cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. Neotropical Entomology, 35(1):133-138, 2006. [10.1590/S1519-566X2006000100018](https://doi.org/10.1590/S1519-566X2006000100018)
- CORDERO, R. J.; KUHAR, T. P.; SPEESE, J.; YOUNGMAN, R. R.; LEWIS, E. E.; BLOOMQUIST, J. R.; KOK, L. T.; ANTHONY D. BRATSCH, A. D. Field efficacy of insecticides for control of Lepidoptera pests on collards in Virginia. Plant Health Progress, 7(1):1-11, 2006. [10.1094/PHP-2006-0105-01-RS](https://doi.org/10.1094/PHP-2006-0105-01-RS)
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 13(4):500-506, 2011. [10.1590/S1516-05722011000400016](https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000400016)
- CRUZ, A. C. B.; MASSENA, F. S.; MIGLIOLO, L.; MACEDO, L. L. P.; MONTEIRO, L. K. V.; OLIVEIRA, A. S.; MACEDO, F. P.; UCHOA, A. F.; SÁ, M. F. G. de; VASCONCELOS, I. M.; MURAD, A. M.; FRANCO, O. L.; SANTOS, E. A. Bioinsecticidal activity of a novel Kunitz trypsin inhibitor from catanduva (*Piptadenia moniliformis*) seeds. Plant Physiology and Biochemistry, 70(1):61-68, 2013. [10.1016/j.plaphy.2013.04.023](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.023)
- DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. Parasitology Research, 113(2):565-592, 2014. [10.1007/s00436-013-3687-6](https://doi.org/10.1007/s00436-013-3687-6)
- FERNANDES, C. C.; CURSINO, L. M. C.; NOVAES, J. DE A. P.; DEMETRIO, C. A.; PEREIRA JÚNIOR, O. L.; NUNEZ, C. V.; AMARAL, I. L. Salicilatos isolados de folhas e talos de *Salix martiana* Leyb. (Salicaceae). Química Nova, 32(4):983-986, 2009. [10.1590/S0100-40422009000400029](https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400029)
- FREITAS, A. F.; PEREIRA, F. F.; FORMAGIO, A. S. N.; LUCCHETTA, J. T.; VIEIRA, M. C.; MUSSURY, R. M. Effects of methanolic extracts of *Annona* species on the development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotropical Entomology, 43(5):446-452, 2014. [10.1007/s13744-014-0225-x](https://doi.org/10.1007/s13744-014-0225-x)
- GHODKE, A. B.; CHAVAN, S. G.; SONAWANE, B. V.; BHAROSE, A. A. Isolation and in vitro identification of proteinase inhibitors from soybean seeds inhibiting *Helicoverpa* gut proteases. Journal of Plant Interactions, 8(2):170-178, 2013. [10.1080/17429145.2012.668952](https://doi.org/10.1080/17429145.2012.668952)
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química Nova, 30(2):374-386, 2007. [10.1590/S0100-40422007000200026](https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026)
- HUANG, Y.; HO, S.-H.; LEE, H.-C.; YAP, Y.-L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Stored Products

- Research, 38(5):403-412, 2002. [10.1016/S0022-474X\(01\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00042-X)
- JARAMILLO, B. E. C.; DUARTE, E. R.; DELGADO, W. Bioactividad del aceite esencial de *Ocimum micranthum* Willd, recolectado en el departamento de Bolívar, Colombia. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 19(2):185-196, 2014.
- KIM, S. I.; LEE, D. W. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. Journal of Asia-Pacific Entomology, 17(1):13-17, 2014. [10.1016/j.aspen.2013.09.002](https://doi.org/10.1016/j.aspen.2013.09.002)
- KOGAN, M.; GOEDEN, R. D. The hostplant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Annals of Entomological Society of America, 63(4):1175-1180, 1970. [10.1093/aesa/63.4.1175](https://doi.org/10.1093/aesa/63.4.1175)
- KUHAR, T. P.; SPEESE, J.; CORDERO, R. J.; BARLOW, V. M.; VENKATA, R. Y. Evaluation of foliar insecticides for controlling lepidopterous pests in cabbage. Arthropod Management Tests, 28(1):1-2, 2003. [10.1093/amt/28.1.E10](https://doi.org/10.1093/amt/28.1.E10)
- LUCENA, D. C.; BERTHOLDO-VARGAS, L. R.; SILVA, W. C.; MACHADO, A. F.; LOPES, T. S.; MOURA, S.; BARROS, N. M. Biological activity of *Piper aduncum* extracts on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidiae) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Anais da Academia Brasileira de Ciências, 89(3):1869-1879, 2017. [10.1590/0001-3765201720170194](https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170194)
- MACEDO, M. L. R.; FREIRE, M. G. M.; FRANCO, O. L.; MIGLIOLO, L.; OLIVEIRA, C. F. R. Practical and theoretical characterization of *Inga laurina* Kunitz inhibitor on the control of *Homalinotus coriaceus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 158(2):164-172, 2011. [10.1016/j.cbpb.2010.11.005](https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2010.11.005)
- MAPELI, N. C.; SANTOS, R. H. S.; CASALI, V. W. D.; CREMON, C.; SILVA, A. N.; MANDARINO, A. P. Deterrência alimentar em *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) induzida por soluções homeopáticas. Revista Ceres, 62(2):184-190, 2015. [10.1590/0034-737X201562020008](https://doi.org/10.1590/0034-737X201562020008)
- MANZOOR, F.; BEENA, W.; MALIK, S.; NAZ, N.; NAZ, S.; SYED, W. H. Preliminary evaluation of *Ocimum sanctum* as toxicant and repellent against termite, *Heterotermes indicola* (wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). Pakistan Journal of Science, 63(1):59-62, 2011. [10.57041/pjs.v63i1.62](https://doi.org/10.57041/pjs.v63i1.62)
- MOTA, M. S. C. S.; SILVA, R. S.; SILVA, G. A.; PICANCO, M. C.; MESQUITA, A. L. M.; PEREIRA, R. C. A. Potential of allelochemicals from basil (*Ocimum micranthum* Willd) to control whitefly (*Aleurodicus cocois* (Curtis, 1846)) in cashew nut crop (*Anacardium occidentale* L.). Allelopathy Journal, 40(2):197-208, 2017. [10.26651/2017-40-2-1078](https://doi.org/10.26651/2017-40-2-1078)
- PALUCH, G.; GRODNITZKY, J.; BARTHOLOMAY, L.; COATS, J. Quantitative structure-activity relationship of botanical sesquiterpenes: spatial and contact repellency to the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(16):7618-7625, 2009. [10.1021/jf900964e](https://doi.org/10.1021/jf900964e)
- PANDEY, A. K.; SINHG, P.; TRIPATHI, N. N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(9):682-694, 2014. [10.12980/APJTB.4.2014C77](https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C77)
- PEREIRA, T.; PASINI, A.; OLIVEIRA, E. D. M. Biologia e preferência de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) na planta invasora *Raphanus raphanistrum* L. Neotropical Entomology, 32(4):725-727, 2003. [10.1590/S1519-566X2003000400028](https://doi.org/10.1590/S1519-566X2003000400028)
- PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; HOLTZ, A. M.; TAMANHONI, T.; CELESTINO, F. N.; BORGES FILHO, R. da C. Influência do substrato alimentar sobre o desenvolvimento de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae). Neotropical Entomology, 37(4):361-364, 2008. [10.1590/S1519-566X2008000400002](https://doi.org/10.1590/S1519-566X2008000400002)
- RICARTE, L. P.; BEZERRA, G. P.; ROMERO, N. R.; SILVA, H. C. da; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; ALVES, P. B.; SANTOS, M. B. dos; MILITÃO, G. C. G.; SILVA, T. D. S.; BRAZ-FILHO, R.; SANTIAGO, G. M. P. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Vitex-agnus castus*, *Ocimum campechianum* and *Ocimum carnosum*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 92(1):e20180569, 2020. [10.1590/0001-3765202020180569](https://doi.org/10.1590/0001-3765202020180569)
- RIELLA, K. R.; MARINHO, R. R.; SANTOS, J. S.; PEREIRA-FILHO, R. N.; CARDOSO, J. C.; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L. C.; THOMAZZI, S. M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. Journal of Ethnopharmacology, 143(2):656-663, 2012. [10.1016/j.jep.2012.07.028](https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.028)
- ROBERTSON, J. L.; PREISLER, H. K. Pesticide bioassays with arthropods. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1992, 127p.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT user's guide. Version 9. 3. ed. Cary: SAS Institute, 2011.
- SILVA, G. N.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H.; FREITAS, R. S. Bioactivity of *Jatropha curcas* L. to insect pests of stored products. Journal of Stored Products Research, 48(1):111-113, 2012. [10.1016/j.jspr.2011.10.009](https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.10.009)
- SILVA, M. G. V.; MATOS, F. J. A.; LOPES, P. R. O.; SILVA, F. O.; HOLANDA, M. T. Composition of essential oils from three *Ocimum* species obtained by steam and microwave distillation and supercritical CO₂ extraction. Arkivoc, 5(6):66-71, 2004. [10.3998/ark.5550190.0005.609](https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0005.609)
- SINGH, P.; JAYARAMAIAH, R. H.; SARATE, P.; THULASIRAM, H. V.; KULKARNI, M. J.; GIRI, A. P. Insecticidal potential of defense metabolites from *Ocimum kilimandscharicum* against *Helicoverpa armigera*. Plos One, 9(8):1-9, 2014. [10.1371/journal.pone.0104377](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104377)
- SOUSA, S. T. de. Estudo da atividade biológica de *Ocimum campechianum* Mill. e determinação de seu perfil fitoquímico.

2004. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

TORRES, A. L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J. V. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotropical Entomology*, 30(1):151-156, 2001. [10.1590/S1519-566X2001000100022](https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000100022)

TREVISAN, M. T. S.; SILVA, M. G. V.; PFUNDSTEIN, B.; SPIEGELHALDER, B.; OWEN, R. W. Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12):4378-4382, 2006. [10.1021/jf060181](https://doi.org/10.1021/jf060181)

VIEIRA, P. R. N.; MORAIS, S. M. de; BEZERRA, F. H. Q.; FERREIRA, P. A. T.; OLIVEIRA, I. R.; SILVA, M. G. V. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*, 55(1):267-271, 2014. [10.1016/j.indcrop.2014.02.032](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.032)

ZHAO, X.; XI, X.; HU, Z.; WU, W.; ZHANG, J. Exploration of novel botanical insecticide leads: synthesis and insecticidal activity of β -dihydroagarofuran derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(7):1503-1508, 2016. [10.1177/1934578X18013004](https://doi.org/10.1177/1934578X18013004)