



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI – TOCANTINS  
GRADUAÇÃO EM QUÍMICA AMBIENTAL

**ADRIANA VERAS CABRAL**

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Zingiber officinale* PARA CONTROLE ALTERNATIVO DA *Achroia  
grisella* NA COLMEIA DE *Apis mellifera*.**

GURUPI (TO)

2018

**ADRIANA VERAS CABRAL**

**ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Zingiber officinale* PARA CONTROLE ALTERNATIVO DA *Achroia*  
*grisella* NA COLMEIA DE *Apis mellífera*.**

Monografia apresentada a UFT –  
Universidade Federal do Tocantins - Campus  
Universitário de Gurupi, para obtenção do  
título de bacharel em Química Ambiental, sob  
orientação do professor Dr. Taciano Peres  
Ferreira.

GURUPI (TO)

2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

C117a Cabral, Adriana Veras.

Atividade inseticida e repelente do óleo essencial de zingiber officinale para controle alternativo da *Achroia grisella* na colmeia de *Apis mellifera*. / Adriana Veras Cabral. – Gurupi, TO, 2018.

51 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Química Ambiental, 2018.

Orientador: Taciano Peres Ferreira

1. Óleo essencial. 2. Repelente. 3. Inseticida. 4. Gengibre. I. Título

**CDD 577.14**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

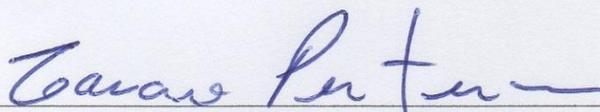
ADRIANA VERAS CABRAL

ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Zingiber officinale* PARA CONTROLE ALTERNATIVO DA *Achroia grisella*  
NA COLMEIA DE *Apis mellifera*.

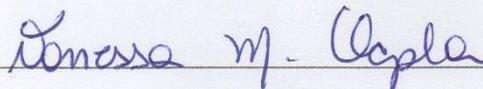
Monografia foi avaliada e apresentada a  
UFT – Universidade Federal do Tocantins  
Campus Universitário de Gurupi, Curso de  
Química Ambiental para obtenção do título de  
bacharel e aprovada em sua forma final pelo  
Orientador e pela Banca Examinadora.

Data da Aprovação: 05 / 12 / 2018

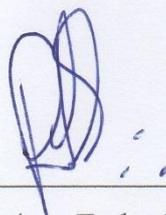
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Taciano Peres Ferreira, Orientador, UFT - Gurupi



Prof. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Mara Chapla, Examinadora, UFT – Gurupi



Prof. Dr. Paulo Henrique Tschoeke, Examinador, UFT - Gurupi

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a DEUS que rege e guia a minha vida.

Ao meu pai, Raimundo; minha mãe Sivalda e minha irmã Beatriz; que sempre estiveram presentes em todas as etapas da minha vida e, em especial, nesta nova conquista.

A toda minha família pelo amor, carinho, força, confiança e por sempre estarem comigo durante os momentos de dificuldades e mostrando que sou capaz de conquistar e alcançar muitas vitórias. Saibam que me sinto privilegiada por fazer parte desta família linda.

Ao meu namorado, melhor amigo e companheiro de todas as horas, Luís Paulo pela compreensão, incentivo, amor e paciência. Por me ajudar durante toda essa caminhada.

Ao Professor Taciano, pela orientação e apoio no planejamento, condução e conclusão deste experimento.

As amigadas que conquistei durante este período acadêmico, que creio, me acompanharão durante minha vida, em especial: Carla, Layanne, Fernando, Djales, Alisson, Ana Carolina, e Camila.

A Universidade Federal do Tocantins, o agradecimento a todos os professores e funcionários técnicos desta instituição.

A todos muito obrigada!

*“ O sucesso é como uma colmeia  
Pode-se até retirar o mel, mas tem  
que estar preparado para as  
ferroadas.”*

(Randerson Figueiredo)

## RESUMO

O alto faturamento do setor apícola nos últimos anos reafirma a sua grande importância no cenário econômico brasileiro. Um dos grandes entraves para a produção de mel são as traças da cera, encontradas em todo o território nacional. Uma planta aromática de grande importância é a *Zingiber officinale*, é uma espécie perene, nativa da Índia, mas cultivada em quase todo o Brasil e seu rizoma encontrado com frequência em todas as regiões nacionais. Conhecida tradicionalmente como gengibre. O presente estudo tem como finalidade analisar a atividade inseticida e repelente do óleo essencial de *Zingiber officinale* sobre *Achroia grisella* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Pyralidae), e seletividade para *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), para o controle dos inseto-alvo, sem prejudicar a colmeia e os seus produtos gerados. Os valores de mortalidade  $CL_{50}$  encontrados para *A. grisella* do 4º instar no intervalo de 06 e 12 horas foram de 0,392 e 0,161 mg/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Enquanto que para adultos de *A. mellifera* foi de 0,080 mg/cm<sup>2</sup>, constatando-se valores 2,01 vezes menores aos das larvas das traças. O tempo resposta  $TL_{50}$  encontrado com as concentrações de  $CL_{50}$  para as traças foi de 64,6 h e 2,94 h para  $CL_{95}$ . Em todos os tratamentos com o óleo em lagartas e abelhas foi observado repelência, os valores encontrados foram próximos a 90% para a *A. grisella* e *A. mellifera*. Hoje, o Brasil ocupa a 8º posição no ranking de grande exportador de mel, e a necessidade do controle desta praga sem comprometer o produto final, evidencia um ótimo potencial para se tornar líder em exportação. Com apenas uma publicação sobre o controle de *A. grisella* com extratos vegetais e óleos essenciais, aliado ao ótimo desempenho do óleo como inseticida e repelente para as traças da cera, indica o grande potencial de aplicação que este óleo possui. O uso do óleo essencial de *Z. officinale* demonstrou ser promissor como inseticida e repelente para a espécie *A. grisella*, e podendo o mesmo ser aplicado nos favos a serem armazenados no período de entressafra do apiário e fazer o controle contra as traças da cera, garantindo a qualidade e assepsia dos produtos gerados no apiário em seu armazenamento até a distribuição para o consumidor.

**Palavras-chaves:** gengibre, traça, abelha, colmeia, óleo essencial, inseticida, repelente.

## ABSTRACT

The high turnover of the apiculture sector in recent years reaffirms its great importance in the Brazilian economic scenario. One of the major obstacles to the production of honey is the wax moths found throughout the national territory. An aromatic plant of great importance is the *Zingiber officinale*, is a perennial species, native to India, but cultivated in almost all Brazil and its rhizome found frequently in all the national regions. Known radically as ginger. The objective of this study was to analyze the insecticidal and repellent activity of the essential oil of *Zingiber officinale* on *Achroia grisella* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Pyralidae) and *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), for control of insects, without harming the hive and its products generated. The LC<sub>50</sub> mortality values found for *A. grisella* of the 4th instar in the 06 and 12 hour intervals were 0.392 and 0.161 mg/cm<sup>2</sup>, respectively. While for *A. mellifera* adults it was 0.080 mg/cm<sup>2</sup>, with values 2.01 times lower than that of moth larvae. The TL<sub>50</sub> response time found with the LC<sub>50</sub> concentrations for the moths was 64.6 h and 2.94 h for LC<sub>95</sub>. In all treatments with oil on caterpillars and bees, repellency was observed. The minimum values found were 90% for *A. grisella* and *A. mellifera*. Today, Brazil occupies the 8th position in the ranking of major exporters of honey, and the need to control this pest without compromising the final product, evidences an excellent potential to become a leader in exports. With only one publication on the control of *A. grisella* with vegetal extracts and essential oils, together with the excellent performance of the oil as insecticide and repellent for the wax moths, indicates the great potential of application that this oil has. The use of the essential oil of *Z. officinale* has been shown to be promising as an insecticide and repellent for the species *A. grisella*, and it can be applied to the combs to be stored during the period between the apiary and the wax moths, guaranteeing the quality and asepsis of the products generated in the apiary in its storage until the distribution to the consumer.

**Keywords:** ginger, moth, bee, hive, essential oil, insecticide, repellent.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> A) Aspecto geral de raiz de gengibre (B) Parte aérea de gengibre.....	21
<b>Figura 2</b> - Pote de plástico de 2 L com tampa perfurada para criação de <i>Achroia grisella</i> (A); Estante de madeira com potes plásticos para criação das <i>Achroia grisella</i> (B); Pote transparente com abertura para larvas de <i>Achroia grisella</i> (C); Dieta com larvas de <i>Achroia grisella</i> (D).	26
<b>Figura 3-</b> Extração do óleo essencial de gengibre pelo método hidrodestilação (A), A decantação do óleo de <i>Zingiber officinale</i> obtido, após término da extração (B). .....	27
<b>Figura 4</b> - Metodologia usada no bioensaio com larvas de <i>Achroia grisella</i> do 4º instar.....	29
<b>Figura 5</b> - (A) Uso do CO <sub>2</sub> com fins anestésicos em insetos. (B) Metodologia usada no teste com <i>Apis mellifera</i> (adultos) submetidas a diferentes concentrações. ....	30
<b>Figura 6</b> - (A) Metodologia utilizada no teste de repelência em Placa de Petri (12 cm de diâmetro e 2 cm de largura). (B) Larvas de <i>Achroia grisella</i> do 4º instar submetidas à diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> .....	31
<b>Figura 7-</b> Metodologia usada no teste de repelência utilizando 2 potes plásticos interligados por canos de silicone devidamente vedados e com aberturas superiores de tela de tecido com insetos adultos de <i>Apis mellifera</i> submetido à diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> . .....	32
<b>Figura 8</b> - Cromatograma CG-MS do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> .....	34
<b>Figura 9</b> - Estrutura do 2,6-octadienal (Composto mais abundante).....	35
<b>Figura 10</b> - Fragmentograma do óleo essencial de gengibre referente ao composto majoritário atribuído ao pico 13 (2,6-octadienal) (A), com a sua proposta de identificação sugerida pela espectroteca NIST (B), e um fragmentograma da espectroteca atribuído ao zingibereno (C) (SILVA,2012).....	36
<b>Figura 11</b> - Gráfico de Sobrevivência da <i>Achroia grisella</i> de 4º instar.....	40
<b>Figura 12</b> - Atividade repelente do óleo de <i>Zingiber officinale</i> sobre adultos de <i>Achroia grisella</i> .....	41
<b>Figura 13</b> - Atividade repelente do óleo de <i>Zingiber officinale</i> sobre adultos de <i>Apis mellifera</i> . .....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Dieta modificada para <i>Achroia grisella</i> . .....	26
<b>Tabela 2</b> - Composição Química, Concentração (%) do óleo essencial da <i>Zingiber officinale</i> .....	34
<b>Tabela 3</b> - Concentração resposta óleo <i>Zingiber officinale</i> para 6 horas para <i>Achroia grisella</i> . .....	37
<b>Tabela 4</b> - Concentração resposta óleo <i>Zingiber officinale</i> para 12 horas para <i>Achroia grisella</i> . .....	37
<b>Tabela 5</b> - Concentração resposta óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> para as abelhas.....	39

# Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. OBJETIVO .....	15
2.1 Objetivo Geral .....	15
2.2 Objetivo Específicos .....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
3.1 Apicultura, mercado e produção. ....	16
3.2 <i>Apis mellifera</i> .....	17
3.3 Traça da cera .....	17
3.4 Controle biológico e químico da traça da cera .....	18
3.5 Óleo essencial .....	19
3.6 Metabólito secundário.....	20
3.7 <i>Zingiber officinale</i> .....	20
3.8 Família das <i>Zingiberaceae</i> .....	21
3.9 Extração por hidrodestilação .....	22
3.10 Cromatografia gasosa .....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
4.1 Criação <i>Achroia grisella</i> .....	25
4.2 Obtenção do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> .....	27
4.3 Análise da composição química do óleo essencial .....	28
4.4 Determinação da CL <sub>25</sub> , CL <sub>50</sub> , CL <sub>75</sub> e CL <sub>95</sub> do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> para <i>Achroia grisella</i> e <i>Apis mellifera</i> . ....	28
4.5 Testes do tempo letal (TL <sub>50</sub> ) do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> para <i>Achroia grisella</i> . ....	30
4.6 Teste de repelência do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> para <i>Achroia grisella</i> e <i>Apis mellifera</i> .....	30
4.6.1. Larvas de <i>Achroia grisella</i> .....	30
4.6.2. Insetos adultos de <i>Apis mellifera</i> .....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
5.1 Criação de <i>Achroia grisella</i> .....	33
5.2 Obtenção do óleo essencial da <i>Zingiber officinale</i> .....	33
5.3 Análise de composição química do óleo essencial de <i>Zingiber Officinale</i> .....	33
5.5 Determinação da TL <sub>50</sub> do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> para <i>Achroia grisella</i> . ....	39
5.6 Teste de repelência do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> para <i>Achroia grisella</i> e <i>Apis mellifera</i> .....	40

<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>44</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As abelhas são agentes polinizadores e seus serviços prestados garantem ao ser humano e ao meio ambiente benefícios relativos à produção de alimentos, à conservação da diversidade biológica, à restauração de agroecossistemas e ao crescimento econômico do país (IPBES, 2016). Junto com os demais polinizadores, são responsáveis por 9,5% do montante financeiro da produção agrícola de alimentos em nível mundial (GALLAI et al., 2009), além da produção de mel e outros produtos na apicultura. Giannini et al. (2015) estimaram que os serviços no setor apícola brasileiro, para as culturas dependentes de polinização, apresentam cerca de US\$ 12 bilhões do total de US\$ 45 bilhões gerados no setor alimentício. Hoje o país ocupa a 8<sup>o</sup> posição no *ranking* de exportação. Além disso, o valor agregado ao produto, com cerca de US\$ 3,89/kg garante um ótimo potencial de comercialização (MAPA, 2016).

As traças de cera *Achroia grisella* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Pyralidae) e *Galleria mellonella* Linnaeus 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) são consideradas um dos maiores obstáculos para a produção do mel e de outros produtos do setor apícola, já que são encontradas em colônias de *Apis cerana*, *Apis dorsata*, *Apis florea* e *Apis mellifera* (SIHANG, 1982; BARNES et al., 2008; APACAME, 2016). No Brasil, há relatos de infestação das colmeias de *Apis mellifera* pelas traças da cera desde 1930 (SCHENK 1938).

Muitas substâncias químicas têm sido usadas em apiários para o controle das traças da cera, embora o controle químico tenha sido muito usado, foi constatado problemas para as abelhas, tais como intoxicação causando a mortalidade e a repelência das mesmas, além da contaminação dos produtos gerados na colmeia, como: mel, cera, pólen, própolis e geleia real (BOLLHALDER, 1999; COSTA, OLIVEIRA, 2005; ELLIS et al, 2013). No Brasil, os principais produtos para o controle biológico são de origem microbiana utilizados são a base da bactéria *Bacillus Thuringiensis* (DIAS, 2001).

Óleos essenciais podem ser sintetizados em plantas aromáticas. Todas as partes da planta podem produzir essa substância, como brotos, folhas, flores, galhos, sementes, frutos, raízes, madeira e cascas. Esses metabólitos secundários são armazenados em células secretoras, canais, cavidades, células da epiderme ou tricomas glandulares. A sua principal composição é de terpenoides e fenilpropanoides (SIMÕES et al., 2004; YANG et al., 2014).

Estudos com relação ao uso de óleos essenciais derivados de plantas aromáticas como inseticidas de baixo risco, vêm crescendo atualmente. Este fato se deve a sua apreciação por

produtores orgânicos e consumidores ambientalmente conscientes. Os óleos essenciais apresentam importantes características podendo diretamente repelir (TRONGTOKIT et al., 2005), intoxicar (TORRES et al., 2014) e ainda reduzir o crescimento de uma gama de insetos (HALDER et al., 2012).

Várias pesquisas têm sido direcionadas à descoberta de bioatividade dos óleos essenciais de plantas ou seus constituintes químicos como possível alternativa para a produção de bioinseticidas (RAJENDRAN, SRIANJINI, 2008). Neste sentido, muitos estudos vêm demonstrando que os óleos essenciais têm potencial para o controle de pragas (CLEMENTE et al., 2003; MONDAL, KHALEQUZZAMAN, 2006; CHU et al., 2011; NATTUDURAI et al., 2012).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade inseticida e repelente do óleo essencial de *Zingiber officinale* sobre a praga de apiário *A. grisella*, com ênfase no controle alternativo deste inseto-praga.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo Geral**

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a concentração resposta, tempo resposta e repelência do óleo essencial de *Z. officinale* para a traça da cera *A. grisella* com seletividade para *A. mellifera*.

### **2.2 Objetivo Específicos**

Extrair, purificar e caracterizar o óleo essencial de *Z. officinale*;

Determinar a concentração resposta e o tempo resposta para *A. grisella* e *A. mellifera*;

Realizar testes de repelência para larvas de *A. grisella* e *A. mellifera*;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Apicultura, mercado e produção.

A apicultura é uma atividade de grande geração de renda extra, através da venda do mel, ou ainda, pela comercialização dos enxames para os interessados em iniciar ou aumentar uma criação (LUNA, 2011).

A produção de mel segue um processo padronizado empregado pelos grandes e pequenos produtores. A atividade tem como base a florada de espécies vegetais nativas ou de áreas cultivadas, onde corre a distribuição das colmeias em áreas próximas destas floradas, a extração do mel das colmeias ocorre em uma casa chamada “casa do mel” e o processamento em um entreposto para remoção de impureza, após esta etapa, o produto segue para a embalagem, seja em barris para venda a granel, quando o produto se destina as indústrias ou fracionadores; ou para o fracionamento em pequenos volumes direcionado ao consumidor final, quando o produto se destina ao varejo (USAID/BRASIL, 2006).

No Brasil, a apicultura é composta por mais de 300 mil apicultores, empregando cerca de 500 mil pessoas. Em 2004, este setor foi responsável pela produção de 32 mil toneladas de mel e 1,6 mil toneladas de cera de abelha, atraindo divisas de mais de US\$ 42 milhões com exportação e se inserindo com destaque na pauta de exportação de agroprodutos do País. A produção mundial de mel alcançou 1,3 milhões de toneladas em 2004 e vem apresentando um crescimento regular nos últimos dez anos, da ordem de 1,9% ao ano (USAID/BRASIL, 2006). O Brasil é o 11º maior produtor mundial de mel e o 5º maior exportador. Em 2011 produziu cerca de 41 mil toneladas de mel, sendo que 16,9 mil toneladas foram produzidas pelo Nordeste que ocupou a posição de maior produtor de mel do país (SEBRAE, 2014).

A invasão da traça da cera nas colmeias ou enxames é bem significativa ocorrendo pela oposição de mariposas. As lagartas fazem suas alimentações a base de cera, pólen e mel, comprometendo os produtos originados pelas abelhas, impedindo sua venda (VANDENBERG, SHIMANUKI, 1990).

Além dos danos causados aos produtos, as traças de cera também são responsáveis pela destruição dos favos (ANDERSON, 1990). Nos Estados Unidos foi observado que os prejuízos causados pela traça de cera podem chegar a cinco milhões de dólares (COUTO, COUTO, 1996).

### 3.2 *Apis mellifera*

As abelhas são insetos que vivem em colônias e são conhecidas há mais de 40 mil anos, através de provas arqueológicas. Considerados insetos trabalhadores, disciplinados, a abelha convive num sistema de extraordinária organização: em cada colmeia existem cerca de 60 mil abelhas operárias e cada colônia é constituída por uma única rainha, dezenas de zangões e milhares de operárias. As abelhas podem ser consideradas de acordo com seus hábitos, ou outras conveniências, em três categorias: sociais, solitárias e parasitas (CICCO, 2007).

As abelhas *A. mellifera* pertencem à ordem Hymenoptera e família Apidae, que é composta por milhares de espécies diferentes catalogadas, no Brasil abriga cerca de 25% destas espécies catalogadas devido a sua grandeza territorial e suas variedades de ecossistemas (SANTOS, 2002).

O gênero *Apis* estão as abelhas sociais mais importantes no quesito comercial, sendo classificadas em: *Apis florea*, *A. andreniformes*, *A. dorsata*, *A. cerana*, *A. mellifera*, *A. laboriosa* e *A. koschevnikov* (COUTO, COUTO, 2002). Dentre as classificações a *A. melífera* é a mais eficiente para a polinização, ajudando a agricultura, produção de mel, geleia real, cera, própolis e pólen (MALAGODE-BRAGA, 2005).

O habitat das abelhas *A. mellifera* é bastante diversificado e inclui savana, florestas tropicais, deserto, regiões litorâneas e montanhosas. Essa grande variedade de clima e vegetação acabou originando diversas subespécies ou raças de abelhas, com diferentes características e adaptadas às diversas condições ambientais. Segundo Zanella e Martins (2003) parte da fauna de abelhas é entrada na Caatinga. O bioma caatinga apresenta um tipo complexo de vegetação encontrado na região semiárida do Nordeste brasileiro (RODAL et al., 2002). Presente nos mais variados ambientes, urbanos, agrícolas e naturais por exemplo, em qualquer estado de preservação ou degradação. Porém, sua presença é menos intensa em ambientes bem preservados e florestas úmidas fechadas como na Amazônia (OLIVEIRA et al., 2005).

### 3.3 Traça da cera

*Achroia grisella* Fabricius, 1754 (Lepidoptera: Pyralidae) e *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) são consideradas pragas de apiário comercial em regiões de clima subtropical ou temperado, constituindo-se um fator de prejuízo econômico (BAMBARA, AMBROSE, 1981). A traça da cera encontra-se disseminada em condições naturais, podendo-se afirmar que não existem colméias ou enxames encontrados em condições

de campo livres da presença dessa praga, ocorrendo invasão das colônias por mariposas que depositam seus ovos em frestas das colméias. (BURGES, BAILEY, 1968). Alguns vilões naturais podem inibir ou combater ação das traças de cera, dentre eles está o *Apanteles galleriae* Wilkinson (CRISTOBAL 1937), cuja fêmea deste endoparasitóide solitário deposita um ovo em cada lagarta hospedeira. Após a eclosão no interior da lagarta, a larva do parasitóide alimenta-se de seus tecidos, e, quando atinge o estágio de pré-pupa, emerge do hospedeiro causando sua morte (UÇKAN, GULEL 2000).

Além da destruição dos favos, outro fator negativo é que as traças podem ser responsáveis pela transmissão, através das fezes, de importantes patógenos para as larvas de abelhas podendo disseminar esporos das bactérias *Paenibacillus larvae*, causadora da "cria pútrida americana" (ANDERSON, 1990).

O ovipositor *A. grisella* da ordem e família respectivamente (Lepidoptera, Pyralidae) os adultos, larvas e pupas são sempre menores que os de *G. mellonella*. O tamanho do adulto depende da quantidade de alimento consumido na forma larval (SINGH, 1962). Os machos podem ter de até 10 mm de comprimento, enquanto que as fêmeas podem crescer até 13 mm. Seu corpo é pequeno, delgado e de cor prateada, que contrasta com sua cabeça amarela (MORSE, 1978). Em geral, o estágio de ovo dura de 2 a 4 dias e tem 10 fases larvais (GUERRA, 1973).

### 3.4 Controle biológico e químico da traça da cera

O controle da traça de cera pode ser feita por métodos físicos, sem riscos para a saúde e sem comprometer a qualidade do produto para o consumo final. A conservação dos favos em câmaras frias apresenta ótimos resultados; contudo, é um processo caro (CHARRIÈRE, IMDORF, 1999).

O controle químico já foi muito empregado, utilizando-se 6 produtos com caráter comerciais (paradiclorobenzeno, ácido cianídrico, brometo de metila, sulfureto de carbono, anidrido sulfuroso e fosfina). Mas seu emprego apresenta inúmeros problemas, como a intoxicações das abelhas nas diversas fases do seu desenvolvimento e também a contaminação do mel, cera, própolis, pólen e geléia real (BOLLHALDER, 1999).

De modo mais eficaz, o método que tem proporcionado os melhores resultados no controle da traça da cera, os produtos de origem biológica apresentam os melhores resultados, como a utilização de entomopatógenos (VERMA, 1995). No Brasil, os principais produtos de

origem microbiana utilizados são a base da bactéria *Bacillus Thuringiensis* (DIAS, 2001). *B. thuringiensis* quando submetido à exaustão de nutrientes passa por um processo de esporulação, produzindo um esporângio que contém um endosporo e inclusões cristalinas de proteínas, composto por um polipeptídeo denominado endotoxina (NAVON, 2000). Quando formas larvais de um inseto se alimentam dessas proteínas, inicia-se uma série de reações que culminam com a morte das mesmas, caracterizando, assim, o efeito do controle biológico, e vale ressaltar que a proteína usada como bioinseticida não possui nenhum grau de toxicidade conhecida para os seres humanos e o ecossistema em geral (MENDONÇA, 2002).

### 3.5 Óleo essencial

Os óleos essenciais têm sido muito utilizados em diversos ramos da indústria devido a sua versatilidade, desde a alimentação a saúde, e podem ser obtidos de diversas partes das plantas como: folhas, flores, sementes, raízes, cascas e tubérculos (TRAJANO, et al. 2009). Estes apresentam propriedades inseticidas, nematocida, fungistático, antimicrobiano e antifúngico. Estudos em prol do desenvolvimento de tecnologias sobre as atividades antimicrobianas sobre as atividades antimicrobianas e inseticidas tem sempre mostrado resultados satisfatórios na inibição de microrganismos patógenos oportunistas, patógenos primários e deteriorantes, e/ou na inibição da produção de toxinas microbianas (SOUZA, 2005).

O óleo essencial possui características lipofílicas, os óleos essenciais voláteis diferem-se quimicamente de óleos fixos que são formados por triacilglicerídeos (OOTANI et al., 2013). Quimicamente, a maior parte dos óleos essenciais são constituídos de derivados de duas substâncias: fenilpropanóides e com mais frequência de terpenóides (SIMÕES, SPITZER, 2000).

Os terpenóides tem um papel importantes na formação de várias substâncias de origem vegetais, pois esse termo é destinado a denominar todas as substâncias da via biossintética vegetal do isopreno (2-metil-1,3-butadieno), esses terpenóides dependendo do inseto em análise apresentam propriedades atrativas (alimentação, polinização) ou inseticidas (SIMAS et al., 2004). Subseqüentemente, essas estruturas existentes nos terpenos, mas podem apresentar alterações de oxidação, redução para a biossíntese de diferentes terpenoides. Os compostos terpenícos mais encontrados nos óleos essenciais são os monoterpenos, possuindo em sua estrutura 10 átomos de carbono, compostos voláteis e os sesquiterpenos contendo 15 átomos de carbono (HARTMANN, 2007; SIMÕES et al., 2007).

### 3.6 Metabólito secundário

As plantas produzem uma larga e diversa ordem de componentes orgânicos divididos em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários possuem função estrutural, plástica e de armazenamento de energia. Os metabólitos secundários, produtos secundários, metabólitos especiais ou produtos naturais, aparentemente não possuem relação com crescimento e desenvolvimento da planta (TAIZ, ZEIGER, 2006).

No ecossistema, os vegetais estão expostos uma quantidade significativa de microrganismos que podem prejudicar seu desenvolvimento, entre eles estão os nematoides, bactérias, ácaros, vírus e insetos. Com isso, as plantas desenvolveram um sistema de defesa, tendo inicialmente uma barreira física chamada de parede celular, para bloquear a entrada desses patógenos no seu interior, além de reduzindo a perda de água. Mesmo na ruptura da barreira inicial, ocorre a liberação de compostos secundários para sua proteção, em alguns casos estes compostos são liberados mesmo sem a ruptura da parede celular, através de canais de secreção. Os metabólitos secundários nas plantas podem ser divididos em três grupos distintos quimicamente: terpenos, compostos fenólicos e componentes contendo nitrogênio (ROBARDS et al., 1999; TAIZ, ZEIGER, 2009).

Os metabólitos secundários, geralmente de estrutura complexa, baixo peso molecular, possuem atividades biológicas marcantes e, diferentemente dos metabólitos primários, apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (BERG, LUBERT, 2008). Teoricamente, todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar metabólitos secundários, mas é mais comum entre as plantas selvagens, que, desenvolveram a produção desses produtos como mecanismos de adaptação e assegurar sua sobrevivência (SOUZA FILHO, ALVES, 2002). No passado, sua função não era bem definida, e já foram incluídos no grupo dos produtos de excreção do vegetal. No entanto, atualmente sabe-se que essas substâncias estão diretamente ligadas aos mecanismos de defesa do vegetal que permitem a adaptação e sobrevivência do produtor ao meio ambiente. (SIMÕES et al., 2007).

### 3.7 *Zingiber officinale*

A espécie *Z. officinale*, popularmente conhecida como “gingibre” é uma planta herbácea perene, cujo rizoma é amplamente comercializado em função da sua aplicabilidade na indústria alimentar e industrial, e ainda suas propriedades medicinais são comumente conhecidas e usada com maiores frequências como: excitante, estomacal (DAHLGREN et al., 1985; JOLY, 1985; CORRÊA JUNIOR et al., 1994).

O rizoma do gengibre apresenta corpo alongado, um pouco achatado, com ramos fragmentados irregularmente, de 3 a 16 cm de comprimento, 3 a 4 cm de largura e 2 cm de espessura. Externamente, sua coloração vai do amarelo couro à marrom brilhante, estriado na longitudinal, algumas vezes fibroso, com terminações conhecidas como “dedos” que surgem obliquamente dos rizomas; achatadas, curtas, de 1 a 3 cm de comprimento. Internamente, de cor marrom amarelado, apresentando uma endoderme amarela. (TREASE, 1966; BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA, 1983; WHO, 1999).

Na sua composição química, destacam-se a presença do óleo essencial composto por curcuminas e seus derivados, resina, amido, terpenóides e sais minerais, além de uma substância denominada metoxicinamato de etila, com forte poder fungicida (LORENZI, MATOS, 2002).

Os precedentes estudos da química vegetal da planta *Z. officinale*, tem constatado que na composição química do óleo essencial são indentificados  $\alpha$ -pineno, canfeno,  $\beta$ -pineno, mirceno, limoneno,  $\beta$ -felandreno, eucaliptol, isoterpinoleno, linalol, borneol,  $\alpha$ -terpineol, neral, geraniol, geranial, acetato de citronelila, acetato de geranila, cariofileno, zingibereno,  $\beta$ -bisaboleno,  $\beta$ - sesquifelandreno, espatulenol,  $\beta$ -eudesmol e  $\alpha$ - bisabolol, tanto em rizomas frescos e secos. Foram identificados que aroma aguçado do gengibre fresco está intimamente ligada aos gingeróis, que são séries homólogas dos fenóis do gengibre seco resulta dos shogaóis, como, por exemplo, [6]-shogaol, que são formas desidratadas dos gingeróis, formados a partir de um processo térmico (WOHLMUTH et al., 2005)

**Figura 1-** A) Aspecto geral de raiz de gengibre (B) Parte aérea de gengibre.



(A)



(B)

Fonte: Lorenzi & Matos (2002).

### 3.8 Família das *Zingiberaceae*

A família *Zingiberaceae* compreende 53 gêneros e mais de 1000 espécies originadas de regiões tropicais, com pico de maior diversidade no Sul e Sudeste da Ásia (CRONQUIST

1977), expandindo-se através da África tropical, América do Sul e Central (TOMLINSON 1969). Suas espécies, crescem em habitats sombreados ou semi-sombreados, ricos em nutrientes derivados da decomposição da matéria orgânica depositados no solo (DAHLGREN et al., 1985).

Muitas espécies da família aparecem no cenário econômico fornecendo diretamente como alimentos no caso dos rizomas, ou indiretamente como matéria prima para perfumes, condimentos de propriedades aromáticas, corantes, fibras e papel (TOMLINSON 1969). *Z. officinale* vulgarmente conhecido como gengibre, é utilizado para fins medicinais e como condimento (JOLY 1993).

### **3.9 Extração por hidrodestilação**

No processo de extração de óleo essencial, utilizam-se diferentes métodos, devendo-se ressaltar que, o método utilizado influenciará significativamente a composição do óleo (CASSEL et al., 2009), alguns dos métodos de extração mais utilizados são: hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, destilação a vapor, extração por fluido supercrítico, prensagem a frio, dentre outros. O rendimento da extração por destilação a vapor é superior utilizando qualquer outro método (YUSOFF et al., 2011).

O método de hidrodestilação pode ser dividido em duas técnicas diferentes: a primeira é hidrodestilação com água e vapor, já a segunda chamada de hidrodestilação por vapor. Atualmente, estes termos citados já entraram em desuso, em caso de utilização de água usasse “Extração por Hidrodestilação”, e “Arraste a Vapor” para extrações utilizando água e vapor ou apenas vapor (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

Este método é antigo, porém utilizado até hoje devido sua versatilidade, o material vegetal mantém-se com contato com água em ebulição, o vapor tem a função de forçar abertura das paredes celulares e assim sucessivamente ocorrendo à evaporação do óleo essencial que estão contidas na célula da planta. O vapor é composto por uma mistura de óleo e água, passando a um condensador, e assim chegando a um resfriamento (SILVA, 2011). Esses componentes contidos na água são imiscíveis, devido às diferenças de polaridades, existindo uma notória separação das fases líquidas (SATOR, 2009).

Para obtenção do óleo essencial em laboratório, em pequenas escalas para pesquisa e desenvolvimento da ciência, utilizasse o método de hidrodestilação, empregando um aparato denominado do tipo Clevenger (BIASI, DESCHAMPS, 2009). A extração do óleo essencial

tem um papel fundamental, pois os resultados da pesquisa em laboratórios servem de base para sua produção industrial, como a degradação de alguns compostos presentes no óleo essencial, devido à permanência da matéria prima em contato direto com a água em altas temperaturas por longos períodos de tempo (SERAFINI et al., 2002).

### **3.10 Cromatografia gasosa**

A cromatografia é um processo físico químico de separação de constituintes presentes em uma amostra, no qual os componentes a serem separados distribuem-se em duas fases: a fase estacionária e a fase móvel que ambas podem ser sólidas ou um líquido disposto sobre e a fase móvel ainda pode ser gasosa, passando pela a fase estacionária, arrastando consigo os diversos componentes da mistura e promovendo a separação (HARRIS, 2005).

A análise de misturas com vários componentes em sua composição, necessita a aplicação de métodos analíticos modernos e instrumentação adequada. Diferentes técnicas cromatográficas são predominantes usadas para análise de substâncias voláteis, como os óleos essenciais, principalmente os métodos de cromatografia gasosa que resultam na separação da mistura em componentes individuais, e em (BRAITHWAITE, SMITH, 1996; SCHREIER, 1984).

A Cromatografia em fase Gasosa (GC) é uma técnica de separação e análise de misturas de substâncias voláteis que se baseia na distribuição das substâncias da amostra entre a fase estacionária e a fase móvel (ROSE, 1959). A amostra é introduzida no injetor, afim de se encontrar numa câmara aquecida denominada vaporizador, onde encontrasse temperatura acima dos pontos de ebulição, para a vaporização dos compostos que se pretendem analisar. Após a passagem pela câmara de vaporização a amostra em análise passa pela fase estacionária “arrastada” pela fase móvel onde ocorre a separação dos componentes da mistura. A fase móvel é um gás quimicamente inerte que tem como função arrastar os componentes da mistura a analisar; os gases mais utilizados são N<sub>2</sub>, He, Ar e H<sub>2</sub>. A Fase Estacionaria está presente em colunas cromatográficas, nessa fase ocorre a separação da mistura devido as diferentes afinidades que o composto presente na fase estacionaria interage com cada componente de uma mistura, diante disso os componentes são separados em tempos distintos, a temperatura da coluna cromatográfica é controlada, melhorando a separação dos constituintes da amostra. Os componentes separados saem da coluna juntamente com o gás de arraste a tempos diferentes e passam por um detector que traduz uma propriedade física num sinal que indica e quantifica os componentes separados pela coluna, ou seja, gera um sinal elétrico proporcional a quantidade

de substâncias separadas. A detecção e o registro do sinal ao longo do tempo em que a amostra é inserida até atingir o detector é definido como cromatograma. (FERNANDES, 2010).

A CG é uma técnica que apresenta alto poder de resolução, possibilitando a análise de várias substâncias em uma mesma amostra. Dependendo da substância a ser analisada e do tipo de detector empregado pode-se detectar cerca de  $10^{-12}$ g do composto por  $\text{mL}^{-1}$ , não necessitando de quantidades significativas para que a amostra seja analisada. A única limitação deste método é a necessidade de que a amostra seja volátil ou termicamente estável (PERES, 2002).

Esta técnica tem passado por vários processos de desenvolvimento e utilizada em diversos meios para a evolução da ciência. A química é a área mais atuante no desenvolvimento de métodos cromatográficos, mas outras áreas da ciência também utilizam dessas técnicas, devido à alta precisão e confiabilidade dessas técnicas, elas são muito utilizadas na detecção ou separação de substâncias que estão em pequenas quantidades em uma mistura (GOULART, 2012). Pode ser utilizada para dosar compostos em alimentos (GILBERT-LÓPEZ et al. 2012; XU et al., 2012), no monitoramento de componentes tóxicos no meio ambiente (MARRIOTT et al., 2003) ou mesmo na indústria petroquímica (MÜHLEN et al., 2006).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) é uma combinação de duas ferramentas analíticas: a cromatografia gasosa e a espectrometria de massas para a confirmação da identidade dos componentes presente na mistura. O GC-MS consiste em um cromatógrafo com uma coluna capilar, e um meio para interação dos dois sistemas, uma câmara de ionização – onde os íons são formados - uma câmara mantida sob vácuo – onde ocorre a separação dos mesmos – e um sistema para detecção dos íons e interpretação de dados. Onde os íons formados são direcionados para o analisador, para promover sua separação de acordo com sua relação massa/carga ( $m/z$ ). Tal protocolo permite essa técnica a determinação da massa molecular relativa da estrutura da molécula. Um importante aspecto dos espectros obtidos é que eles são altamente reproduzíveis permitindo que os espectros de massas possam ser usados para a confirmação da identificação de compostos desconhecidos (SILVA, 2010).

Um espectro de massas é um gráfico contendo as massas dos fragmentos geralmente carregados positivamente (incluindo ou não o íon molecular) nas suas intensidades relativas (SILVERSTEIN et al., 2007).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP), na Universidade Federal do Tocantins (UFT), campus de Gurupi, Estado do Tocantins.

### 4.1 Criação *Achroia grisella*

Foram estabelecidas criações de manutenção de *A. Grisella*, a criação foi feita em uma sala climatizada com temperatura de 27-29 °C e praticamente sem luminosidade condições que são semelhantes as observadas em colmeias. Como alimento foram utilizadas dieta padronizada que podem ser observados na (Tabela 1). E dieta natural contendo pólen e favo de mel.

As lagartas foram coletadas no Município de Gurupi (11°74'67" S e 49°04'94" W) armazenada em frascos de polietileno juntamente com a dieta natural até atingirem a fase adulta, mariposas. Já na fase adulta, foram transferidas para uma caixa de polietileno (56 L) nas dimensões de 555 x 403 x 365 mm da marca Gran Box, adaptada para a criação dos insetos. Na lateral da caixa, por meio de uma abertura com tela de tecido, acrescentou-se um pote retangular de polietileno (2 L) com a mesma dieta inicial com adição da dieta padronizada. As mariposas inseriam seus ovos nos recipientes contendo as dietas, efetuando assim a oviposição.

Os recipientes eram trocados três vezes por semanas e armazenados em ambientes livre de luminosidades. Após 20 dias de crescimento as larvas foram removidas para potes transparentes de polipropileno da marca Copobras no volume de 500 mL, com abertura protegida por tela na tampa, a fim de garantir a passagem de oxigênio e evitar o aumento da umidade interna (Figura 2 (C)). Foi usado papel tolha da marca Scott para auxiliar na vedação dos potes. Posteriormente aos 41 dias, surgiram as primeiras mariposas de *A. grisella* nos potes transparentes, na qual são remanejadas para a gaiola de acasalamento e reiniciando o ciclo

**Tabela 1** - Dieta modificada para *Achroia grisella*.

Ingrediente	Quantidade
Cera de abelha	472 g
Leite em pó desnatado	96 g
Levedura de cerveja	188 g
Fubá de milho	385 g
Soja	160 g
Glicerina	416 g
Formaldeído 40%	1,5 mL
Água destilada	300 mL

**Figura 2** - Pote de plástico de 2 L com tampa perfurada para criação de *Achroia grisella* (A); Estante de madeira com potes plásticos para criação das *Achroia grisella* (B); Pote transparente com abertura para larvas de *Achroia grisella* (C); Dieta com larvas de *Achroia grisella* (D).



(A)



(B)



(C)



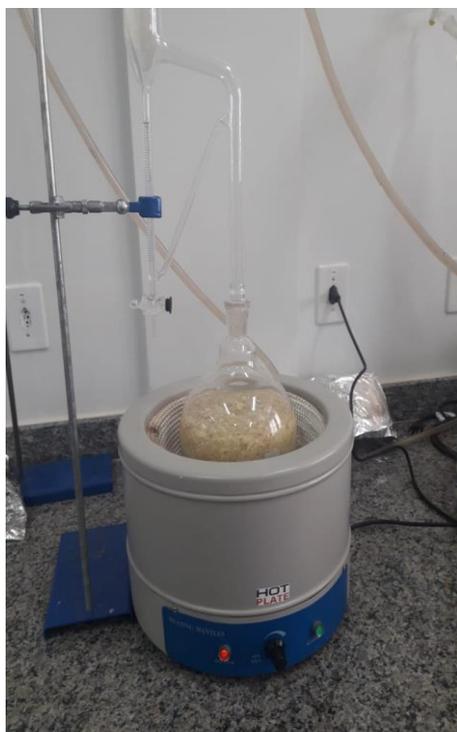
(D)

## 4.2 Obtenção do óleo essencial de *Zingiber officinale*

O material *Z. officinale*, foi adquirido no setor de hortifrutigranjeiros do supermercado Quarteto, localizado no município de Gurupi-TO entre os meses de agosto e setembro do ano de 2018. Após a aquisição, o material foi levado para o laboratório de reatividade de compostos orgânicos, foi triturado com o auxílio do liquidificador, e em seguida foi introduzido no balão de fundo redondo, e adicionado água destilada.

Para a extração do óleo essencial utilizou-se método por hidrodestilação em Aparatos de Clevenger. O balão foi acoplado ao aparelho sob a manta de aquecimento. O método de extração foi feito aproximadamente em 4 horas, utilizando 1000 g do rizoma do gengibre triturado e 800 mL de água destilada e no final do processo o óleo obtido foi coletado, armazenado em um frasco de vidro vedado e rotulado, guardado na geladeira.

**Figura 3-** Extração do óleo essencial de gengibre pelo método hidrodestilação (A), A decantação do óleo de *Zingiber officinale* obtido, após término da extração (B).



(A)



(B)

### 4.3 Análise da composição química do óleo essencial

A investigação da composição química do óleo essencial de *Z. officinale* foi realizada por meio de análise cromatográfica gasosa (CG), na central analítica da Universidade de São Paulo (USP) utilizando um instrumento Chemito 8510 GC (Chemito Technologies Ltd, Mumbai, India Pvt.) equipado com um processador de dados. A separação dos componentes da amostra foi feita a partir de uma coluna capilar de grande calibre BP-5 (30 m x 0,53 mm i.d., 1,0 mm de espessura de filme). Injetou-se 0,03 mL o óleo essencial através de uma seringa Hamilton de GC, com uma tampa de 1,0 mL. O hidrogênio foi utilizado como gás transportador, com vazão de 5 mL/ min e 20 psi de pressão de entrada. A temperatura do forno do CG foi programada para 70°C a 210°C, com rampa de aquecimento a uma velocidade de 2,5 ° C/min, com um tempo de retenção final de 5 minutos. As temperaturas do injetor e do detector (FID) foram mantidos a 230°C. Executou-se a análise de CG-MS com um rastreo DSQ MS, no equipamento, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, EUA, usando uma coluna capilar de BP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm), o gás de arraste utilizado foi o hélio a uma taxa de 1 mL/min de fluxo; divisão 1:20. A temperatura da coluna foi programada para 65°C a 210°C (10 min de prensão) a 3°C/min. Os espectros de massa foram obtidos no intervalo de 40-650 amu, operando a 70 V, a fonte foi mantida à temperatura de 200°C.

Os dados obtidos do espectro de massa foram comparados por computadores com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados GC-MS, permitindo assim, a identificação dos componentes presentes no óleo essencial (AGUIAR et al., 2015).

### 4.4 Determinação da CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub>, CL<sub>75</sub> e CL<sub>95</sub> do óleo essencial de *Zingiber officinale* para *Achroia grisella* e *Apis mellifera*.

A condução dos bioensaios de concentração letal (CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub>, CL<sub>75</sub> e CL<sub>95</sub>) foi possível por meio de bioensaios seletivos realizados anteriormente, onde se obteve uma faixa de mortalidade para as larvas da *A. grisella*. Os recipientes utilizados para o bioensaio foram copos de PET de 30 mL, revestidos internamente com papel filtro de mesmo diâmetro e umedecidos com o óleo essencial de *Z. officinale* seguido pela adição de água e solvente orgânico dimetilsulfóxido (DMSO) formando uma solução de 300 µL. Para os biotestes com *A. grisella* foram utilizadas 20 larvas de 4º instar para cada concentração. A seleção do instar foi realizada pelo tamanho de cada larva. As concentrações de óleo essencial eram do controle com DMSO e água; 0,03; 0,05; 0,08; 0,13; 0,36; 0,60 e 1,0 mg/cm<sup>2</sup>. Os copos receberam papel toalha entre

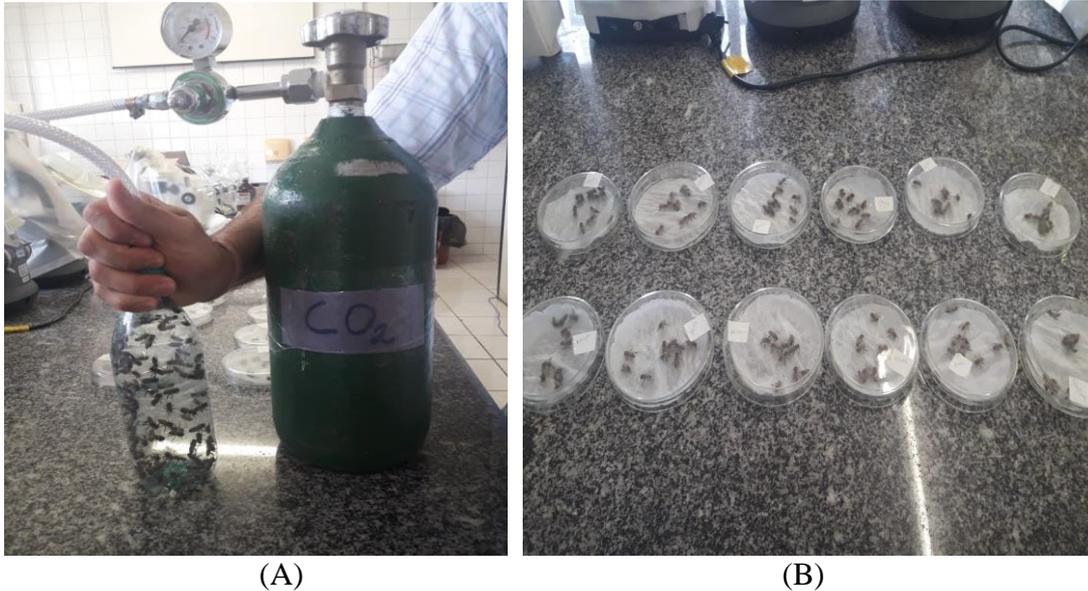
a tampa e o recipiente. As tampas foram perfuradas para garantir a passagem de ar. Todos os recipientes permaneceram na sala climatizada do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP) durante o bioensaio. Com 12 horas de exposição, foi observada a mortalidade de larvas em contato com o papel filtro, permitindo-se determinar a  $CL_{25}$ ,  $CL_{50}$ ,  $CL_{75}$  e  $CL_{95}$ .

Foram realizados bioensaios com *A. mellifera* em placas de Petri (Figura 5). Para facilitar a inserção das abelhas nas placas, utilizou-se  $CO_2$  como efeito anestésico das abelhas. No interior das placas foram colocados papéis filtros com solução do óleo essencial de *Z. officinale*, cada qual com suas respectivas concentrações. Cada placa recebeu 10 abelhas, cada teste para as concentrações foi realizado em duplicatas. As concentrações de óleo utilizadas foram do controle com DMSO e água; 0,007; 0,014; 0,03; 0,09; 0,16;  $mg/cm^2$ . Foi utilizado o software Polo Plus para a análise de Probit, segundo Finney (1971), dos dados de mortalidade obtidos da concentração-resposta, gerando por consequência, as curvas de concentração letal  $CL_{25}$ ,  $CL_{50}$ ,  $CL_{75}$  e  $CL_{95}$ .

**Figura 4** - Metodologia usada no bioensaio com larvas de *Achroia grisella* do 4º instar.



**Figura 5** - (A) Uso do CO<sub>2</sub> com fins anestésicos em insetos. (B) Metodologia usada no teste com *Apis mellifera* (adultos) submetidas a diferentes concentrações.



#### 4.5 Testes do tempo letal (TL<sub>50</sub>) do óleo essencial de *Zingiber officinale* para *Achroia grisella*.

O teste de tempo letal segue a mesma metodologia empregada no item 4.4. A figura 4 mostra os recipientes utilizados para o bioteste. As larvas de 4<sup>o</sup> instar foram avaliadas nas concentrações CL<sub>50</sub> obtidas pelo programa Oringin Pro 8, realizando a análise de sobrevivência por Kaplan Meier. Os dados de mortalidade foram coletados a cada 30 minutos nas primeiras 6 horas, posteriormente foram contabilizados de hora em hora até atingir 12 horas de exposição, em seguida dados de mortalidade passaram a ser coletados a cada 2 horas até atingir 24 horas de exposição, completando 1 dia completo. Do segundo dia ao quarto dia os dados foram coletados a cada 3 horas, posteriormente foram contabilizados a cada 4 horas até atingir 168 horas ou 7 dias de exposição para *A. grisella*.

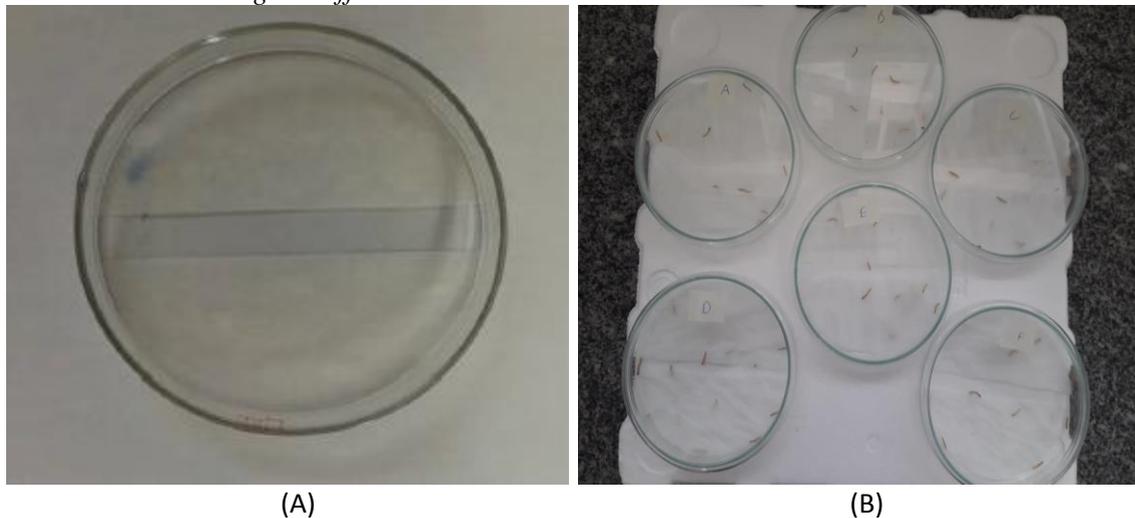
#### 4.6 Teste de repelência do óleo essencial de *Zingiber officinale* para *Achroia grisella* e *Apis mellifera*

##### 4.6.1 Larvas de *Achroia grisella*

O teste do efeito de repelência do óleo essencial de *Z. officinale* para larvas de *A. grisella* foi executado de acordo com metodologia desenvolvida por CHAUBEY (2007), onde foram

utilizadas placas de Petri (12 cm de diâmetro e 2 cm de altura) (Figura 6). Foi adaptado papel filtro com o diâmetro da placa Petri, e posteriormente, o papel foi dividido ao meio e espaçado, entre ambos, por 1,0 cm. Uma das metades recebeu 900  $\mu\text{L}$  de solução de DMSO com cada concentração de óleo essencial, enquanto a outra metade recebeu 900  $\mu\text{L}$  de solução de DMSO, na concentração de 1,6%. As concentrações do óleo essencial aplicado nos papéis em cada placa Petri foram do controle com DMSO e água; 0,03; 0,05; 0,08; 0,13; 0,36; 0,60 e 1,0  $\text{mg}/\text{cm}^2$ . Efetuadas as aplicações dos respectivos tratamentos sobre os papéis foram colocadas 10 larvas do 4º instar de *A. grisella* no meio de cada placa, os testes foram realizados em quadruplicadas. Os bioensaios foram observados durante 3 horas avaliando-se os números de larvas presentes na área tratada e não tratada. Os valores médios foram comparados pelo Teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%, pelo site do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (CCA-UFSCAR). Os gráficos foram reproduzidos pelo software Sigma Plot.

**Figura 6** - (A) Metodologia utilizada no teste de repelência em Placa de Petri (12 cm de diâmetro e 2 cm de largura). (B) Larvas de *Achroia grisella* do 4º instar submetidas à diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale*.



#### 4.6.2. Insetos adultos de *Apis mellifera*

O teste do efeito de repelência do óleo essencial de *Z. officinale* para adultos de *A. mellifera* foi realizado seguindo os passos descritos no item 4.6.1 em quadruplicadas, com as mesmas concentrações de óleo essencial de *Z. officinale* apresentadas e algumas alterações, tais como: o procedimento foi realizado e potes interligados entre si e foram utilizadas 20 abelhas

para cada concentração. Após o período de 4 horas de exposição, avaliou-se o número de abelhas presentes em cada compartimento de área tratada e não tratada. Os valores médios foram comparados pelo Teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%, pelo site do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (CCA-UFSCAR). Os gráficos foram reproduzidos pelo software Sigma Plot.

**Figura 7-** Metodologia usada no teste de repelência utilizando 2 potes plásticos interligados por canos de silicone devidamente vedados e com aberturas superiores de tela de tecido com insetos adultos de *Apis mellifera* submetido à diferentes concentrações de óleo essencial de *Zingiber officinale*.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Criação de *Achroia grisella*

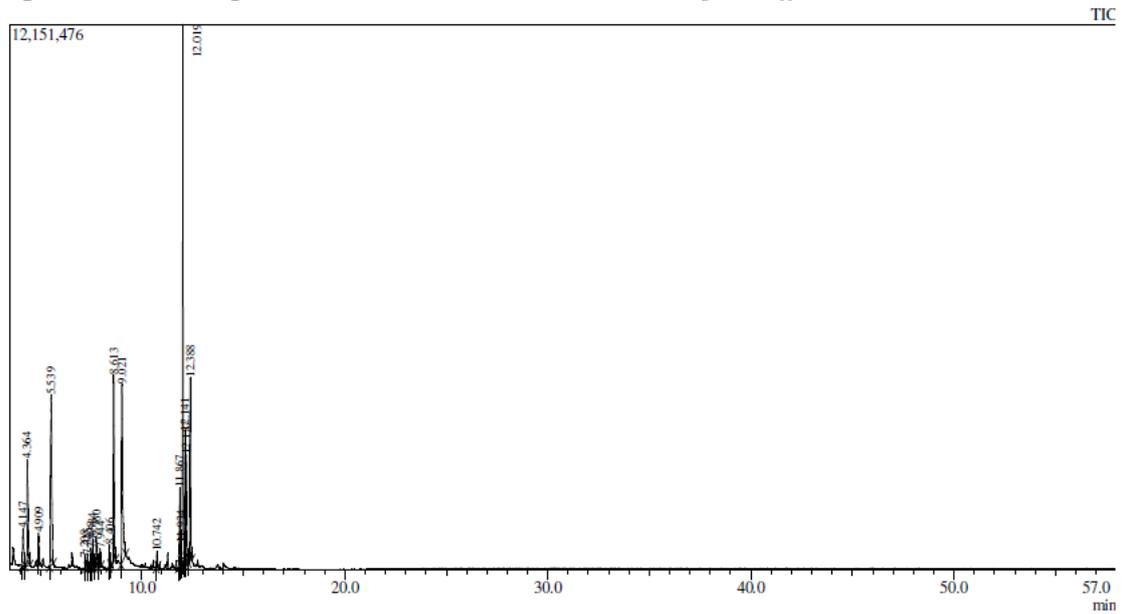
A criação foi iniciada e mantida no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP), na Universidade Federal do Tocantins (UFT), campus de Gurupi.

### 5.2 Obtenção do óleo essencial da *Zingiber officinale*

A extração do óleo essencial da planta de *Z. officinale* ocorreu pelo processo de hidrodestilação utilizando o aparato de Clevenger com balão volumétrico de 2 L com aproximadamente 800 mL de água, permitindo a obtenção em média de 1,2 mL para cada ciclo de extração com 1Kg do rizoma triturado, realizados em um período de 3 horas. Segundo Mouchrek Filho (2000), um dos parâmetros físicos químicos mais estudados pela indústria de essências é o tempo de extração do óleo essencial, no que se refere à qualidade, pois está relacionada a perda de componentes voláteis presentes no óleo essencial de plantar e à natureza econômica, com um menor tempo de produção, menos gastos. Contudo, uma destilação longa pode conduzir a um produto contendo predominantemente constituintes não voláteis ou menos voláteis, e com a presença das melhores características; com isso, uma extração prolongada encarece o produto e também pode sobrecarregá-lo de compostos de aromas indesejáveis (CHAAR, 2000). Segundo Özcan e Chalchat (2002), a variação sazonal e o local de coleta também são fatores importantes para diferentes variedades de plantas com relação aos rendimentos de extração encontrados na literatura.

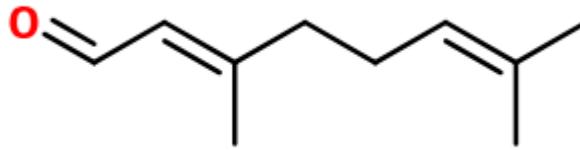
### 5.3 Análise de composição química do óleo essencial de *Zingiber Officinale*

O óleo essencial extraído a partir das folhas de *Z. officinale* foi armazenado em freezer. Em seguida, foi enviado para análise em CG-MS, obtendo-se o cromatograma apresentado na Figura 8, propiciando a determinação da composição qualitativa e quantitativa. Foram identificados como compostos majoritários: Octadienal (21,33 %), 1,3-Ciclohexadieno (19,63 %) e Terpeneol (14,31 %), conforme a Tabela 2.

**Figura 8** - Cromatograma CG-FID do óleo essencial de *Zingiber officinale*.**Tabela 2** - Composição Química, Concentração (%) do óleo essencial da *Zingiber officinale*

Pico	R.Time (min.)	Componente	Composição (%)
1	4,150	$\alpha$ - Pineno	2,79
2	4,367	Cafeno	7,89
3	4,908	$\beta$ - Mirceno	6,35
4	5,542	Terpineol	14,31
5	7,208	Heptadieno	0,75
6	7,325	Citronelal	0,68
7	7,584	Endo-Bornel	1,27
8	7,760	Limoneno	1,60
9	7,942	$\alpha$ -Terpieneol	0,84
10	8,408	Citronelol	1,04
11	9,025	2,6-Octadienal	21,33
12	10,742	Ciclohexano	8,57
13	11,867	Benzeno	3,87
14	11,933	Germacreno	0,94
15	12,017	1,3-Ciclohexadieno	19,63
16	12,142	$\alpha$ - Farneceno	8,17

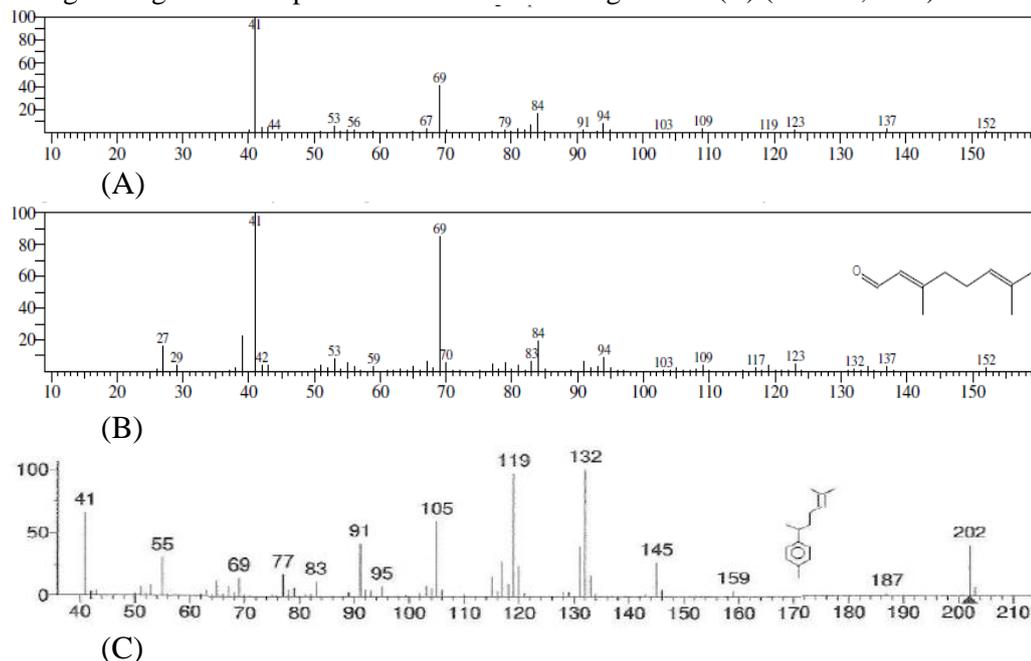
**Figura 9** - Estrutura do 2,6-octadienal (Composto mais abundante).



Alguns resultados encontrados na presente pesquisa quanto à composição química do óleo essencial do rizoma do gengibre revelaram divergência ao componente majoritário, e semelhança em outros componentes presente no óleo estudado, como o estudo realizado por Onyenekwe e Hashimoto (1999) que extraíram óleo essencial do *Z. officinale* e observaram na composição química do óleo o zingibereno como componente majoritário com 29,54%, e outros compostos como o  $\alpha$ -pineno, canfeno e também foram identificados na composição do óleo em estudo. Yu et al., (2007) identificaram cinquenta e quatro constituintes do óleo essencial de *Z. officinale* pela cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, entre eles foi confirmada a presença do canfeno e o  $\alpha$ -pineno.

Em São Luiz do Maranhão, Gomes *et al.* (2016) extraíram óleo de folhas de *Z. officinale*, e observaram na composição química do óleo do município que os constituintes principais foram  $\alpha$ -zingibereno com 27,14%, seguido pelo geranial (14,06%), nerolidol (13,51%), neral (9,64%), sesquifelandreno com 9,45% e o sabineno com (5,23%).

**Figura 10** - Fragmentograma do óleo essencial de gengibre referente ao composto majoritário atribuído ao pico 13 (2,6-octadienal) (A), com a sua proposta de identificação sugerida pela espectroteca NIST (B), e um fragmentograma da espectroteca atribuído ao zingibereno (C) (SILVA,2012).



Comparando os fragmentogramas na Figura 10, é possível observar as diferenças nos picos referentes ao componente majoritário encontrado em diferentes trabalhos. O fragmentograma do óleo essencial de gengibre (Figura 10 - A) é compatível com a proposta de identificação do 2,6-octadienal (Figura 10 - B), confirmando o mesmo como produto majoritário do presente trabalho. Contudo, o principal componente do óleo essencial de *Z. officinale* analisado é diferente do fragmentograma da espectroteca atribuído ao zingibereno (Figura 10 - C), evidenciado nos estudos realizados por Silva, 2012. Demonstrando que o componente majoritário do óleo em estudo não é o zingibereno. O óleo extraído obedeceu a protocolos utilizados na literatura por hidrodestilação, e as amostras foram encaminhadas para análise com 24h a extração, descartando assim, possíveis reações indesejáveis.

Variações quantitativas e qualitativas de óleo essencial, em uma mesma espécie de planta, podem variar em função do clima, idade da planta, etapa do ciclo vegetativo, do órgão do qual foi extraído, composição do solo e técnica empregada para extração (SIMÕES et al, 2004).

#### 5.4 Determinação da CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub>, CL<sub>75</sub> e CL<sub>95</sub> do óleo essencial de *Zingiber officinale* para *Achroia grisella* e *Apis mellifera*

A ação do óleo essencial de *Z. officinale* contra o *A. grisella* foi verificada em dois períodos, 6 e 12 horas de contato com o bioinseticidas, e apresentados na Tabela 3 e Tabela 4,

respectivamente. Para as 6 primeiras horas de exposição, foram obtidos valores de CL<sub>25</sub> de 0,194 (0,107-0,290) mg/cm<sup>2</sup>, CL<sub>50</sub> de 0,392 (0,261-0,650) mg/cm<sup>2</sup>, CL<sub>75</sub> de 0,791 (0,505-1,843) mg/cm<sup>2</sup> e CL<sub>95</sub> de 2,177 (1,116-9,664) mg/cm<sup>2</sup>. Os valores obtidos para 12 horas foram de CL<sub>25</sub> de 0,064 (0,027-0,104) mg/cm<sup>2</sup>, CL<sub>50</sub> de 0,161 (0,098-0,268) mg/cm<sup>2</sup>, CL<sub>75</sub> de 0,402 (0,245-0,992) mg/cm<sup>2</sup> e CL<sub>95</sub> de 1,507 (0,693-8,597) mg/cm<sup>2</sup>, valores inferiores a 6h, como era esperado, pois o tempo de exposição foi dobrado.

Alguns testes aplicáveis em frequências mais altas são feitos para monitoramento da resistência de insetos aos inseticidas é realizado, com mais frequência através de comparações de CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub>, ou da inclinação das retas de respostas a doses de inseticidas, entre populações de campo e populações em laboratório, porque não apresentam sensibilidade a pequenas mudanças na frequência da resistência.

Durante os bioensaios com mortalidade, notou-se que as larvas apresentaram sintomas de convulsões e paralisia temporária, seguida por morte, o que indica intoxicação aguda. Segundo Ennan et al. (1998) esse fenômeno é conhecido como efeito “knock-down”, onde terpenoides e fenilpropanoides, presentes no óleo essencial, bloqueiam neurotransmissores como a octopamina, substância com efeito similar ao da adrenalina nos vertebrados.

**Tabela 3-** Concentração resposta óleo *Zingiber officinale* para 6 horas para *Achroia grisella*.

	CL (mg/cm <sup>2</sup> )	IF(CL <sub>50</sub> )	Slope ± SEM	χ <sup>2</sup>	P	GL
CL <sub>25</sub>	0,194	0,107 – 0,290	2,908±0,470	3,145	0,524	6
CL <sub>50</sub>	0,392	0,261 – 0,650				
CL <sub>75</sub>	0,791	0,505 – 1,843				
CL <sub>95</sub>	2,177	1,116 – 9,664				

SEM = erro padrão da média; CL = concentração letal (μL/cm<sup>2</sup>); IF = intervalo de confiança a 95% de probabilidade; χ<sup>2</sup> = Qui quadrado; GL= Grau de Liberdade

**Tabela 4 -** Concentração resposta óleo *Zingiber officinale* para 12 horas para *Achroia grisella*.

	CL (mg/cm <sup>2</sup> )	IF(CL <sub>50</sub> )	Slope ± SEM	χ <sup>2</sup>	P	GL
CL <sub>25</sub>	0,064	0,027 – 0,104	1,692±0,361	2,327	0,465	5
CL <sub>50</sub>	0,161	0,098 – 0,268				
CL <sub>75</sub>	0,402	0,245 – 0,992				
CL <sub>95</sub>	1,507	0,693 – 8,597				

SEM = erro padrão da média; CL = concentração letal (μL/cm<sup>2</sup>); IF = intervalo de confiança a 95% de probabilidade; χ<sup>2</sup> = Qui quadrado; GL= Grau de Liberdade

Na literatura são encontrados alguns estudos com resultados referentes a concentrações letais de óleos essenciais de diferentes plantas em insetos distintos. Um relato é o de Volpato et al. (2018) que constatou a ação inseticida do óleo de *Z. officinale* contra os *Sitophilus oryzae* resultou na mortalidade de 95% sobre um período de 12 horas, utilizando concentração de 200 mg/cm<sup>3</sup>. Tal concentração é muito superior às apresentadas neste estudo, comprovando a ação bioinseticida sobre a *A. grisella*.

Já em relação a *Z. officinale* com *A. grisella*, em concentração letal, obteve-se para CL<sub>50</sub> de 0,392 e 0,161 mg/cm<sup>2</sup>, ou seja, necessita de 0,392 mg/cm<sup>2</sup> do óleo essencial de *Z. officinale* para a mortalidade de 50% da população de *A. grisella* em 6 horas e de 0,161 mg/cm<sup>2</sup> para a letalidade em 12 horas. Resultado inferior, comparado ao estudo realizado por FERREIRA et al, 2017 que avaliou o potencial de uso do óleo essencial de *Siparuna guianensis* para controle de traças da cera e chegou a um resultado de CL<sub>50</sub> de 0,26 µg/cm<sup>2</sup> em um prazo de 24 horas, ou seja, o óleo essencial de *Z. officinale* estudado no presente trabalho necessita de uma concentração maior para a mortalidade de 50% da população, 0,161 mg/cm<sup>2</sup>, embora tenha sido utilizado um tempo inferior. Porém a planta *Siparuna guianensis* não é cultivada, diferentemente da *Z. officinale*, que é cultivada em todo território nacional, e seu rizoma comercializado nos mais diversos mercados municipais.

O teste realizado na abelha (*A. mellifera*) determina se este bioinseticida é seletivo para este inseto, esta informação é importante para determinar a estratégias de controle na colmeia. Avaliando a ação toxica, esperando que combata a inseto praga sem comprometer as atividades das abelhas na colmeia (COSTA & OLIVEIRA, 2005). As abelhas operárias realizam a manutenção e proteção da colmeia contra as traças da cera e outros tipos de pragas, contudo no período chuvoso a precipitação contínua de água promove a mortalidade de muitas abelhas, reduzindo consideravelmente a população e favorecendo a proliferação de insetos-praga na colmeia. Assim sendo, o inseticida precisa ser inócuo para as abelhas, que são responsáveis pela manutenção e proteção da colmeia (COSTA & OLIVEIRA, 2005).

Os bioensaios para determinação da concentração letal nas abelhas foram realizados em placas Petri, com 10 indivíduos. A ação do óleo essencial de *Z. officinale* contra a *A. mellifera* está apresentado na Tabela 5, com valores de CL<sub>50</sub> de 0,080 (0,047-0,117) mg/cm<sup>2</sup> e CL<sub>95</sub> de 0,740 (0,396-2,927) mg/cm<sup>2</sup>.

**Tabela 5** - Concentração resposta óleo essencial de *Zingiber officinale* para as abelhas

	CL (mg/cm <sup>2</sup> )	IF(CL <sub>50</sub> )	Slope ± SEM	χ <sup>2</sup>	P	GL
CL <sub>50</sub>	0,080	0,047– 0,117	1,705±0,358	2,533	0,844	3
CL <sub>95</sub>	0,740	0,396 – 2,927				

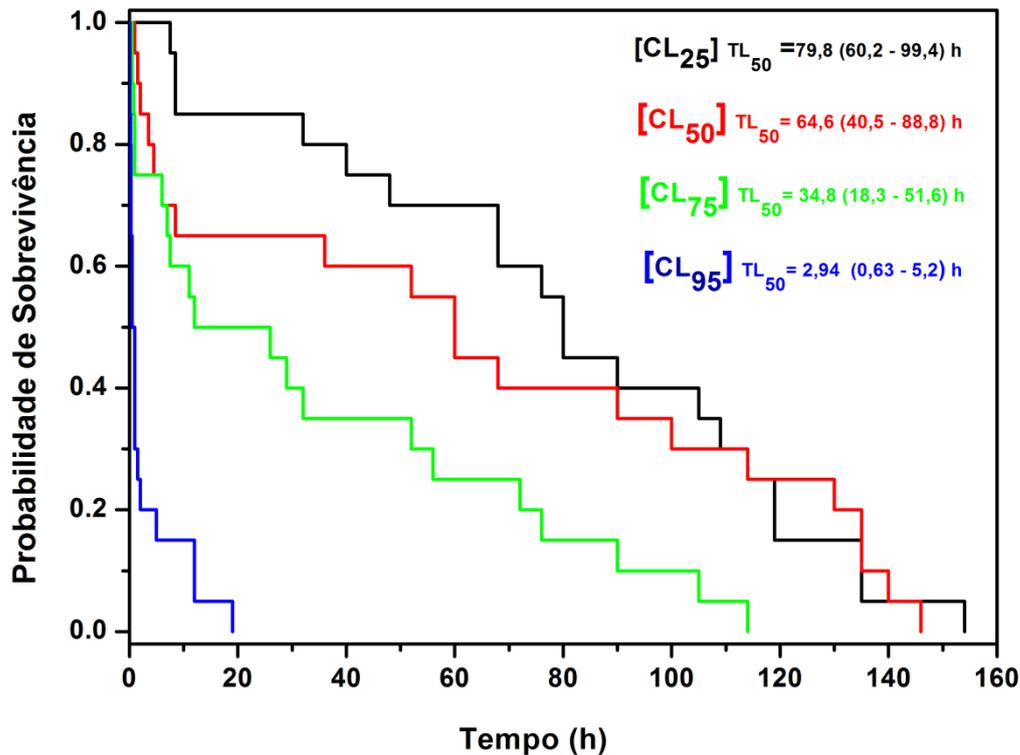
SEM = erro padrão da média; CL = concentração letal (μL/cm<sup>2</sup>); IF = intervalo de confiança a 95% de probabilidade; χ<sup>2</sup> = Qui quadrado; GL= Grau de Liberdade

Os resultados mostrados na Tabela 5 apresenta alta toxicidade para as abelhas, demonstrando que as abelhas são mais suscetíveis ao óleo essencial que a praga. Contudo o óleo de *Z. officinale* apesar de ser natural, também causa danos as abelhas operárias, levando a sua mortalidade, com isso o bioinseticidas a base do óleo essencial de *Z. officinale* não deve ser pulverizado diretamente na comédia, por ele não ser seletivo para as abelhas. Porém, o bioinsetida apresenta potencial para ser utilizado nos favos a serem armazenados no período de entressafra. Os favos são armazenados para o aumento da produção de mel, sendo que o tempo gasto pelas abelhas para construir os favos, é destinado a produção de mel, quando estes favos são armazenados e utilizados na próxima safra. Atualmente o controle destes favos armazenados é realizado com inseticidas sintéticos, que causam danos para os apicultores e contaminam os produtos finais. Utilizando o óleo essencial de *Z. officinale* pode-se realizar o controle sem comprometer a qualidade do produto final, nem o apicultor, por não apresentar toxicidade para mamíferos.

### 5.5 Determinação da TL<sub>50</sub> do óleo essencial de *Zingiber officinale* para *Achroia grisella*.

O tempo letal foi estimado através da curva de sobrevivência apresentada na Figura 11. Os valores de TL<sub>50</sub> obtidos para a CL<sub>25</sub> foi de TL<sub>50</sub> = 79,8 (60,2 – 99,4) h, para a concentração correspondendo a CL<sub>50</sub>, TL<sub>50</sub> = 64,6 (40,5 – 88,8) h; a concentração de CL<sub>75</sub> foi TL<sub>50</sub> = 34,8 (18,3 – 51,6) h, para a concentração correspondendo a CL<sub>95</sub>, TL<sub>50</sub> = 2,94 (0,63 – 5,2) h, (teste de long-rank: χ<sup>2</sup>= 63,1; GL=3; P <0,0001).

**Figura 11** - Gráfico de Sobrevivência da *Achroia grisella* de 4º instar.



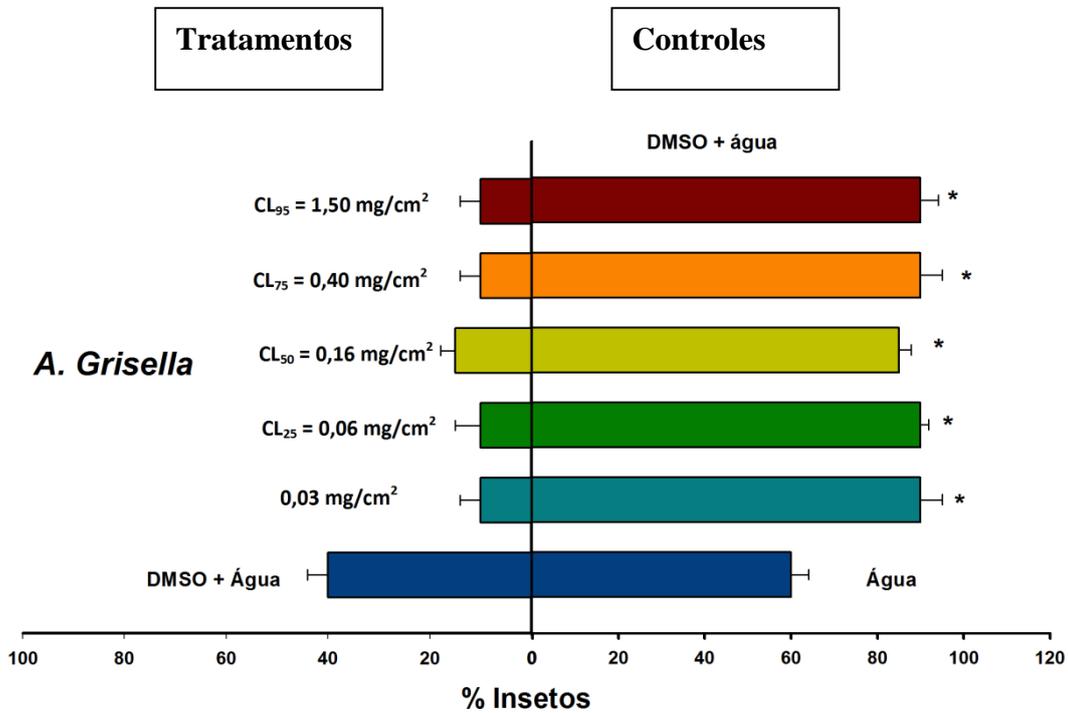
Apenas um trabalho foi encontrado com dados de tempo letal na literatura para *A. grisella* impossibilitou a comparação com os dados aqui explanados. Contudo, Ferreira et al. (2017) encontrou valores diferentes para o controle de *A. grisella* utilizando óleo essencial de *Siparuna guianensis* (LT<sub>50</sub> = 1,3 [0,9–1,7] h). As divergências nos valores podem estar relacionadas as concentrações usadas nos bioensaios, no estudo para o controle a base de *S. guianensis* utilizou se concentrações de 0,38 µg/cm<sup>2</sup>, já no presente estudo a base de *Z. officinale* foi utilizada concentrações maiores, de 0,16 mg/cm<sup>2</sup>.

### 5.6 Teste de repelência do óleo essencial de *Zingiber officinale* para *Achroia grisella* e *Apis mellifera*

Os bioensaios realizados comprovaram a ação tóxica do óleo essencial de *Z. officinale* contra este insetos-praga. Outro parâmetro de grande relevância para o controle biológico de pragas é a ação repelente, que tem por propósito espantar as larvas e os insetos adultos, evitando a ovoposição e o reinício do ciclo na colmeia. Os tratamentos realizados com o óleo em larvas de *A. grisella* (Figura 12) apresentaram cerca de 90% de repelência, segundo o teste de Tukey, os tratamentos não apresentam diferenças significativas, uma vez que as várias concentrações apontaram o mesmo valor estatisticamente, provando que uma pequena quantidade de óleo já

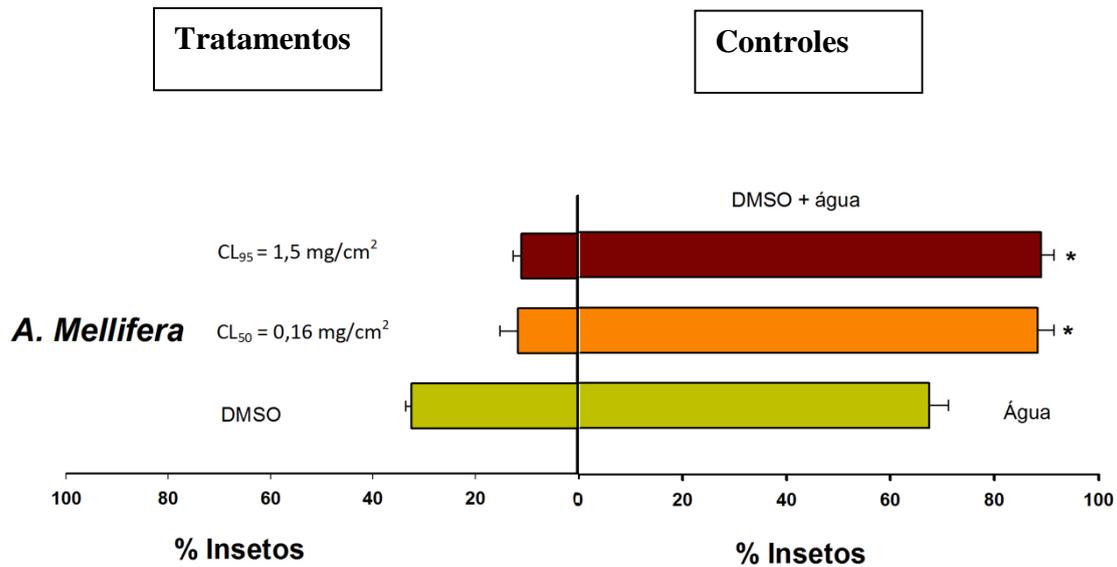
é o suficiente para ter um efeito repelente. Entretanto o controle com DMSO (cerca de 40%) apresentou maior repelência que o controle com apenas água (60%).

**Figura 12** - Atividade repelente do óleo de *Zingiber officinale* sobre adultos de *Achoria grisella*.



O teste de repelência realizado em insetos adultos de *A. mellifera* está representado na figura 13. A ação repelente é percebida sobre a abelha, onde estatisticamente, os valores apresentaram semelhança aos dois tratamentos realizados com o óleo. O resultado fica a desejar pois impossibilita a utilização do óleo na colmeia, visto que o objetivo é repelir os insetos-praga e não as abelhas, porém o bioinseticida elaborado no presente estudo pode ser aplicado no armazenamento dos favos gerados na colmeia, possibilitando a utilização deles na próxima safra.

**Figura 13** - Atividade repelente do óleo de *Zingiber officinale* sobre adultos de *Apis mellifera*.



Os resultados discutidos sobre a ação repelente de óleo de *Z. officinale* sobre as mariposas de *A. grisella* são considerados positivos, em razão de que os insetos detectam a presença do óleo com o olfato e fogem, evitando assim, o contato com o óleo em seu local de ação (JAYASEKARA et al., 2005). O ambiente exposto a inseticidas altera os mecanismos comportamentais, por causa das pressões seletivas, permitindo que o inseto reaja a fim de escapar dos efeitos letais destes compostos. Ao entrar em contato com doses inferiores à sua mortalidade, esses insetos aprendem a fugirem e se defenderem dessa ameaça. Além disso, existem os estímulos independentes, que possuem comportamento padrão, na qual o inseto não precisa se expor ao óleo para estimular sua necessidade de fuga, frente a substâncias com poder repelente (LOCKWOOD et al., 1984).

## 5 CONCLUSÃO

A análise da composição química do óleo essencial de *Z. officinale* por meio de cromatografia gasosa revelou como componente majoritário o 2,6-octadienal, 21,33%. Os bioensaios demonstraram toxicidade com atividade inseticida e repelente contra larvas de 4º instar de *A. grisella*. Os bioensaios também demonstraram toxicidade causando mortalidade e repelência de *A. mellifera*, diante disso não foi encontrado uma concentração que permite repelir e a matar as pragas sem comprometer a presença das abelhas na colmeia. O uso do óleo essencial de *Z. officinale* demonstrou ser promissor como inseticida e repelente para a espécie *A. grisella*, e podendo o mesmo ser aplicado nos favos a serem armazenados no período de entressafra do apiário e fazer o controle contra as traças de cera prevenindo os produtos gerados no apiário em seu armazenamento até a distribuição para o consumidor. Por ser um bioinseticida natural, podem ser os substitutos dos inseticidas sintéticos, que causam danos para os apicultores e contaminam o produto final, já o óleo essencial de *Z. officinale* pode-se realizar o controle sem comprometer a qualidade do produto final, por não apresentar toxicidade para mamíferos.

## 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, D.L. **Pest and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera* L.) in Fiji.** Journal of Apicultural Research, New Zealand, v. 29, n. 1, p.53-59, 1990.

APACAME. **A traça da cera *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) EM FAVOS DE *Apis mellifera* Linnaeus (1758) (Hymenoptera: Apidae)-NOÇÕES GERAIS.** Obtido de Apacame: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/89/artigo2.html>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

BAMBARA, S.B. & AMBROSE, J.T. 1981. **The parasites of the greater wax moth, *Galleria mellonella*, observed in North Carolina.** American Bee Journal 121 (2): 104-105.

BARNES, R.S.K.; CALOW, P.; OLIVE, P.J.W.; GOLDING, D.W.; SPICER, J.I. **Os Invertebrados.** São Paulo: Atheneu Editora, 2º ed., 2008.

BERG, J. M. T. E LUBERT, J. **Bioquímica.** 6.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p. 2008.

BIASI, L.A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial.** Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda. 2009.

BOLLHALDER, F. **Trichogramma for wax moth control.** American-Bee-Journal, Switzerland, v. 139, n. 9, p.711-712, 1999.

BRAITHWAITE, A.; SMITH, F. J. **Chromatographic Methods.** 5. ed., New York: Blackie academic & Professional, 1996. 559p.

BRITISH HERBAL MEDICINE ASSOCIATION. **British Herbal Pharmacopoeia.** London, p. 239-240, 1983.

BURGES, H. D.; BAILEY, L. **Control of the greater and lesser wax moths (*Galleria mellonella* and *Achroia grisella*) with *Bacillus thuringiensis*.** Journal of invertebrate Pathology, v. 11, n.1, 184-195, 1968.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F., MARTINEZ, N.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. **Steam distillation modeling for essential oil extraction process**. *Industrial Crops and Products*, v. 29, p. 171-176, 2009.

CCA- UFSCAR Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos. **Teste de Tukey**. Disponível em: <<https://www.cca.ufscar.br/pt-br>>. Acesso em 20 de novembro de 2018.

CHAAR, J. S. **Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie Aniba duckei Kostermans**. 2000. 150 p. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, São Carlos, 2000.

CHARRIÈRE, J. D.; IMDORF, A. Protection of honey combs from wax moth damage. **American Bee Journal, Switzerland**, v. 139, n. 8, p. 627-630, 1999.

CHU, S. S. et al. **Composition of essential oil of Chinese Chenopodium ambrosioides and insecticidal activity against maize weevil: Sitophilus zeamais**. *Pest Management Science*, v.67, p. 714 - 718, 2011.

CICCO, L. H. S. de; **As abelhas e a história**. Disponível em: <http://www.saudeanimal.com.br/abelha0.htm>, acessado em: 10/10/2018.

CLEMENTE, S. et al. **Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects**. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*, v.29, p.421-426, 2003.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 151p.

COSTA, P.S.C.C.; OLIVEIRA, S.O. **Manual Prático de criação de Abelha**. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 22° ed, 2005.

COUTO, R. H.N., COUTO, L. A. **Apicultura: Manejo e produtos**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 154p.

COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: Manejo e produtos**. Jaboticabal, Funep, 2002. p.191.

CRISTOBAL, V.L. 1937. **Novedades Entomologicas: Apanteles galleriae**. Labor C. Est. Univ. Nac. La Plata 20: p.1-8.

CRONQUIST, A. **Introducción a la Botánica**. 2 ed. Ed. Continental, México. 1977.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T. & YEO, P. F. **The families of the Monocotyledons** - Structure, evolution, and taxonomy. Springer-Verlag, Berlin. 1985.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The Families of the Monocotyledons**. New York: Springer, p. 360-364, 1985.

DIAS, L. F. **Controle biológico da traça da cera**. Informativo Zum Zum, v. 35, p. 7, 2001.

ELLIS, J.D.; GRAHAM, J.R.; MORTENSEN, A. **Standard methods for wax moth research**. Journal Of Apicultural Research, v. 52, n. 1, p.1-17, jan. 2013.

ENNAN, E.; BEIGLER, M.; KENDE, A. **Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effects on octopamine receptors**. In: International Symposium on Plant Protection. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Gent, Belgium, 1998.

ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J.; HIGGS, S. **Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice**. Chichester: Wiley, 1993. 311 p.

FERNANDES, S.S.M. **Desenvolvimento de um método de análise de Pesticidas na Indústria Vitivinícola**. Dissertação de Mestrado em Química Área de Especialização em Técnicas de Caracterização e Análise Química, 2010.

FERREIRA, T.P. et al - **Potential use of Negramina (Siparuna guianensis Aubl.) essential oil to control wax moths and its selectivity in relation to honey bees**. Industrial Crops & Products. 2017.

FRENCH-CONSTANT, R.H. & R.T. ROUSH. **Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays**. In: R.T. Roush & B.E. Tabashnik (ed.), Pesticide resistance in arthropods. New York and London, Chapman and Hall, p. 303, p. 5-37, 1990.

GALLAI, N.; SALLES, J.M.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B.E. **Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline**. Ecological economics, 68: 810-821. 2009.

GIANNINI, T.C.; CORDEIRO, G.D.; FREITAS, B.M.; SARAIVA, A.M. **The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil**. Journal of economic entomology, 108: 1-9. 2015.

GILBERT-LÓPEZ, B.; GARCIA-REYES, J. F.; MOLINA-DIAZ, A. **Determination of fungicide residues in baby food by liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry.** Food Chemistry, Barking, v. 135, p. 780-786, 2012.

GOMES, P.R.B.; SILVA, A.L.S.; PINHEIRO, H.A.; CARVALHO, L.L.; LIMA, H.S.; SILVA, E.F.; SILVA, R.P.; LOUZEIRO, C.H.; OLIVEIRA, M.B.; FILHO, V.E.M. **Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale Roscoe* (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.18, n.2, supl. I, p.597-604, 2016.

GOULART, D.S. **Aplicações Das Técnicas De Cromatografia No Diagnóstico Toxicológico.** Programa de pós-graduação em ciência animal, 2012.

GUERRA, M. DE S. **Bionomia das traças de cera (*Galleria mellonella* L. e *Achroia grisella* F. Lepidoptera, Galleridae) no Município de Piracicaba São Paulo.** Dissertação de Mestrado ESALQ-USP 133 pp. 1973.

HALDER, J.; SRIVASTAVA, C.; DHINGRA, S.; DUREJA, P. **Effect of Essential Oils on Feeding, Survival, Growth and Development of Third Instar Larvae of *Helicoverpa armigera* Hubner.** National Academy Science Letters. V.35, n.4, p.271-276, 2012.

HALLIDAY, W. R. & BURNHAM, K. P. **Choosing the optimal diagnostic dose for monitoring insecticide resistance.** Journal of Economic Entomology. V.83, p. 1151-1159, 1990.

HARRIS, C Daniel. **Análise Química Quantitativa** 5ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005.

HARTMANN, T. **From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary etabolism.** *Phytochemistry*. v. 68, n° 22-24, p. 2831-2846, 2007.

IPBES - Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. **Summary for policymakers of the assessment report of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services on pollinators, pollination and food production.** Bonn, germany: secretariat of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services. 36p. Acesso em 18 setl. 2018.

JAYASSEKARA, T.K.; STEVENSON, P.C.; HALL, D.R. & BELMAIN, S.R. **Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain.** Journal of Chemical Ecology, v. 31, p. 303-313, 2005.

JOLY, A. B. **Botânica - Introdução à taxonomia vegetal.** Companhia Editora Nacional, São Paulo. 1993

JOLY, A. B. **Botânica**. 7. ed. São Paulo: Editora Nacional, p. 722-723, 1985.

KRESS, W. J.; PRINCE, L. M. & WILLIAMS, K. J. **The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data**. American Journal of Botany : 1682-1696. 2002.

LOCKWOOD, J. A.; SPARKS, T. C.; STORY, R. N. Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v. 30, p. 41-51. 1984.

LORENZI, H.; MATOS, A. F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

LUNA, M. **Curso on line de criação racionais de Jataís e Abelhas sem ferrão**. Disponível em: <http://www.brasil.terravista.pt/Claridade/3630/curso/cap1.htm> Acesso em: 21-09-2018.

MALAGODI-BRAGA, K. S. **Abelhas: por quê manejá-las para a polinização?** Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/80/abelhas2.htm>. Acesso em 22/09/2018.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Câmara Setorial do Mel: Apicultura Sustentável**. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras\\_setoriais/Mel\\_e\\_produtos\\_apicolas/36RO/ICA\\_36RO.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Mel_e_produtos_apicolas/36RO/ICA_36RO.pdf). Acessado em 10/12/2018>.

MARRIOTT, P. J.; HAGLUND, P.; ONG, R. C. Y. **A review of environmental toxicant analysis by using multidimensional gas chromatography and comprehensive GC**. Clinica Chimica Acta, Amsterdam, v. 328, p. 1-19, 2003.

MENDONÇA, P. C. **Caracterização e sequenciamento dos plasmídeos pMC1 e pMC2 de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* isolado T01 328**. 2002.

MONDAL, M.; KHALEQUZZAMAN, M. **Toxicity of essential oils against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae)**. Journal of Biosciences, v.14, p. 43-48, 2006.

MORSE, R.A. **Honey Bee Pests, Predators, and Diseases**. 1st ed Cornell Univ. Press p. 430. 1978.

MOUCHREK FILHO, V.E. **Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie *Pimenta dioica* Lindl.** 2000. 124p. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, São Carlos/SP, 2000.

MÜHLEN, C. V.; ZINI, C. A.; CARAMÃO, E. B.; MARRIOTT, P. J. **Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC).** Química Nova, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 765-775, 2006.

NATTUDURAI, G. et al., **Fumigant toxicity of volatile synthetic compounds and natural oils against red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae).** Journal of King Saud University – Science, v. 24, p.153-159, 2012.

NAVON, A. **Control of lepidopteran pests with *Bacillus thuringiensis*.** Crop Protection, Oxford, v. 19, p. 669-676, 2000.

OLIVEIRA, M.L.; CUNHA, J.A. **Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica.** Acta Amazônica, Manaus, 2005, p. 389-394.

ONYENEKWE, P.C. & HASHIMOTO, S. **The composition of the essential oil of dried Nigerian ginger (*Zingiber officinale* Roscoe).** Eur Food Res Technology. 209: 407- 410.1999.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J.B.; CAJAZEIRA, J. P. **Utilização de óleos essenciais na agricultura.** Journal of Biotechnology and Biodiversity, v. 4, p. 162-174, 2013.

ÖZCAN, M.; CHALCHAT, J.C. **Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey.** Czech Journal of Food Sciences, v. 20, n. 6, p. 223-228, 2002.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. **Plant products as fumigants for stored-product insect control.** Journal of Stored Products Research, v.44, p.126-135, 2008.

ROBARDS, K. et al. **Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits.** Food Chemistry, v.66, p.401-436, 1999.

RODAL, M.J.N. & SAMPAIO, E.V.S.B. **A vegetação do bioma caatinga.** In: Vegetação e flora das caatingas (ed.). APNE / CNIP, Recife-PE. p.11-24. 2002.

ROSE, B.A. **“Gas Chromatography and Its Analytical Applications.”** 84(574). 1959.

ROUSH, R.T. & G.L. MILLER. **Consideration for design of insecticide resistance monitoring programs**. J. Econ. Entomol. 79: p. 293-298, 1986.

SANTOS, A.S. **A vida de uma abelha solitária**. 2002. Disponível <http://eco.ib.usp.br/beelab/solitarias.htm> em: Acesso: set. 2018.

SARTOR, R. B.; 2009. **Modelagem, Simulação e Otimização de uma Unidade Industrial de Extração de Óleos Essenciais por Arraste a Vapor**. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos). Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

SCHENK, E. **O apicultor brasileiro**. Guia completo de Apicultura no Brasil 7th ed. 320 pp. 1938.

SCHREIER, P. **Analysis of volatiles methods and applications**. Berlin: Walter de Gruyter, 1984. 469p.

SEBRAE. **Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas**. Setor Apicultura, 2014. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/Anexos/boletim-apicultura.pdf> Acesso em: set. 2018.

SEGEREN, P. **Apicultura nas regiões tropicais**. Agrodok 32. Fundação Agromisa, ISBN: 90-77073-77-9. 2004 USAID/Brasil. Análise da indústria do mel. Inserção de micro e pequenas empresas no mercado internacional. Volume 2. Nov 2006.

SERAFINI, L.A.; SANTOS, A.C.A.; TOUGUINHA, L.A.; AGOSTINI, G.; DALFOVO, V. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS. 2002.

SIHANG, R. C. **Problem of the wax moth (*Galleria mellonella* L.) infestation on giant honey bee (*Apis mellifera* Fab.) colonies in Haryana**. Indian Bee J., Poona, v. 44, p. 107-109, 1982.

SILVA, A. L. S.; **CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DO *Zingiber officinale Roscoe* (GENGIBRE) FRENTE AO MOSQUITO *Aedes aegypti***. Programa de Pós-Graduação em Química, 2012.

SILVA, J. C. C.; **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de microcistina-lr e agrotóxicos em águas superficiais, utilizando as técnicas de**

**cromatografia líquida e cromatografia gasosa acopladas a espectrometria de massas.** Programa de Pós-Graduação de Engenharia Ambiental, 2010.

SILVA, M. G. F.; **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.).** Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Química – Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p. 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis.** Farmacognosia. Porto Alegre: UFRGS, 2000, p. 387-415.

SIMÕES, C.M.D.O.et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6 th ed. Porto Alegre: UFSC/ UFRGS, p. 1104, 2007.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia – Da Planta ao Medicamento.** 5ª ed. ver. ampl. Primeira reimpressão- Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004.

SINGH, S. **Beekeeping in India** Indian Council of Agricultural. Research New Delhi 1 ed. 214 pp. 1962.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p. 260, 2002.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.M.; LIMA, E.O.; TRAJANO, V.N.; BARBOSA, J.M. **Orégano (*Origanum vulgare* L. Lamiaceae): Uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos.** Revista Higiene Alimentar, v. 19, n.132, p.40-45, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** Porto Alegre:Artmed, , p. 820, 2019

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology.** 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TOMLINSON, P. B. **Commelinales - Zingiberales.** In: C. R. Metcalfe. Anatomy of the monocotyledons. Clarendon Press, Oxford. Pag. 341-359. 19  
TORRES, C.; SILVA, G.; TAPIA, M.; RODRÍGUEZ, J.C.; FIGUEROA, I.; LAGUNES, A.; SANTILLÁN, C.; ROBLES, A.; AGUILAR, S.; TUCUCH, I. **Insecticidal activity of *Laurelia***

**sempervirens (Ruiz & Pav.) Tul. essential oil against Sitophilus zeamais Motschulsky.** Chilean journal of agricultural research. V. 74, n.4, 2014.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. **Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 29, p. 542-545, 4º ed, 2009.

TRAJANO, V. N.; SANTOS, B. H. C. **Effectiveness of Origanum vulgare L. and Origanum majorana L. Essential oils in Inhibiting the Growth of Bacterial Strains Isolated from the Patients with Conjunctivitis.** Brazilian archives of biology and technology, Curitiba, v. 52, n. 1, p.

TREASE, G. E. **A textbook of Pharmacognosy.** 9.ed., London: Baillière, Tindall and Cassell, p. 340-348, 1966.

TRONGTOKIT, Y.; RONGSRIYAM, Y.; KOMALAMISRA, N.; APIWATHNASORN, C. **Comparative Repellency of 38 Essential Oils against Mosquito Bites.** Phytotherapy research. V.19, p.303-309, 2005.

UÇKAN, F. & A. GUEL. **Effects of host species on some biological characteristics of Apanteles galleriae Wilkinson (Hymenoptera, Braconidae).** Turkish J. Zool. 24: 105-113. 2000.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, **Dissertação (Mestrado em Agronomia/Genética Melhoramento de Plantas).** Jaboticabal, 2002.

USAID/BRASIL **Análise da Indústria do Mel. Análise da Indústria do Mel.** Brasília: United States Agency for International Development, outubro de 2006. 38 p.

VANDENBERG, J. D.; SHIMANUKI, H. **Viability of Bacillus thuringiensis and its efficacy for larvae of the greater wax moth (Lepidoptera:Pyralidae) following storage of treated combs.** Journal of Economic Entomology, Beltsville, v. 83, n.3, p.760-765, 1990.

VERMA, S. K. **Studies on the control of greater wax moth, Galleria mellonella L. in Apis cerana F. colonies with the biological insecticide.** Dipel. Indian Bee Journal, Nainital, v. 57, n. 3, p. 121-123, 1995.

VOLPATO et al. **In vitro evaluation of the insecticide and larvicide effects of eight essential oils on mealworm (Alphitobius diaperinus).** Archives of Veterinary Science v.23, n.2, p.84-90, 2018

XU, X. M.; YU, S.; LI, R.; FAN, J.; CHEN, S. H.; SHEN, H. T.; HAN, J. L.; HUANG, B. F.; REN, Y. P. **Distribution and migration study of pesticides between peel and pulp in grape by online gel permeation chromatography-gas chromatography/mass spectrometry.** Food Chemistry, Barking, v. 135, p. 161- 169, 2012.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Monographs on selected medicinal plants.** v. 1. Geneva, p. 277-287, 1999.

WOHLMUTH, H.; LEACH, D. N.; SMITH, M. K.; MYERS, S. P. **Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.** Journal Agricultural and Food Chemistry, Easton, v. 53, n. 14, p. 5772-5778, July 2005.

YANG, K.; WANG, C.F.; YOU, C.X.; GENG, Z.F.; SUN, R.Q.; GUO, S.S.; DU, S.S.; LIU, Z.L.; DENG, Z.W. **Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects.** Journal of Asia-Pacific Entomology, v.17, p.459-466, 2014.

YU, Y.; HUANG, T.; YANG, B.; LIU, X.; DUAN, G. **Development of gas chromatography-mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid-phase microextraction for rapid determination of volatile constituents in ginger.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 43, n. 1, p. 24-31, 2007.

YUSOFF, Z. M.; NORDIN, M. N. N.; RAHIMAN, M. H. F.; ADNAN, R.; TAIB, M. N. **Characterization of Down-Flowing Steam Distillation System using Step Test Analysis.** IEEE CSGRC, p. 197-201, 2011.

ZANELLA, F.C.V.; MARTINS, C.F. **Abelhas da caatinga: Biogeografia, ecologia e conservação.** In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (eds.), Ecologia e conservação da caatinga. Editora Universitária, UFPE, Recife, 2003. p.804.