



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102020006006-6

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102020006006-6

(22) Data do Depósito: 25/03/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 05/10/2021

(51) Classificação Internacional: A01N 65/44; A01P 7/04.

(52) Classificação CPC: A01N 65/44; A01P 7/04.

(54) Título: OBTENÇÃO DE INSETICIDA A PARTIR DO COLMO DE GUADUA ANGUSTIFOLIA KUNTH (POACEAE: BAMBUSOIDEAE) CONTRA O BESOIRO TRIBOLIUM CASTANEUM (HERBST 1797) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24464109000148. Endereço: AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N, TABULEIRO DO MARTINS, MACEIÓ, AL, BRASIL(BR), 57072-970, Brasileira

(72) Inventor: FRANCIS SOARES GOMES; ANDRÉA CARLA DE ALMEIDA BARROS; CAMILA PEREIRA DE LIMA CHICUTA; JANAÍNA KÍVIA ALVES LIMA; CLÁUDIO WILIAN VICTOR DOS SANTOS; HUGO JUAREZ VIEIRA PEREIRA; JOSIEL SANTOS DO NASCIMENTO; LUCIANO APARECIDO MEIRELES GRILLO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 25/03/2020, observadas as condições legais

Expedida em: 03/03/2026

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

**Obtenção de inseticida a partir do colmo de *Guadua angustifolia* Kunth
(Poaceae: Bambusoideae) contra o besouro *Tribolium castaneum* (Herbst
1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)”**

[001] A presente invenção refere-se à obtenção do extrato aquoso do colmo pulverizado da *Guadua angustifolia* Kunth que interferiu na sobrevivência dos insetos adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae).

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER

[002] O Brasil apresenta características geoclimáticas que favorece a produção de grãos. Segundo a FAO, 70% da produção agrícola é armazenada por agricultores para diferentes fins (LORINI et al, 2015). No segundo semestre de 2018 o Brasil armazenou 169,5 milhões de toneladas (IBGE 2018) chegando a um recorde anual de 242,1 milhões de toneladas 2018/2019, registrando um crescimento de 6,4% em comparação ao ano anterior (CONAB 2019). No entanto, cerca de 30% dessa produção é perdida pela deterioração causada por insetos e ácaros (BOYER et al, 2012).

[003] O *Tribolium castaneum* é um inseto pertencente a ordem Coleoptera conhecido como besouro vermelho da farinha, sendo um importante agente causador de grandes prejuízos econômicos em grão armazenados na América do Sul como trigo, milho e arroz. Apresenta ciclo de vida entre 30 a 40 dias e, ao chegar na fase adulta, vive aproximadamente 4 anos, chegando a depositar 400 a 500 ovos nas fendas das paredes dos armazéns, na sacaria e sobre os grãos. As fases de ovos e pupas (estado intermediário entre larvas e fase adulta) apresentam maior resistência à ação dos inseticidas, sendo assim considerado uma importante praga de cereais de difícil controle.

[004] Diante da sua potencialidade o Brasil possui um olhar diferenciado no ramo de investimentos em processo de armazenamento, a fim de que possa preservar as características dos grãos evitando fungos, pragas, umidade excessiva e entre outros fatores (SILVA et al., 2012) buscando métodos de controle mais eficazes e menos tóxicos ao meio ambiente, compatível ao volume armazenado e a um período de estocagem apropriado.

[005] Dentre os diversos métodos alternativos explorados com a finalidade de controlar pragas de grãos, os extratos de plantas vem ganhando espaço por ser de fácil obtenção e manuseio, contribuindo de forma ativa e sendo uma importante alternativa para o plano de ações voltadas ao manejo integrado de pragas (MIP), que tem como objetivo a otimização do controle de insetos de modo sustentável e economicamente eficaz (BUENOS et al., 2012) reduzindo o uso de agrotóxicos e buscando obter um equilíbrio entre interesse econômicos e ambientais. Os MIP propõem a associação harmoniosa de técnicas biológica, química, cultural e genética (BRAGA e SOBRINHO et al., 2001).

[006] A presente invenção propõe uma alternativa de fácil obtenção para reduzir as

perdas na produção de grãos geradas pelo ataque de *Tribolium castaneum* utilizando extrato aquoso do colmo de *G. angustifolia*.

CAMPO DE ATUAÇÃO

[007] A presente invenção destina-se ao emprego em galpões de armazenamento de grãos, mediante pulverização de sacaros com o extrato da *Guadua angustifolia* ou na forma de isca dietética. Essas preparações seriam empregadas em diferentes regiões geográficas brasileiras e em diversos países em locais de armazenamento de grãos para posterior comércio, visando o controle da praga e, conseqüentemente, a diminuição dos prejuízos causados pela mesma.

ESTADO DA TÉCNICA

[008] Brasil é um dos principais produtores agrícolas mundiais e desde a década de 1970, busca uma maior produção para atender o aumento da demanda de mercado através da modernização da agricultura (LOPES, 2018). Por muito tempo a proteção de plantas e seus grãos se baseou apenas no uso dos pesticidas químicos sintéticos, mas as mudanças na legislação e os diversos fatores associados a resistencia têm fortalecido a busca por novas alternativas (CHANDLER et al, 2011).

[009] O uso indiscriminado de pesticidas organosintéticos de amplo espectro acumula diversos problemas por ser extremamente nocivos ao meio ambiente e a saúde humana. O uso recorrente de agrotóxicos no solo provoca um processo de degradação onde inicialmente há esterilização, com a perda da bioquímica natural do ecossistema causando um processo erosivo sanado a curto prazo com o uso de produtos químicos. Alguns destes com potencial de realizar ligações fortes com cátions presentes no solo, como o glifosato, causando impacto na fertilização do solo (SATYAGRAHA, 2015).

[010] Segundo o Ministério da Saúde, em 2017 foram registrados, por meio do Sistema de Informações de Agravos e Notificações (SINAN), 13.982 intoxicações por agrotóxicos no país. Já o Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) registrou 492 mortes em decorrência de agrotóxico em 2016. Uma das alternativas para conter o prejuízo causado pelos agrotóxicos são os estudos de plantas ricas em substâncias bioativas, onde são aplicados extratos vegetais com potencial de controlar insetospraga, apresentando curto período residual, baixa toxicidade, baixo custo, fácil obtenção e rápida ação sobre inseto (BUSS & PARK-BROWN 2002, WIESBROOK 2004).

[011] O Brasil é considerado o maior detentor da flora do planeta, muitos destes vegetais produzem metabólitos químicos que interferem de forma significativamente importante no comportamento dos insetos em relação ao hospedeiro (SOUZA-FILHO, 2006) agindo como inibidores da alimentação ou dificultadores de crescimento, desenvolvimento, reprodução e comportamento (MENEZES, 2005).

[012] O Brasil possui a maior biodiversidade de bambu das Américas e uma das maiores do mundo utilizada pelo homem em diversas atividades, tais como fonte

de alimento, medicamento e material de construção civil. *Guadua angustifolia*, uma espécie nativa da América do Sul e Central, é um bambu com colmo robusto, alto e espinhoso, podendo atingir 20 m em 120 dias. No que diz respeito a espécie de planta desta invenção, *Guadua angustifolia*, não há relatos na literatura de possíveis aplicações biotecnológicas com essa funcionalidade, assim como não há registro de depósito patentário, tornando-se uma aplicação inovadora.

[013] Foi possível identificar através de uma revisão patentária, intervenções que se referem ao *Tribolium castaneum*: uma patente (US4970069 A) foi depositada para o composto 2,6-dimetil octilformato que possui efeitos de atração para o inseto *Tribolium castaneum*. Um repelente contra diversas pragas, incluindo *Tribolium castaneum*, também foi patenteado (JPS63166814 A) de um extrato metanólico obtido de uma planta selecionada a partir de plantas melhoradas cultivadas de *Polygonum hydropiper* L.

[014] Dada à importância dos extratos de plantas no biocontrole de insetos-praga, vários estudos têm sido realizados com objetivo de identificar bioprodutos de espécies de plantas com atividade inseticida que possam ser aplicados sob a forma de preparações específicas e agricolamente aceitáveis.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[015] Os inventores da presente composição identificaram preparações com atividade inseticida do extrato aquoso do colmo da *G. angustifolia*.

[016] A composição da invenção pode estar associada tanto a preparações de uso na dieta alimentar ou ser utilizada em armadilhas como ferramenta de monitoramento de sua presença e eliminação do *Tribolium castaneum* em armazéns. Essa aplicação tem contribuído muito para a elucidação do desenvolvimento dos insetos que atacam as plantações relevantes na brasileira como observado na composição de invenção.

[017] Suplementos podem ser adicionados a composição da invenção como aditivos para melhorar a atração do *Tribolium castaneum*, dentre eles, compostos sintéticos identificados como atraentes para o inseto, por exemplo pode ser o composto 2,6-dimetil octilformato cuja patente foi depositada (US4970069 A), mais não se limita somente a ele.

[018] A composição da invenção pode incluir a adição de um segundo extrato como da pimenta dedo-de-moça *Capsicum baccatum* (Willd.) Eshb. (Solanaceae) que foi pulverizada sobre o gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) causando impactos variáveis nos parâmetros de repelência, deterrência alimentar e potencial inseticida (GUIMARÃES, 2014).

[019] As composições da invenção também poderão incluir, desde que em baixas concentrações, um ou mais inseticidas químicos (ciflutrin, permetrin, cipermetrin) ou biológicos (piretrinas naturais), que apresentam mecanismos de ação diferente dos demonstrados nesta invenção.

[020] A busca por vegetais ou produtos obtidos a partir destes com baixa toxicidade e molécula biodegradáveis contribuem para redução da seleção de insetos resistente a agrotóxicos sendo uma opção para o controle alternativo de inseto-praga. As etapas a seguir são referentes a experimentos para caracterização da atividade biológica inseticida do extrato da planta *Guadua angustifolia*.

Insetos

[021] Os insetos de *Tribolium castaneum* utilizados neste trabalho foram obtidos de uma colônia do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, da Universidade Federal de Alagoas. A colônia foi mantida à 30°C com umidade relativa entre 70 e 80% e fotoperíodo claro/escuro de 12h e alimentada com farinha de trigo comercial. Nos experimentos foram testados os insetos adultos, machos e fêmeas, de 15 dias de idade.

Identificação da espécie *Guadua angustifolia*

[022] Da mesma planta onde extraiu-se colmo necessário para a obtenção do extrato bruto, coletou-se uma amostra da espécie vegetal para identificação e deposição de exemplar no repositório Registro nº 650103 do Herbário MAC do Instituto de Meio Ambiente (IMA) do Estado de Alagoas. A planta selecionada apresentava em sua estrutura todos os requisitos necessários para a devida identificação (colmo, ramos secundários com folhas e espinhos).

Preparo do Extrato Bruto do colmo da *Guadua angustifolia*

[023] Para o preparo do extrato bruto o colmo foi secado a temperatura ambiente durante 10 dias e pulverizado com auxílio de um moinho de facas. Em seguida foi pesado em balança analítica (5,0 g) e adicionado tampão de extração Tris HCl 50 mM pH 8,0 (50 mL). Posteriormente, a solução foi mantida sob agitação constante por 16 horas a temperatura de 4°C. Após o tempo determinado o extrato foi centrifugado para que o material particulado fosse retirado, e o sobrenadante foi submetido as demais análises. Alternativamente ao método de centrifugação, o extrato também pode ser filtrado com auxílio de uma peneira de 0,75 cm.

Preparo das Soluções Testadas

[024] O extrato da *Guadua angustifolia* foi pesado, para se obter as doses de 25, 50 e 100 mg de extrato/mg de farinha de trigo comercial da marca Sarandi sem fermento, seguindo a metodologia adotada por Napoleão et al., (2013). Em seguida, aos volumes das soluções foram completados para 5 mL com o tampão de extração e misturados em 2g de farinha, a fim de serem pipetadas nas placas com os insetos. As concentrações do extrato foram convertidas para porcentagem, correspondendo aos valores das doses testadas de 2,5%, 5% e 10% de extrato.

Bioensaios

Avaliação da atividade inseticida de extrato

[025] Os bioensaios foram conduzidos pelo emprego de uma adaptação do método descrito por Xie et al. (1996) e descrito por Napoleão et al. (2013) onde 5mL da amostra em tampão Tris-HCl 50mM foram misturados a 2g de farinha, agitada por 5 min. Posteriormente, 5 alíquotas de 200µL da suspensão foram colocadas na placa de Petri e incubado a 46 °C por 12 horas. Após este período foram adicionados 10 insetos adultos de *Tribolium castaneum*. A mortalidade ao longo do tempo (durante 30 dias ou até a morte de 100% dos indivíduos) foi avaliada, sendo considerados mortos quando não respondiam aos estímulos táteis. O ensaio foi realizado em quadruplicata e os controles negativos foram realizados com o tampão de extração, Tris-HCl 50mM pH 8,0.

Efeitos sobre a deterência, taxa de consumo relativo e sobrevivência

[026] Ao longo de 30 dias de exposição à dieta artificial contendo o extrato da *G. angustifolia* foi analisando os parâmetros de deterência alimentar através do índice de deterência alimentar (IDA) que foi calculado por meio da fórmula: $IDA (\%) = 100 \times (A-B)/(A)$, onde A é a massa de alimento ingerida pelo inseto no ensaio controle, e B é a massa de alimento ingerida pelo inseto no ensaio com a amostra. As amostras com base na deterência alimentar classificam-se em: sem deterência alimentar ($IDA < 20\%$), fraca deterência alimentar ($20\% < IDA < 50\%$), moderada deterência alimentar ($50\% < IDA < 70\%$), ou forte deterência alimentar ($IDA > 70\%$) (Liu et al., 2007).

Análise Estatística

[027] Os resultados obtidos foram estatisticamente avaliados por método ANOVA a fim de analisar os pressupostos paramétricos de normalidade e homogeneidade das variâncias dos resíduos e uma vez esclarecidos foram aplicados testes de detecção de diferença significativa e assim como a comparação entre tratamentos pelo teste de Tukey utilizando o software GraphPad Prism versão 6.0.

RESULTADOS OBTIDOS

Resultados dos bioensaios com o extrato do colmo da *Guadua angustifolia*

[028] Ao analisar o resultado da exposição do extrato aquoso da *Guadua angustifolia* aos insetos de *Tribolium castaneum*, a sobrevivência do inseto adulto mantido em dieta artificial durante 30 dias de experimento resultou em uma taxa de mortalidade de 50% dos insetos na dose de 50 e 100 mg enquanto que no controle todos os insetos permaneceram vivos, como pode ser visto na curva de sobrevivência de Kaplan-Meier (Figura 1). A dose de 25 mg não apresentou mortalidade dos insetos.

[029] Outros extratos obtiveram resultado similar ao encontrado nesta invenção, especificamente contra insetos da ordem coleóptera. A utilização de extrato alcoólico da folha de *Derris amazonica* a 2% aplicado em folhas de feijão-caupi e ofertados a *Cerotoma arcuatus* Olivier foi obtido uma toxicidade com percentual de 50% de mortalidade dos insetos expostos (ALECIO, 2010). No entanto, destaca-se o fato do extrato avaliado na presente invenção ser de natureza aquosa. Vários fatores incentivam o uso de extratos aquosos como inseticidas. seu uso geralmente acarreta um risco menor para seres humanos, meio ambiente e organismos não-alvo e minimiza ainda mais a tendência do surgimento de populações de insetos resistentes (Paiva et al., 2012a). Além disso, a facilidade e o custo mais baixo da preparação de extratos aquosos os tornam alternativas viáveis no manejo de pragas, pois atendem à legislação ambiental e aos critérios de demanda do mercado e podem desempenhar um papel relevante nos programas de controle de pragas, particularmente no manejo de pragas (Bernardi et al., 2017).

[030] Além de provocar mortalidade dos insetos adultos de *Tribolium castaneum*, as concentrações 50 e 100 mg de extrato de *G. angustifolia* também apresentaram deterrência considerada moderada (Figura 2), de acordo com Liu e colaboradores (2007). O uso de mecanismos não tóxicos, como repelentes, tem despertado cada vez mais interesse no controle de pragas. É possível identificar na literatura alguns extratos de plantas com atividade deterrente tais como o extrato de folhas de *Myracrodruon urundeuva* que apresentou deterrência moderada contra o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* (NAPOLEÃO et al., 2013), interferindo, desta forma, na ingestão alimentar dos insetos e, atuando como anti-herbívoros naturais.

[031] Esta invenção se mostra como um promissor produto no controle de insetospraga já que causa a deterrência e mortalidade, podendo ser aplicado utilizando técnica de pulverização em produtos ou atuando como iscas tóxicas impedindo a infestação de *Tribolium castaneum* nos armazéns onde são estocados os produtos.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[032] Figura 1: Taxa de sobrevivência dos adultos de *Tribolium castaneum* tratados com diferentes doses do extrato aquoso de *Guadua angustifolia* expressos pela curva de Kaplan-Meier.

[033] Figura 2: Efeito deterrente do extrato da *Guadua angustifolia* sobre os adultos do *Tribolium castaneum*.

VANTAGENS DA PATENTE

[034] Com o objetivo de conter o desenvolvimento desse inseto-praga, a utilização de extrato bruto apresenta uma importante alternativa para a redução do uso de agrotóxicos já que é possível encontrar resíduos em alimentos, água subterrânea, meio ambiente além de provocar uma seleção de organismos resistentes dificultando seu controle.

[035] A busca por alternativas inovadoras e naturais para o controle de pragas, visa atuar em consonância na redução da quantidade de pesticidas necessário para obter níveis dentro dos parâmetros de controle. A utilização de extratos de plantas é uma importante ferramenta para intervir nos parâmetros de desenvolvimento do insetopraga.

[036] A utilização de preparações do extrato da *Guadua angustifolia* como isca, provoca no inseto alteração no desenvolvimento, reduzindo sua taxa de sobrevivência. A identificação do efeito dessas preparações sobre o inseto *Tribolium castaneum* propõe uma nova possibilidade de controle da praga em estudo, podendo ser utilizada como mais um método a ser agregado ao Manejo integrado de grãos e sementes armazenadas.

[037] A fim de minimizar os danos causados por esse inseto-praga por meio de métodos menos agressivos, a referida invenção propõe a utilização de dietas alimentares contendo extrato aquoso de *G. angustifolia*, sendo proposto um produto inovador com ênfase em medidas preventivas, métodos de controle, monitoramento da produção e armazenamento com foco na conservação de grãos e sementes com qualidade para o comércio nacional e internacional como mais um método para ser agregado ao Manejo Integrado de Pragas (MIP).

REIVINDICAÇÃO

1 - Processo de obtenção de inseticida a partir do colmo de *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae: Bambusoideae) caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- a) Secagem do colmo da espécie vegetal *G. angustifolia* à temperatura ambiente durante 10 dias;
- b) Pulverização do colmo seco de *G. angustifolia* com auxílio de um moinho de facas;
- c) Adição de uma solução tampão de Tris-HCl 50 mM pH 8,0 ao colmo seco pulverizado de *G. angustifolia* na proporção de 1:10 (5 g do pó de *G. angustifolia* para 50 mL de solução tampão), formando assim a solução de extração;
- d) Manter a solução de extração sob agitação a 4 °C por 16 horas;
- e) Filtrar o extrato com auxílio de uma peneira de 0,75 cm.

FIGURAS

Figura 1

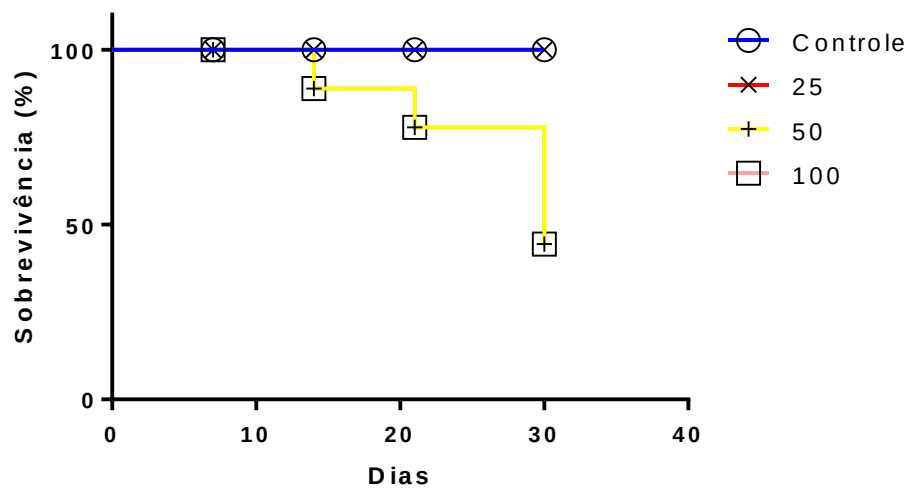


Figura 2

