



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

CARTA PATENTE Nº BR 102020012493-5

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 102020012493-5

(22) Data do Depósito: 19/06/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 21/12/2021

(51) Classificação Internacional: A01N 31/08; A01N 35/02; A01N 31/02; A01N 25/00; A01P 7/04.

(52) Classificação CPC: A01N 31/08; A01N 35/02; A01N 31/02; A01N 25/006.

(54) Título: ISCA NATURAL COM ATRATIVIDADE PARA MOSCAS VAREJEIRAS COM AÇÃO SEMIOQUÍMICA (APNEUMÔNIOS) EFICAZES NO MONITORAMENTO E CONTROLE DA POPULAÇÃO ADULTA DE MOSCAS VAREJEIRAS, CHRYSONOMYIA MEGACEPHALA - FABRICIUS, 1794 (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

(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: ANALICE FERREIRA DA SILVA; ELLEN REBECCA DE OLIVEIRA; REGINA DA SILVA ACÁCIO; THYAGO FERNANDO LISBOA RIBEIRO; MIGUEL ANGEL MARTINEZ GUTIERREZ; JAKELINE MARIA DOS SANTOS; VIVIANE ARAUJO DALBON; HENRIQUE FONSECA GOULART; ANTONIO EUZÉBIO GOULART SANTANA; JOSE GOMES CHAVES; GUILHERME BENJAMIN BRANDÃO PITTA; JANINE RAPHAEL GOMES FÉLIX; MARIA CLARA FERREIRA BATISTA DOS SANTOS.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 19/06/2020, observadas as condições legais

Expedida em: 12/08/2025

Assinado digitalmente por:
Gisela Aparecida Silva Nogueira
Diretora de Patentes Substituta

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “Isca natural com atratividade para moscas varejeiras com ação semioquímica (apneumônios) eficazes no monitoramento e controle da população adulta de moscas varejeiras, *Chrysomya megacephala* – Fabricius, 1794 (Diptera: Calliphoridae).

[001] A presente invenção refere-se a uma isca natural atraente para moscas varejeiras *C. megacephala* obtida a partir de fonte alimentar camarão em estágio de decomposição 48h, o extrato natural foi extraído pela técnica de aeração por um período de 2h. O extrato contém os seguintes compostos: fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila.

[002] A mosca varejeira, *C. megacephala*, pertencente à família (Diptera: Calliphoridae) responsável por causar miíase secundária a diversas espécies de animais e ao ser humano, a principal forma de controle é a partir de inseticidas químicos, que provocam sérios danos ao homem, animal e meio ambiente (BARBOSA et al. 2014; CARRIÇO et al. 2014).

[003] A nossa isca atraente se trata de semioquímicos, caracterizado como um sinal químico, o qual pode ser volátil ou não volátil, que permite a comunicação entre os organismos vivos. Os insetos entre os organismos vivos formam o grupo de animais onde a comunicação química é de suma importância para que eles sobrevivam e garantam a preservação da espécie. Os insetos usam essa comunicação química para encontrar parceiros para o acasalamento, localizar sítios de alimentação e oviposição, plantas hospedeiras e identificar situações de perigo (DELLA-LUCIA, 2001; WYATT, 2014; LIMA; BLANDE, 2017).

[004] Esse atraente natural entre os semioquímicos - aleloquímico é referenciado como apneumônios que são voláteis emitidos durante o estágio de decomposição de matéria orgânica que oportunizam as moscas-varejeiras encontrar sítios para a alimentação, oviposição e parceiro sexual (SMITH, 1986).

[005] A nossa isca com atratividade para moscas *C. megacephala* apresenta-se como uma forte candidata em oposição ao uso de agrotóxicos em razão das

suas vantagens entre as quais citam -se: são biodegradáveis, redução dos danos para saúde e meio ambiente, ação restrita a praga alvo e não provoca resistência nos insetos.

[006] Os resultados comportamentais das moscas varejeiras *C. megacephala* frente às diferentes fontes alimentares carne bovina, peixe e camarão em diferentes estágios de decomposição (0, 24, 48 e 72 h) foram avaliados a partir dos bioensaios comportamentais em olfatômetros de quatro braços (INPI, nº: BR1020190045663). Os resultados obtidos mostraram que as fontes alimentares exercem influências comportamentais sobre as moscas fêmeas *C. megacephala* e para os machos não foram estatisticamente significativos. (Figura 1 e 2). O estágio de decomposição 48 h obteve a melhor atratividade (Tabela 1).

[007] **Tabela 1-** Média e desvio padrão do tempo de permanência (segundos) de *C. megacephala* conforme as amostras em intervalo de diferentes estágios de decomposição (0,24,48 e 72 h)

Amostra\Tempo	0h	24h	48h	72h
Controle	12,35±7,15d	10,80±7,88c	2,90±2,85c	94,30±29a
Peixe	62,20±34,13c	56,45±30,94b	27,00±18,69b	81,00±37,89a
Carne	104,90±42,05b	80,05±37,39b	34,65±19,04b	101,00±41,55a
Camarão	177,40±50,82a	219,35±50,82a	322,00±54,70a	38,75±21,73b

[008] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade

[009] Por bioensaios comportamentais em Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector Eletroantenográfico (CG-EAG) revelaram que três compostos presentes no extrato de camarão 48 h elicitaram despolarização nas antenas de fêmeas de *C. megacephala*, indicando que estes compostos possuem receptores específicos nas antenas de fêmeas (Figura-3) Dentre os três compostos bioativos, nesses observou-se que o composto 3 (TR=12,423 min) é o componente majoritário, ao passo que o composto 1 (TR=5,5 min) apresenta

proporção intermediária e o composto 2 (TR=10,620 min) é o menos abundante dos três compostos.

[010] Seis compostos foram identificados nas análises por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) dos extratos de aeração de camarão no estágio de decomposição (48 h)(Figura – 4) As caracterizações destes compostos foram baseadas em comparações e avaliações de seus espectros de massas com aqueles disponíveis nas bibliotecas do CG-EM e com os bancos de dados da web [The pherobase (EL-SAYED, 2020) e NIST – National Institute of Standards and Technology] (Figuras – 5, 6 e 7). As substâncias identificadas pertencem as seguintes classes de compostos: álcool, composto sulfurado, cetonas e amina. Dentre os seis compostos identificados, os três constituintes que eliciaram despolarização nas antenas de fêmeas foram identificados como sendo fenol, 2-nonanona e disulfeto de metila. Os demais compostos não desencadearam respostas antenais em fêmeas.

[011] A avaliação e comparação do espectro de massas do fenol (composto 1, Figura 5a) é caracterizado por um pico do íon molecular de massa 94, o qual também é o fragmento mais abundante do espectro, sendo caracterizado como o pico básico. O fragmento de massa m/z 66 corresponde a um fragmento iônico, derivado da decomposição do íon molecular, pela perda de 28 unidades de massas, correspondente a perda de uma molécula de eteno. A análise comparativa do espectro de massas do composto 1 com o disponível na biblioteca do CG-EM revelou um percentual de similaridade acima de 90% entre os dois espectros, como pode ser observado na figura 5b.

[012] No espectro de massas da 2-nonanona (composto 6, figura 6A), caracteriza-se pela presença de um fragmento de massa 142 correspondente ao íon molecular e um fragmento de massa m/z 58, que é o íon mais abundante do espectro, o qual é derivado do íon molecular pela perda de 84 unidades de massa, através de rearranjo de McLafferty para cetonas. Comparando-se o espectro do composto 2 com o espectro da 2-nonanona disponível na biblioteca

do CG-EM (Figura 6B), observa-se que a similaridade entre eles é superior a 90%.

[013] Uma análise comparativa entre o espectro de massas do composto 3 com o espectro do dissulfeto de metila, disponível na biblioteca do instrumento, demonstra que a similaridade entre ambos é superior a 90%, como pode ser visto na Figura.7

[014] Durante os testes experimentais capturou-se um total de 312(trezentos e doze) espécimes, das quais 208 (duzentos e oito) foram identificadas com *C. megacephala*, conforme as chaves propostas por Grella et al. (2015). As 104(cento e quatro) moscas restantes foram apenas contabilizadas. Do total de moscas capturadas 295(duzentos e noventa e cinco) era fêmeas, equivalentes 94,5% e 17 (dezessete) eram machos equivalentes a 5,5 % machos.

[015] Observou-se ainda que tanto as armadilhas iscadas de extrato de camarão (48h) como por soluções dos padrões sintéticos nas concentrações de 50 e 100 ppm testadas foram eficazes na atratividade e captura de *C. megacephala* (Figura -8).

[016] Essa isca atraente exerce influência comportamental para a espécie *Chrysomya megacephala*, que é considerada uma praga responsável por provocar grandes perdas econômicas ao setor agropecuário, em sua fase larval causa miiase secundária em diversas espécies de animais, principalmente, “bovinos”. Na fase adulta é inseto vetor de vários patógenos. Ao causar miiase secundária, conseqüentemente ocasiona estresse nos animais, perda de peso, danos na qualidade do couro, redução na produção de leite e carne.

[017] Em razão das perdas econômicas causados pelos ectoparasitas deve-se controlar a população excessiva de *C. megacephala* que é referenciada como fator limitante da produção de carne e leite, os quais provocam sérios danos aos animais e conseqüentemente grandes prejuízos econômicos para o setor agropecuário. O aumento da produtividade está correlacionado com o manejo sanitário eficiente, resultando em redução dos custos, além do aumento na

produtividade, garantindo a produção de alimentos saudáveis sem resíduos nocivos à saúde.

[018] A referida isca, extrato natural de camarão 48 h, comprovou ter efetiva atratividade tanto para os testes laboratório como no campo, podendo ser utilizado monitoramento, controle e associada nas estratégias do MIP, com aplicação em meio urbano e rural.

PROBLEMAS QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER

[019] O principal método de controle da referida espécie na atual conjuntura baseia-se no método químico a partir de peritroídes (deltrametrina e permetrina), e os organofosforados, cujo uso sem cumprimento da Normas de aplicabilidade acarreta em sérios danos ambientais e problemas de saúde para os seres humanos (CALDAS e SOUZA, 2000; LAABS et al., 2002; GRUTZMACHER et al., 2008).

[020] A presente invenção se propõe a resolver os problemas enfrentados pela saúde pública, meio ambiente, e o setor agropecuário, principalmente os pequenos criadores de múltipla espécie, em especial “os bovinos”. Ocasionalmente por doenças (miiase) provocadas por larvas de mosca varejeira, *C. megacephala*.

CAMPOS DE ATUAÇÃO

[021] A presente invenção refere-se a uma isca natural extraída da fonte alimentar camarão 48 h, que será utilizada como iscas em armadilhas no monitoramento e controle da população adulta de inseto-praga *C. megacephala*, atuará nas seguintes áreas: Zootecnia, Medicina veterinária, Agroecologia e no setor agropecuário. Essa isca constitui um método efetivo para o monitoramento e controle da espécie adulta *C. megacephala*, associado ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), o controle comportamental utilizando aleloquímicos, pode ser associado a outros métodos já em uso consolidados no controle de *C. megacephala* e aplicação não somente no Brasil, como em todas as fazendas de múltiplas espécies no mundo com a incidência da referida inseto-praga.

[022] Os semioquímicos têm sido referenciados como um excelente método alternativo para ser utilizado na estratégia de controle de inseto-praga. Entre as principais vantagens destacam -se: ecologicamente sustentável, com espectro restrito de alcance a uma determinada praga, proporcionando a mitigação ou não uso de inseticida, contribuindo de maneira inquestionável no aumento da produção e produtividade do setor agropecuária, assim como na redução e \ou eliminação dos resíduos de agrotóxicos nos alimentos.

ESTADO DA TÉCNICA

[023] A mosca, *Chrysomya megacephala*, Fabriciu 1794 , pertence a ordem – Dípteras, família Calliphoridae, gênero *Chrysomya*, é popularmente conhecida como mosca varejeira, essa mosca possui um alto grau sinantrópico, na fase adulta pode habitar residências, tem preferência para alimentar e\ou ovipositar em frutas, excremento humano, matéria orgânico em decomposição, devido o hábito alimentar é referenciada como inseto vetor de vários patógenos, tais como: *Toxoplasma Gondii*, e muitas bactérias, além de ovos de vermes helmintos parasitas.

[024] Na fase de larval pode provocar miiase secundária em diversas espécies de animais e ao ser humano. Tem importância para a ciência forense, a partir do estágio que se encontrar (ovo, larvas, pupas e adultos) é possível determinar o intervalo mínimo de morte (mPMI) (Tomberlin *et. al.* 2011).

[025] O mercado de agrotóxico em todo o mundo encontra-se em expansão, principalmente no Brasil, que se encontra entre os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) (FAO). Atualmente os países são submetidos aos inseticidas químicos tradicionais, especificamente por sprays de amplo espectro de piretroides e organofosforados.

[026] Apesar de outros métodos de controles como: o uso de extratos vegetais e controle biológicos serem citados com promissores, no entanto, necessitam ainda de mais estudos, principalmente nas consequências do uso contínuo no solo.

[027] Já os semioquímicos são referenciados como promissores, através de uma composição natural em interação com indivíduos que transmitem informações e uma determinada resposta comportamental ou fisiológica, que pode ter resultado benéfico ou não (TRIGO et al. 2000).

[028] Entre os semioquímicos referenciam-se os aleloquímicos que são classificados conforme a vantagem de determinado organismo sobre o outro (ZABIN, 2009). Quando a vantagem é conferida ao organismo emissor, o químico é denominado alomônio (REED, 1998), se a vantagem é constatada ao receptor é conceituado como cariomônios (OLDHAM; BOLAND, 1996), quando confere vantagem para ambos, é chamado de sinomônios (NORDLUND; LEWIS, 1976).

[029] Em nossa isca contém compostos voláteis extraído pelo o processo de aeração, de fonte alimentar de camarão, após 48 h exposto em ambiente atmosférico, sendo referenciados como aleloquímicos, especificamente os presentes na relação ente mosca varejeira e camarão 48 h são definidos como “apneumônios”, os quais formam interações entre organismos que são atraídos por sinais que os beneficiam a partir de uma matéria não viva, porém, os sinais são maléficos para outros organismos, de outras espécies que possam se encontrar correlacionados com matérias não vivas (NORDLUND; LEWIS, 1976).

[030] Em busca utilizando as bases WIPO, Patent Inspiration, LATIPAT e Spacenet, duas patentes foram localizadas com busca pelo termo “semioquímicos” and blowflies.

[031] A patente com classificação WO2016077492A no IPC, são Composições e métodos para atrair mosquitos e repelir flebotomíneos. Composições e métodos para afetar parasitas hematófagos dipteranos. As composições contêm pelo menos um semiquímico de dipterano e pelo menos um fagostimulante. As composições podem ainda incluir um pesticida. O semioquímico pode ser um atrativo floral e os fagostimulantes podem ser à base de açúcar. As composições podem ser úteis para atrair mosquitos e / ou repelir moscas de areia. Este semioquímicos sua formulação pode ser empregada em uma ampla gama de

meios, incluindo uma atração monolítica e adesiva impregnado de atrativo a ser implantado nas armadilhas de monitoramento e uma formulação líquida que pode ser misturada com inseticida para criar um produto de atração e morte passível de aplicação por pulverização.

[032] A patente com classificação US10230593A no IPC: Referencia-se a utilização de composições baseadas de cetona, álcool e Schiff para repelir artrópodes e aparelhos de alimentação de sangue para determinar a repelência e atração de semioquímicos contra e para os artrópodes hematófagos. Essa invenção é composta de cetona, KOAVONE.RTM., O álcool, KOAVOL DH.RTM. e a base schiff, LYRAME.RTM. para repelir artrópodes de alimentação de sangue, espécies de mosquitos, moscas domésticas e mosquitos, bem como aparelhos para determinar repelência e atração de semioquímicos, como o álcool cetônico e base schiff acima mencionados contra e para esses artrópodes de alimentação de sangue.

[033] As cetonas e os álcoois são conhecidos por repelir insetos e a técnica anterior contém muitas referências referentes aos mesmos. Assim, a utilização de 1-nonen-3-ol como repelente é divulgada na Pat. 4.759.228, emitida em 26 de julho de 1988, como repelente de moscas domésticas (*Musca doméstica* L. (Diptera muscidae)). Outras cetonas e um álcool são revelados na repelência de mosquitos (*Aedes aegypti*), bem como de moscas domésticas (*Musca doméstica* L. (Diptera muscidae)), em pedido de Patente de Letras dos EUA, Ser. 589.016 depositada em 27 de setembro de 1990.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[034] A área experimental utilizada para as coletas dos insetos adultos de *C. megacephala*, Universidade Federal de Alagoas, (Latitude: 09°28'29.1" S, Longitude: 035° 49'43,6.W ") e no Núcleo de Produção e Melhoramento Animal, localizado Centro de Ciências Agrárias (CECA- UFAL), município de Rio Largo. Os insetos foram transportados para o Laboratório Central de Alagoas (LACEN) para contagem e identificação.

[035] Para a extração dos compostos voláteis em diferentes períodos de decomposição definiu-se a seguinte escala de tempo: 0h, para o material fresco, seguida de 24, 48 e 72h como estágios do processo de decomposição da matéria orgânica animal.

[036] Segundo Campobasso et al. (2001) os fenômenos de transformação e destruição constituem o processo de decomposição, o qual se caracteriza pela degradação dos tecidos por bactérias orgânicas aeróbias presentes no meio ambiente e anaeróbicas. presentes na matéria orgânica.

As extrações dos COVs foram realizadas pelo uso da técnica de aeração

[037] Para tanto, 100 g da fonte alimentar foi depositado no interior de câmeras de vidro com 16 cm de altura e 26 cm de largura, uma por sistema, totalizando três repetições por tratamento e um tratamento-controle hexano bidestilado (grau HPLC, Sigma-Aldrich.). As extrações foram realizadas por um período de 2 h a partir do intervalo (0 h) e posteriormente a cada 24 h, durante três dias consecutivos.

[038] Previamente, antes do início do processo de aeração, as câmeras de vidro foram lavadas com água e sabão e secadas em temperatura ambiente. A superfície interna das câmeras foi limpa com hexano bidestilado (grau HPLC, Sigma-Aldrich) e esterilizadas em estufa à 100°C, por um período de 2 horas. Todas as conexões do sistema de aeração foram confeccionadas com tubos flexíveis de politetrafluoroetileno (PTFE), criando um sistema de pressão positiva, conforme descrito por Moraes et al., (2005).

[039] No sistema de aeração, o ar fornecido por uma bomba compressora com fluxo de ar de 0,6 L/min, previamente purificado pela passagem em um filtro de cartão ativado, entrava nas câmeras, misturando-se com os compostos voláteis liberados pelas fontes alimentares e na saída das câmeras passava por um tubo de vidro contendo o polímero adsorvente Porapak Q (0,06 g), onde os COVs eram adsorvidos na superfície do biopolímero e dissolvidos pela passagem de 500 µL hexano bidestilado pelo tubo contendo o adsorvente. Os extratos obtidos foram colocados em vials (vidro de borosilicato, 2 mL) e armazenados em freezer

a -20 °C até serem usados nas análises químicas e nos bioensaios comportamentais.

Bioensaios comportamentais em olfatometro de quatro braços

[040] A resposta comportamental de adultos de *C. megacephala* para os compostos voláteis presentes em fontes alimentares (carne, peixe e camarão) em quatro estágios de decomposição (0, 24, 48 e 72 h) foi avaliada em bioensaios comportamentais usando um 'olfatômetro de quatro braços, descrito na patente depositada junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI, nº: BR1020190045663) . Este modelo de olfatômetro de quatro vias é uma adaptação do olfatômetro descrito por Petterson (1970), o qual inventou um olfatômetro de quatro vias para testes envolvendo o pulgão, *Schizaphis borealis* (Hemiptera –Aphididae).

Bioensaios por Eletroantenografia

[041] Para realização dos bioensaios em eletroantenografia GC-EAG as antenas das moscas fêmeas *C. megacephala* foram testadas utilizando extrato de camarão 48 h e a solução dos padrões sintéticos identificados como atrativos para mosca fêmeas *C. megacephala* disponíveis no LPqRN. Para realização dos bioensaios os exemplares das moscas foram anestesiadas em baixa temperatura (-10°C) por um minuto, em seguida, com o uso de tesoura entomológica, a antena foi removida e fixada no eletrodo de prata do sistema EAG, o ápice da antena colocado no eletrodo de trabalho e a base da mesma fixada no eletrodo de referência). Um gel condutor de eletricidade (Sigma Gel; Parker Laboratories, Inc., Fairfield, NJ) foi utilizado para cobrir as extremidades da antena no eletrodo.

[042] Uma alíquota de 2µL dos extratos obtidos na aeração e a mistura dos padrões sintéticos foram injetadas em um cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC) modelo Shimadzu QP-2010, operado no modo "split", contendo coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm) (RESTEK Chromatography Products), onde o efluente da coluna foi dividido em duas partes: uma parte foi direcionada para o detector DIC e a outra para a

antena do inseto. As condições de análises foram as seguintes: o Cromatografo Gasoso operou no modo split", (com divisão da amostra). As zonas de aquecimento do instrumento foram programadas para operar nas seguintes temperaturas: injetor: 280 °C, detector (DIC:) e forno: temperatura inicial de 50 °C, a qual foi mantida por 5 minutos, com velocidade de aquecimento de 8°C/min até atingir 250 °C. aumentando 10°C por minuto até atingir a temperatura final de 280°C. Nitrogênio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1L/min.

[043] Os sinais obtidos foram registrados pela passagem em um amplificador de alta impedância (IDAC4, Syntech 2004, Hilversum, The Netherlands). As saídas do amplificador de EAG e do DIC foram monitoradas simultaneamente e analisados usando o pacote de software Autopike, Syntech (2008). Os picos resultantes das análises no GC foram considerados ativos quando apresentaram atividade no EAG em duas ou mais corridas. Apenas as amostras que apresentaram atividade nos bioensaios comportamentais foram analisadas por CG-EAG.

Análises químicas para identificação dos compostos (CG-DIC e CG -EM)

[044] As amostras obtidas foram analisadas por cromatografia gasosa acoplado a detector por ionização em chama (CG-DIC) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Para realização das análises cromatográficas, os extratos obtidos nas aerações foram retirados do freeze e mantidos em temperatura ambiente por um período de aproximadamente 5 minutos. Em seguida, uma alíquota de 1 µL de cada extrato foi introduzida no cromatógrafo gasoso acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC), modelo Shimadzu QP-2010 2 com uma coluna Nist-05 (5% Fenil, 95% Dimetilpolisiloxano) com (30 md. 0,25 mm).

[045] As condições de análises empregadas no GC-DIC e no CG-EM foram as mesmas descritas no item [043], exceto pela coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30 md. 0,25 mm). pelo gás de arraste que, nas análises por CG-DIC utilizou-se o nitrogênio e nas análises por CG-EM (modelo

QP 2010 Ultra Os espectros de massa foram obtidos com o CG-EM operando no modo de ionização por impacto de elétrons a 70 e V.

[046] Os compostos voláteis presentes nas amostras analisadas foram identificados da seguinte forma: análise de fragmentação de cada composto, comparação de espectro de massa de cada composto presente na amostra com aqueles compilados nas bibliotecas de referência (NIST 08s; NIST 27; NIST 147; e WILEY 229), comparação do índice de retenção calculado (Índice de Kovats) com aqueles disponíveis na literatura e em bancos de dados específicos (<pherobase.com> e em <pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), empregando o índice de similaridade e, quando disponível mediante coinjeção de padrões sintéticos.

[047] Os compostos voláteis presentes no extrato de camarão no estágio de decomposição (48 h), foram quantificados pelo uso do método de normalização de áreas, empregando tetradecano (C14) como padrão interno. As percentagens relativas destes compostos foram determinadas com base na metodologia descrita por Geerliet et al. (1997), na qual a divisão da área correspondente a cada pico no cromatograma dividida pela área total de todos os picos dos compostos identificados na amostra corresponde a contribuição de cada composto na mistura.

[048] Para confirmar a identidade dos compostos, presentes no extrato de camarão no estágio de decomposição de 2(48 h), foram preparadas soluções dos padrões analíticos comerciais (Sigma-Aldrich®, Brasil). As soluções destes padrões, em hexano bidestilado (grau HPLC, Vetec ®) foram preparadas na concentração de 1000 ppm, a qual foi considerada como solução estoque. A partir desta solução foram obtidas outras soluções com as concentrações desejadas para a realização dos testes.

Análises Estatísticas

[049] Os dados da resposta de machos e fêmeas para os diferentes tratamentos em olfátometro foram analisados utilizando-se o teste Qui-quadrado através do Software Genes (CRUZ, 2013).

[050] Os testes de campo foram realizados no Núcleo de Produção e Melhoramento Animal, localizado no Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio-Largo – AL. A área experimental escolhida possui 5.000 m² (100 x 50 m) e desta área foram subtraídos 10 m lineares como bordaduras para os quatro lados (10 m a área limite). A área experimental escolhida apresenta as seguintes coordenadas geográficas 9°28'29, 1" S e 35.49'43, 6" e as seguintes variáveis climáticas: temperatura variando entre 29 a 31 °C e umidade relativa do ar variando entre 58% a 60%. O experimento foi conduzido durante o período de 11 a 27 de novembro de 2019.

[051] Os septos de borracha impregnados com doses de aproximadamente 3 µL (KOVALESKII et al. 2003) foram utilizados liberadores dos apneumônios. Estes septos foram impregnados com as diferentes amostras – isca natural de extrato de camarão (48 h) – Solução sintética que continha fenol, 2-nonanona e dissulfeto de metila nas concentrações de 50ppm e 100 ppm – Tratamento testemunha hexano.

[052] O experimento foi conduzido em delineamento aleatório, com 4 tratamentos e 5 repetições (cada área foi considerada uma repetição). Os tratamentos testados foram os seguintes: tratamento 1: controle testemunha (hexano); tratamento 2: extrato de camarão 48 h; tratamento 3: solução dos padrões sintéticos na concentração de 50 ppm) e tratamento 4: solução dos padrões sintéticos na concentração de 100 ppm). As armadilhas utilizadas nesses testes consistem em depósitos de plásticos transparentes com capacidade de 3L, nas quais foram colocados pisos adesivos e, em cada septo de borracha foi adicionado um tratamento. As iscas contendo os tratamentos foram colocadas nos pisos das armadilhas e afixadas a 5m do solo e com distância aproximada de 20 m entre cada tratamento com distribuição ao acaso, seguindo as recomendações descritas por (ORTH et. al. 1986).

[053] A cada 3 (três) dias 3 µl (três) das soluções dos padrões sintéticos nas concentrações de 50 e 100 ppm e da amostra de extrato de camarão 48 h eram acrescentados nos septos de borrachas que se encontravam fixados dentro das

armadilhas. O controle testemunha (hexano) era adicionado diariamente, em razão da sua alta volatilidade.

[054] As avaliações foram realizadas diariamente, no período de 16:30 às 17h, sendo efetuada a contagem dos insetos no término de cada dia de experimento. Em seguida, as moscas eram acondicionadas em tubos de ensaios e congeladas para posterior identificação no Laboratório Central de Saúde de Alagoas (LACEN). Após cada avaliação as armadilhas eram rotacionada.

VANTAGENS DA PATENTE

[055] A nossa Isca atrativa para mosca varejeiras, *C. megacephala*, é proveniente de fonte natural de camarão em estágio de decomposição 48 h, sendo referenciada como semioquímicos apresentando inúmeras vantagens ao comparar com inseticida químico, entre as quais citam-se: biodegradáveis, redução dos impactos ambientais, não desenvolvem resistências nos insetos, espectro restrito de atuação.

[056] A Isca natural (extrato de camarão 48 h) é referenciada como aleloquímicos (apneumônios) utilizada com eficiência para monitoramento e controle de *C. megacephala*, além das inúmeras vantagens é de fácil aquisição e preço acessível.

[057] Outra vantagem é a durabilidade da atividade biológica do produto no campo, diminuindo os custos com aplicações sucessivas e mão de obra. O uso do atraente natural (extrato de camarão 48 h) como isca em armadilhas captura uma percentagem elevada da mosca alvo, acarretando no decréscimo da geração seguinte de *C. megacephala*.

[058] [054] Redução de problema de saúde, minimização da contaminação do produtor rural e consumidor final, alimentos saudáveis e redução dos impactos ambientais estão entre as principais vantagens.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[059] Figura 01. Média percentual de atratividade de moscas fêmeas de *C. megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de diferentes fontes -

carne bovina, peixe, camarão em condições de olfatômetros de quatro braços. A partir da análise estatística Qui- quadrado.

[060] Figura 02. Média percentual de atratividade de moscas Machos de *C. megacephala* frente aos compostos voláteis extraídos de diferentes fontes - carne bovina, peixe, camarão em condições de olfatômetros de quatro braços. A partir da análise estatística Qui- quadrado.

[061] Figura 03. As antenas das fêmeas *C. megacephala* apresentaram respostas eletroantenográfica para três picos presentes no extrato de camarão 48h.

[062] Figura 04. Cromatograma representativo dos compostos voláteis coletados de extrato de camarão 48h.

[063] Figuras 05 (A e B) espectros de massas do fenol composto 1

[064] Figuras -06 (A e B) espectros de massas do 2- nonanona composto 2

[065] Figuras - 07 (A e B) espectros de massas do Dissulfeto de metila composto

[066] Figura – 08 Utilizando o gráfico seminormal de probabilidades com envelope simulado observa-se pelo gráfico (A), das figuras que existem fortes evidências para considerar o modelo como adequado. Os tratamentos foram significativos ao nível de 5% de probabilidade de acordo com o teste qui quadrado (χ^2), sendo o melhor tratamento observado EA - Extrato da Aeração

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação de uma isca semioquímicos (apneumônios), eficaz no controle de moscas varejeiras *Chrysomya megacepala*, (Diptera:caliphoridae) **caracterizado pela** constituição de: Fenol, 2-nonanona, dissulfeto de metila.
2. Formulação de uma isca semioquímicos (apneumônios), de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os referidos apneumônios provêm de extrato de camarão 48 (camarão *in natura* exposto a um ambiente atmosférico por um período de 48 horas).
3. Formulação de uma isca semioquímicos (apneumônios), de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada por** compreender pelo menos três dos apneumônios: Fenol, 2- nonanona e dissulfeto de metila.
4. Uso de uma formulação para isca de semioquímicos (apneumônios), conforme definido na reivindicação 1, **caracterizado por** ser para o monitoramento e controle de *C. Megacephala*.
5. Uso de uma formulação para isca de semioquímicos (apneumônios), de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado por** um aleloquímico e cada um dos apneumônios estarem presentes na isca no mesmo distribuidor.
6. Uso de uma formulação para isca de semioquímicos (apneumônios), de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado pelo** uso combinado dos aleloquímicos, com, pelo menos, três compostos: fenol, 2 nonanona e dissulfeto de metila.

DESENHOS

Figura-01

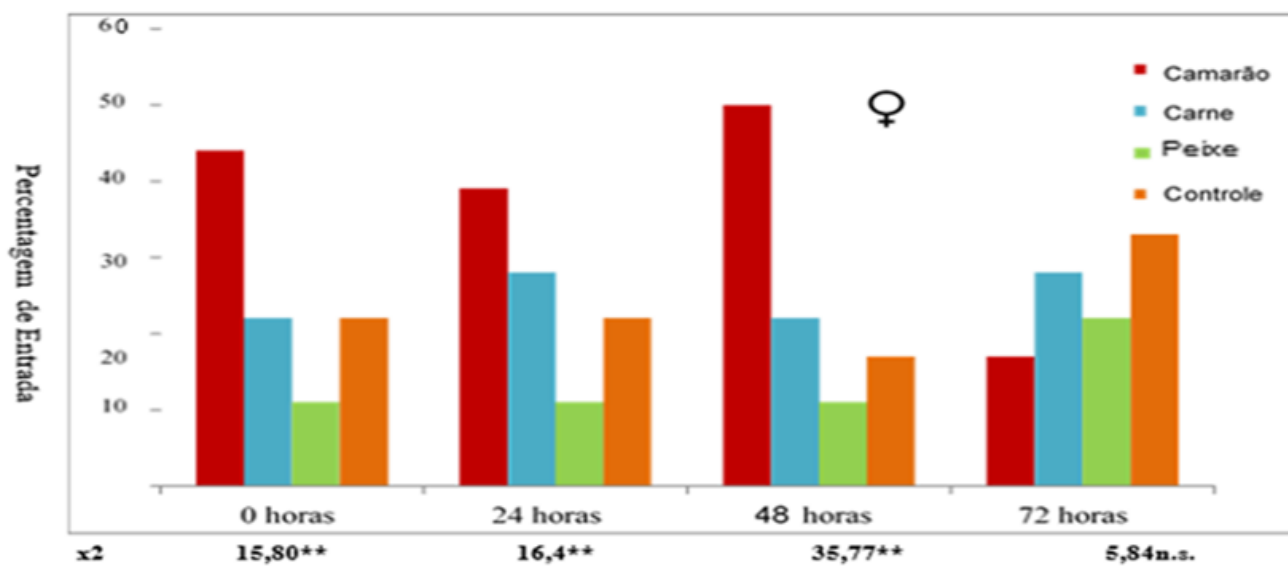


Figura-02

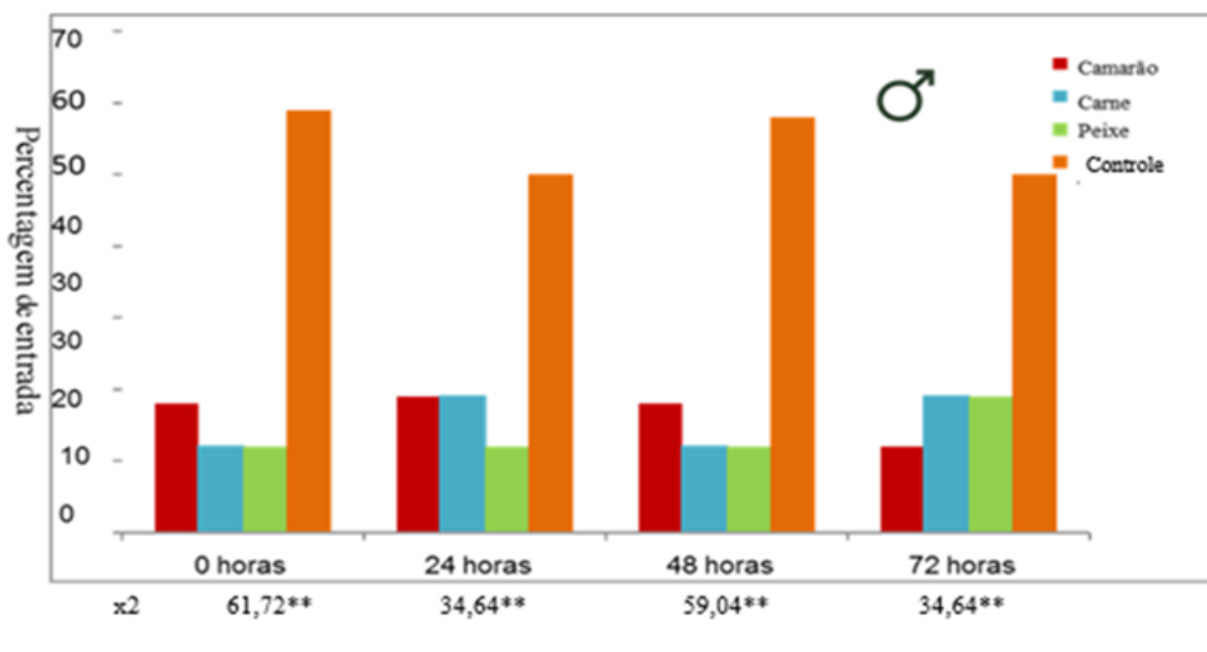


Figura - 03

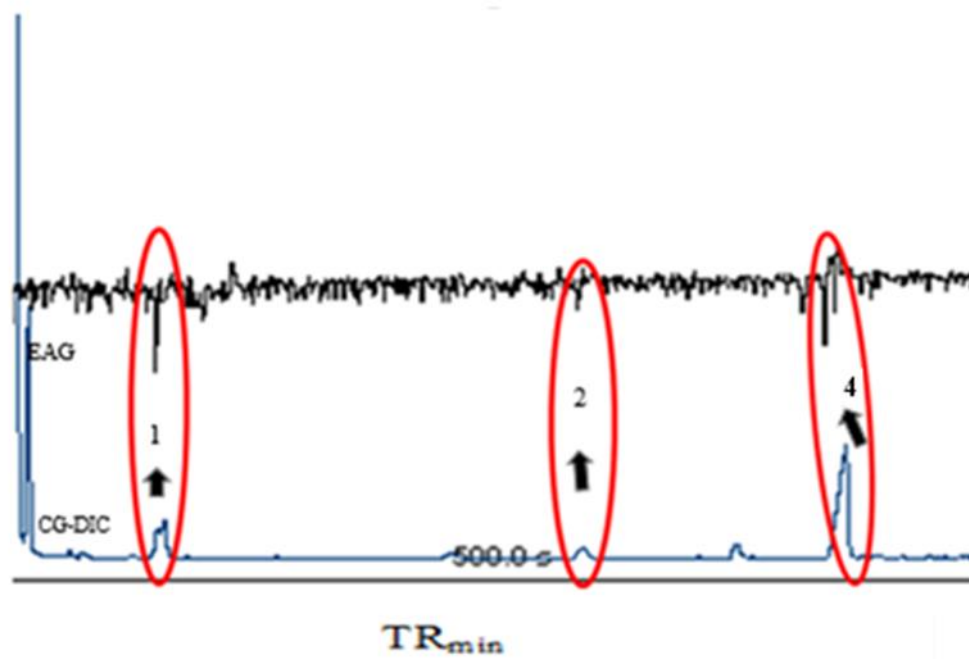


Figura - 04

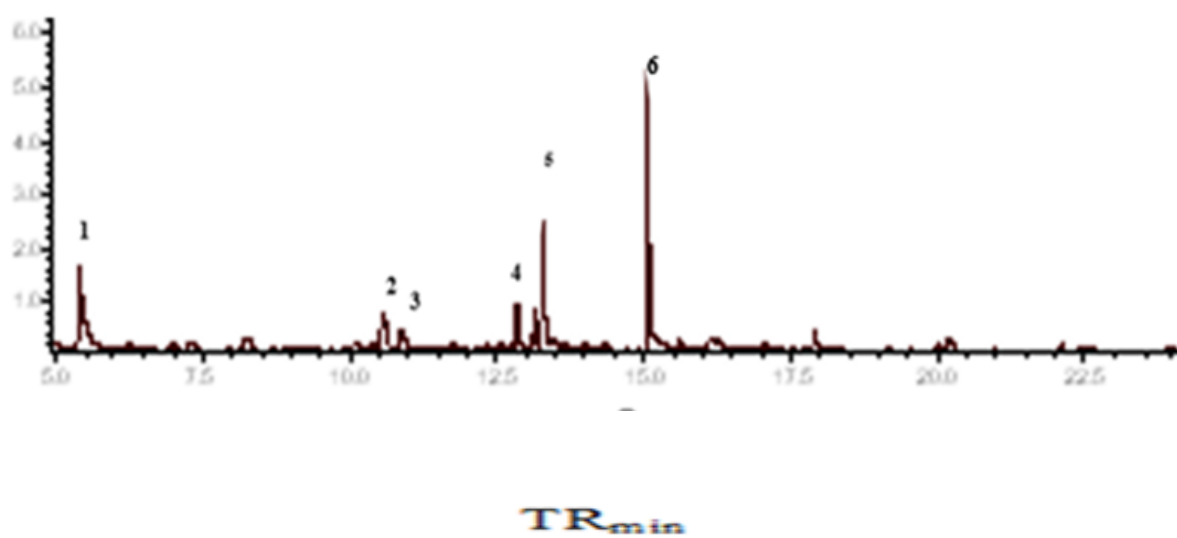
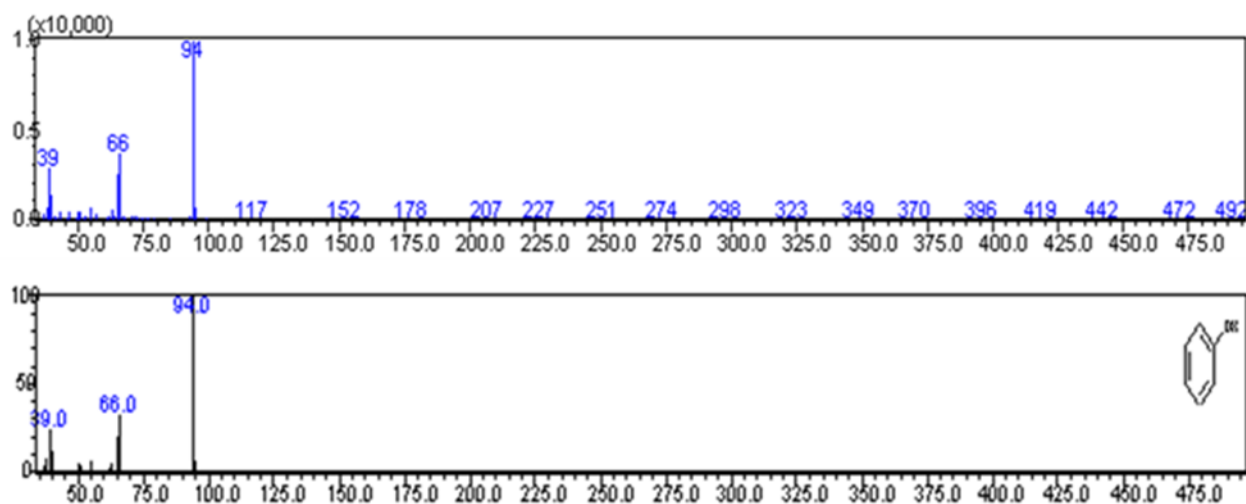
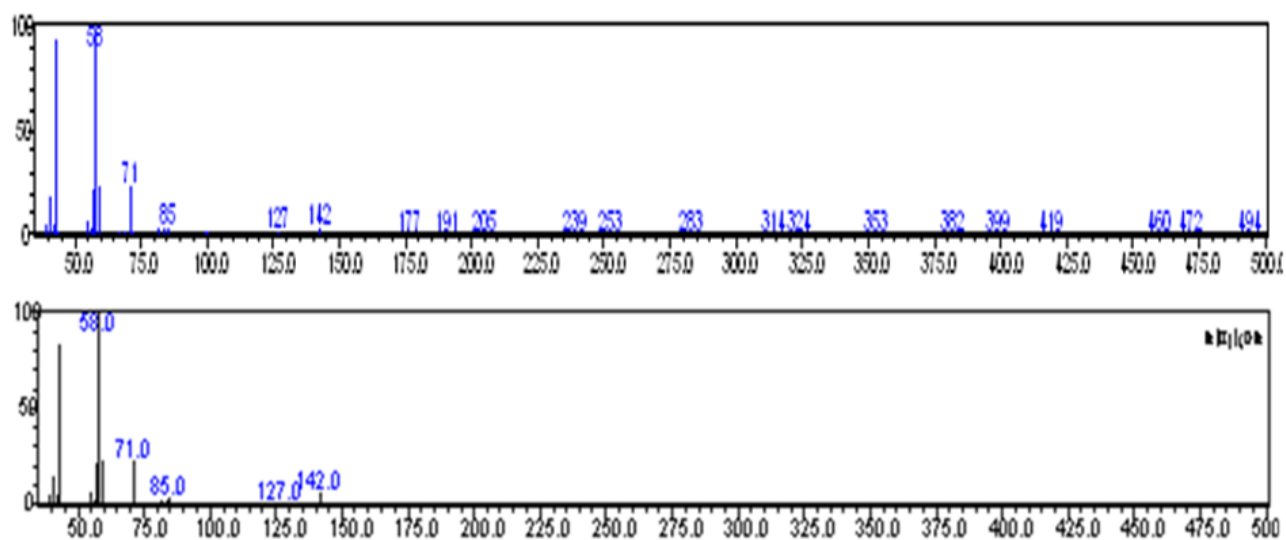


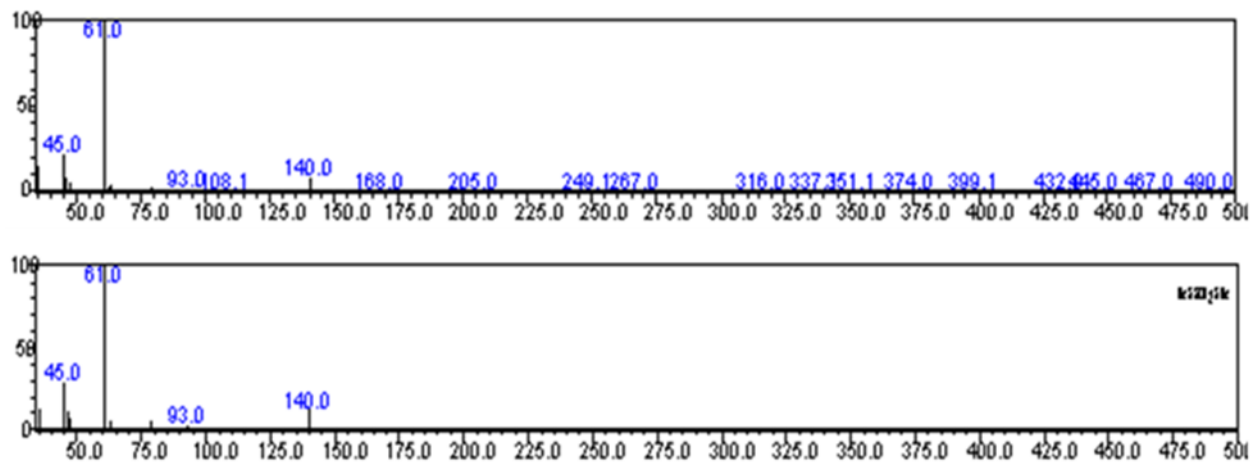
Figura-05



Figuras-06



Figuras - 07



Figuras - 08

