



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

CARTA PATENTE Nº BR 102021003816-0

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 102021003816-0

(22) Data do Depósito: 26/02/2021

(43) Data da Publicação Nacional: 13/09/2022

(51) Classificação Internacional: A01N 65/18; A01P 7/04; A01P 17/00.

(52) Classificação CPC: A01N 65/18.

(54) Título: PROCESSO E USO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE CROTON TRICOLOR KLOTZSCH EX BAILL. (SACATINGA), PERTENCENTE À FAMÍLIA EUPHORBIACEAE, EM FORMULAÇÕES COM FINS INSETICIDA E REPELENTE

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Pessoa Jurídica. Endereço: AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N, TABULEIRO DO MARTINS, MACEIÓ, AL, BRASIL(BR), 57072-970, Brasileira

(72) Inventor: LAYS NOGUEIRA MIRANDA; SÂMIA ANDRÍCIA SOUZA DA SILVA; LUCIANO APARECIDO MEIRELES GRILLO; CAMILA BRAGA DORNELAS; MEIRIELLY KELLYA HOLANDA DA SILVA; JOSIEL SANTOS DO NASCIMENTO; JOHNNATAN DUARTE DE FREITAS; ORLANDO FRANCISCO DA SILVA MOURA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 26/02/2021, observadas as condições legais

Expedida em: 15/07/2025

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

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

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “**Processo e Uso dos óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga), pertencente à família Euphorbiaceae, em formulações com fins inseticida e repelente**”.

[001] A presente invenção refere-se ao emprego dos óleos essenciais de folhas e ramos de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga), pertencente à família Euphorbiaceae, em formulações com fins ovicida, larvicida, pupicida, adulticida, inseticida e repelente contra todos os estágios de *Tribolium castaneum*. As soluções podem ser preparadas na forma de aerossol, soluções líquidas, pastas, géis, cremes, suspensões, impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica e através de dispositivos de queima e liberação por calor e podem estar associadas ou não a outros compostos inseticidas naturais e/ou sintéticos e a adjuvantes e veículos.

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPÕE A RESOLVER

[002] Dentre as pragas de insetos, o *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma das principais por causar danos quantitativos e qualitativos aos produtos pós-colheita, gerando prejuízos de centenas de milhões de dólares em diversos setores econômicos em todo o mundo. Além de apresentar alta adaptabilidade, principalmente em ambientes com alta umidade, e expressiva resistência aos inseticidas sintéticos ao longo dos anos (AJAHA, A.; BOUAYAD, N.; AARAB, A.; RHARRABE, K. Effect of 20-Hydroxyecdysone, a Phytoecdysteroid, on Development, Digestive, and Detoxification Enzyme Activities of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Insect Scienc.* v. 19, n. 5, p. 18-23. 2019.; ALCALA-OROZCO, M. et al. Repellent and Fumigant Actions of the Essential Oils from *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus, and *Lippia organoides* (V.) Kunth Against *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants.* 2019 DOI: 10.1080/0972060X.2019.1585966; OPIT, G. P. et al. Phosphine Resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* From Stored Wheat in Oklahoma. *Journal of economic entomology*, v. 105, n. 4, p. 1107-1114. 2012).

[003] No mais, as infestações de produtos armazenados por *T. castaneum* geralmente estão associadas a fungos de armazenamento, particularmente *Aspergillus flavus*, que liberam toxinas, a exemplo da aflatoxina B1, que induz a geração de radicais livres no corpo, contribuintes para desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer. De modo que, o consumo de alimentos contaminados representa um risco à saúde do ser humano e de outros animais (UPADHYAY, N. et al. Essential Oils as Eco-friendly Alternatives to Synthetic Pesticides for the Control of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2018. DOI: 10.1080/0972060X.2018.1459875).

[004] Este inseto, também conhecido como besouro de farinha vermelha, é uma praga cosmopolita, difícil de controlar, uma vez que explora fissuras, fendas e refúgios dentro dos equipamentos ou na estrutura dos edifícios, sendo extremamente necessária a identificação de alternativas seguras, ecológicas e eficazes para o seu controle (HASSAM, A. M.; SILEEM, T. M.; HASSAM, R. S. Verificação da irradiação atmosférica no plasma como método alternativo de controle para *Tribolium castaneum* (Herbst). *Revista Brasileira de Biologia*. Ahead of print. 2019).

[005] Neste contexto, a presente invenção refere-se a uma nova estratégia de controle deste inseto praga, a partir da utilização dos óleos essenciais da espécie *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill., pertencente à família Euphorbiaceae, em formulações com fins inseticida e repelente.

CAMPO DE ATUAÇÃO

[006] A presente invenção destina-se ao controle seguro, biodegradável, não tóxico e de baixo custo do inseto praga *T. castaneum*, através da utilização dos óleos essenciais de *C. tricolor* em formulações com fins inseticida e repelente, em substituição aos demais inseticidas e repelentes químicos sintéticos.

ESTADO DA TÉCNICA

[007] Em pesquisa de prospecção tecnológica realizada através da ferramenta de busca de patentes Derwent Innovations Index e das bases de patente Espacenet e INPI, foram identificadas 86 patentes de invenção acerca de produtos eficazes para

controle de *T. castaneum* em grãos armazenados, publicadas entre os anos de 1975 e 2020.

[008] Porém, das patentes identificadas neste estudo de prospecção tecnológica, a maioria das patentes de produtos inseticidas contra *T. castaneum* trata-se de inseticidas químicos sintéticos (n = 57, 66%), seguidos de bioinseticidas (n = 20, 23%) e produtos transgênicos (n = 9, 11%). Tal dado confirma os apontamentos da literatura sobre o uso de inseticidas químicos sintéticos como principal estratégia no manejo de insetos-praga, o que acarreta efeitos colaterais, incluindo poluição ambiental, resistência a inseticidas, ressurgimento de pragas secundárias e toxicidade para organismos não-alvo, a exemplo de micro-organismos do solo, polinizadores, peixes e até humanos (EBADOLLAHI, A.; SETZER, W. N. Evaluation of the Toxicity of Satureja intermedia C. A. Mey Essential Oil to Storage and Greenhouse Insect Pests and a Predator Ladybird. Foods, [s.l.], v. 9, n. 712, p. 1-12, jun. 2020).

[009] Quanto aos bioinseticidas, foram identificadas vinte patentes relacionadas a bioinseticidas contra *T. castaneum*, sendo 14 de origem botânica (70%), 04 de bactéria (20%) e 01 de fungo (5%). Em relação aos organismos mencionados nestas invenções, tem-se, para plantas: extrato de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, extrato de semente de *Citrullus lanatus*, composto químico derivado de parte aérea de *Artemisia pallens*, composto químico derivado da casca de *Piper nigrum* maduro, composto químico derivado das folhas de *Lantana camara*, composto químico derivado do caule de *Nothapodites foetida*, composto químico derivado de *Alpinia galanga*, extrato de raiz de *Decalepis hamiltoni* e conversão termoquímica do fruto do *Syagrus coronata*.

[010] Outros produtos de origem botânica referem-se a mix de vegetais contento, por exemplo, 1. *Sophora flavescens*, *Melia azedarach*, *Radix stemonae* e *Euphorbia fischeriana*; 2. Huangjing, folhas de eucalipto, peônia terrestre e pimenta e 3. *Fructus forsythia*, *Chenopodium ambrosioides*, *Cymbopogon citratus* e cravo-da-índia. Quanto às patentes com produtos originados de bactérias, tem-se diferentes endotoxinas produzidas pelo micro-organismo *Bacillus thuringiensis*, a exemplo de

CryET29, CryET33 e CryET34, enquanto o produto derivado de fungo não teve a identificação da espécie fúngica apresentada na descrição detalhada da patente.

[011] Algumas patentes de bioinseticidas identificadas neste estudo utilizam extratos de plantas para o controle de *T. castaneum*, mas a literatura também aponta outra fonte de compostos bioativos derivados de plantas com potencial inseticida, sendo eles os óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis. Esses óleos são metabólitos secundários derivados de plantas aromáticas, caracterizados por misturas complexas de constituintes químicos com diferentes grupos funcionais (GAIRE, S.; SCHARF, M. E.; GONDHALEKAR, A. D. Toxicity and neurophysiological impacts of plant essential oil components on bed bugs (Cimicidae: Hemiptera). Scientific Reports, [s.l.], v. 9, n. 2961, p. 1-12, 2019).

[012] Alguns estudos já comprovaram o potencial inseticida de alguns óleos essenciais de plantas contra algumas espécies de insetos, como *Acrobasis advenella*, *Musca domestica*, *Culex quinquefasciatus*, *Podisus nigrispinus*, *Anopheles stephensi*, *Cimex lectularius* e outras. Entretanto, através do referido estudo de prospecção tecnológica não foram identificadas patentes relacionadas ao uso de óleos essenciais contra *T. castaneum*.

[013] Tal fato, associado ao baixo número de patentes de bioinseticidas contra *T. castaneum*, quando comparado ao quantitativo de inseticidas químicos sintéticos, exemplifica a importância da identificação de novas fontes de produtos naturais com potencial inseticida para controle deste inseto-praga.

[014] As plantas evoluíram em resposta aos herbívoros e parasitas, de modo que formaram compostos químicos, denominados OE, que não desempenham papel essencial na fisiologia ou no metabolismo dessas, mas desempenham papel relevante na interação com seus inimigos. Esses OE são compostos voláteis, complexos e naturais, geralmente odoríferos, extraídos de folhas, raízes, cascas e sementes de plantas aromáticas, que consistem em alcalóides, terpenos, polifenóis, glicosídeos cianogênicos e outros (UPADHYAY, N. et al. Essential Oils as Eco-friendly Alternatives to Synthetic Pesticides for the Control of *Tribolium castaneum* (Herbst)

(Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2018. DOI: 10.1080/0972060X.2018.1459875).

[015] Algumas plantas biossintetizam OE, que afetam diretamente os processos bioquímicos dos insetos, podendo interromper o processo de morfogênese por sua neurotoxicidade, ou agindo como reguladores de crescimento e interferindo no metabolismo básico e na fisiologia dos insetos, além de poderem repelir os insetos e impedir a ovoposição e a emergência de adultos (PAJARO-CASTRO, N.; CABALERRO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J. Neurotoxic Effects of Linalool and β -Pinene on *Tribolium castaneum* Herbst. Molecules. v. 22, n. 2052, p. 1-12. 2017).

[016] Dentre essas plantas encontram-se as do gênero *Croton*, sobre as quais existem diversos estudos apontando o potencial inseticida e repelente dos OE contra algumas espécies de insetos, como *Nasutitermes corniger*, *Sitophilus zeamais*, *Aedes aegypti*, *Anopheles arabiensis* e outros (LIMA, J. K. A. et al. Biotoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). Industrial Crops and Products, v. 47. 2013; SANTOS, P. E. M. et al. Contact toxicity of essential oil of *Croton pulegioides* Baill on *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Rev. Caatinga, v. 32, n. 2, p. 329-335. 2019; MAVUNDZA, E. J. et al. Larvicidal activity against *Anopheles arabiensis* of 10 South African plants that are traditionally used as mosquito repellents. South African Journal of Botany, v. 88. 2013; LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. Parasitol res. v. 112. 2013). *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill., é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, que se mostra promissora para o desenvolvimento de biotecnologias com essa finalidade por apresentar um OE reconhecidamente não tóxico para mamíferos (FRANÇA-NETO, A. et al. Essential Oil of *Croton argyrophylloides*: Toxicological Aspects and Vasorelaxant Activity in Rats. Natural Product Communications. v. 7, n. 10. 2010).

[017] Sobre as perspectivas biotecnológicas do uso de OE, destaca-se a possibilidade de atuarem como bioinseticidas e repelentes, atuando no controle de insetos. Neste sentido, algumas deposições patentárias demonstraram a eficácia de

composições à base de OE de plantas para fins inseticida e repelente para alguns insetos-alvos, a exemplo das deposições patentárias nº BR 102017007359-9, que revelou potencial inseticida e repelente do OE de *Morinda citrifolia* Linn (Noni) contra *Aedes aegypti*, nº BR 102016012050-0, acerca de método para controlar ou eliminar formigas cortadeiras do gênero *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) à base de OE de *Lippia sidoides* (Verbenaceae), e nº KR2020064889-A; KR2123580-B1, que se refere à utilização de um blend de OE de plantas para prevenir pulgões de algodão.

[018] Na literatura, alguns trabalhos sugerem a utilização de estratégias biotecnológicas no combate ao inseto praga *T. castaneum*, foco dessa invenção, dos quais se destacam os pedidos de patente: BR 10 2019 0174757, que descreve preparações com atividade inseticida obtida a partir de extratos vegetais das sementes da espécie *Crotalaria stipularia*; e BR 10 2020 006006 6, que retrata a obtenção de inseticida a partir do colmo de *Guadua angustifolia* Kunth.

[019] Porém, ressalta-se que não foram encontrados pedidos de patente nas bases do INPI, Espacenet e Derwent Innovation Index relacionadas ao uso de formulações à base de OE de plantas como inseticidas contra *T. castaneum*.

DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO

Tabela 01 – Apresenta o comparativo dos problemas identificados com as soluções propostas pela invenção

PROBLEMAS IDENTIFICADOS	SOLUÇÕES PROPOSTAS POR ESTA INVENÇÃO
Prejuízos econômicos e em saúde oriundos da infestação de produtos armazenados pelo inseto praga <i>Tribolium castaneum</i> .	Disponibilização de nova estratégia de controle deste inseto praga a partir de formulações contendo óleos essenciais de <i>C. tricolor</i> .
Resistência do <i>T. castaneum</i> a alguns inseticidas químicos sintéticos	Disponibilização de novo bioinseticida e repelente, que não contribui para o surgimento de resistência em insetos, como alternativa aos inseticidas químicos sintéticos
Inseticidas químicos sintéticos promovem contaminação do solo e dos grãos através da deposição de liangs nocivos, além do efeito altamente tóxico em aplicadores.	Disponibilização de bioinseticida e repelente biodegradável e não tóxico.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[020] Figura 1: Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato 72 horas após exposição. A: mortalidade após exposição ao óleo essencial de ramos de *C. tricolor*; B: mortalidade após exposição ao óleo essencial de folhas de *C. tricolor*. As barras correspondem à média $\pm$ a diferença estatística das três repetições. O símbolo * indica diferença significativa entre grupo tratado e controle pelo teste qui-quadrado.

[021] Figura 2: Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier demonstrando o efeito dos óleos essenciais de *C. tricolor* sobre adultos de *T. castaneum*. Taxas de sobrevivência de insetos tratados e não tratados com óleo essencial e mantidos por 72 horas em farinha de trigo. A: mortalidade após exposição ao óleo essencial de ramos de *C. tricolor* (OERCT); B: mortalidade após exposição ao óleo essencial de folhas de *C. tricolor* (OEFCT).

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[022] A presente invenção refere-se ao emprego dos óleos essenciais das folhas e ramos de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill., conhecida popularmente no sertão brasileiro como Sacatinga, em formulações com fins ovicida, larvicida, pupicida, adulticida, inseticida e repelente contra todos os estágios de *Tribolium castaneum*, apresentando-se como alternativa promissora aos inseticidas químicos sintéticos no manejo de pragas agrícolas.

[023] A composição da invenção pode incluir também a utilização destas formulações na forma de aerossol, soluções líquidas, pastas, géis, cremes, suspensões, impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica e através de dispositivos de queima e liberação por calor e podem estar associadas ou não a outros compostos inseticidas naturais e/ou sintéticos e a adjuvantes e veículos ou outra composição industrialmente aceitável. A invenção poderá ser utilizada em ambiente interno e externo, residencial e comercial e/ou instalações rurais.

[024] Os óleos essenciais podem ser conservados sob refrigeração, no intervalo térmico entre -1°C a -4°C e protegido da luz, para aplicação posterior, seja com objetivo repelente ou inseticida.

[025] Assim, os passos seguintes são pertinentes aos experimentos realizados na obtenção dos óleos essenciais e às técnicas analíticas de sua atividade repelente e inseticida.

Coleta do material vegetal

[026] Ramos e folhas da espécie *C. tricolor* foram coletados de diferentes espécimes no Assentamento Gastone Beltrão, localizado no município Olho D'água do Casado no estado de Alagoas, coordenadas geográficas 9°30'59.7"S 37°50'56.4"W.

[027] A amostra vegetal coletada foi armazenada sob refrigeração em saco plástico com Zip Lock e conduzida ao Laboratório de Farmacognosia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas no qual foi feita a separação de ramos e folhas. Posteriormente, a amostra foi triturada separadamente e mantida em refrigeração até extração dos óleos essenciais (OE).

Identificação da espécie *Croton tricolor*

[028] Após a coleta de ramos e folhas, necessária para realização das análises iniciais, separou-se uma amostra da espécie vegetal para testes de identificação e disposição de exemplar no repositório do Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente (IMA) do estado de Alagoas. A planta selecionada apresentava todas as estruturas morfológicas (ramos, folhas, flores e frutos) necessárias para o processo de identificação, com registro MAC nº 64999.

Extração dos óleos essenciais

[029] As amostras trituradas da espécie *C. tricolor* foram submetidas à hidrodestilação em equipamento Clevenger para extração dos OE. O início da destilação foi marcado pela ebulição do solvente (água) e teve duração de cinco horas. A fase oleosa foi separada da fase aquosa utilizando um funil de separação e a água residual foi removida adicionando sulfato de sódio anidro. Os óleos essenciais foram armazenados em frascos de vidro âmbar e mantidos em freezer (-1°C a -4°C).

Insetos

[030] Adultos não-sexados de *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) foram coletados da cultura mantida pelo Laboratório de Bioquímica Metabólica do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, na qual os mesmos foram criados em meio de cultura de farinha de trigo (umidade: 72% a 76%, temperatura: 23°C a 29°C, ciclo claro-escuro: 12 horas). Os insetos utilizados em todos os experimentos foram adultos jovens (até 07 dias).

Teste de repelência

[031] A avaliação do potencial de repelência dos OE de *C. tricolor* contra *T. castaneum* foi desenvolvida com base no método de preferência de área proposto por BACCARI et al. (BACCARI, Wiem; et al. Composition and insecticide potential against *Tribolium castaneum* of the fractionated essential oil from the flowers of the Tunisian endemic plant *Ferula tunetana* Pomel ex Batt. Industrial crops e products, v. 143. 2020). Para tanto, os óleos essenciais de ramos e folhas foram colocados em discos circulares de 9 cm de papel filtro, cortados em semicírculos.

[032] Foi preparada uma solução de 4 µL de OE diluídos em 1 ml de acetona e uma medida de 0,5 ml da solução foi distribuída uniformemente no primeiro semicírculo, resultando numa concentração aproximada de 0,12 µL/cm², e a outra metade foi mergulhada em 0,5 ml de acetona, atuando como controle.

[033] Os papéis filtro foram secos por 10 minutos e fixados no fundo de uma placa de Petri com o auxílio de fita dupla face. Então, 20 insetos adultos jovens foram depositados no meio do disco de papel filtro e o número de insetos em cada metade foi registrado após 15, 30, 60 e 120 minutos. O teste foi realizado em cinco réplicas.

[034] O Percentual de Repelência (PR) em cada tempo foi calculado pela seguinte fórmula:

[035] $PR (\%) = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] \times 100$, onde Nc refere-se ao número de adultos no semicírculo controle e Nt ao número no semicírculo tratado com OE. Os valores obtidos no teste foram analisados com base nas classes de PR propostas por McDonald, Guy e Speirs (MCDONALD, L. L.; GUY, R. H., SPEIRS, R. D. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. USDA Marketing Research Report No. 882. Agricultural

Research Service, US Department of Agriculture., Washington, DC, USA, 1970), sendo elas: 0 - > de -0,1% a < 0,1%; I – de 0,1 a 20%; II – de 20,1 a 40%; III – de 40,1 a 60%; IV – de 60,1 a 80% e V – de 80,1 a 100%.

Bioensaio de toxicidade de contato

[036] Para o desenvolvimento do bioensaio de toxicidade de contato contra *T. castaneum*, adultos jovens foram tratados com concentrações de 1, 2,5, 5, 7,5 e 10% de OE de folhas e 1, 5, 10, 15 e 20% do OE de ramos de *C. tricolor*. Dez insetos foram coletados em placas de Petri e mantidos no freezer por 1 minuto, a fim de reduzir a mobilidade dos mesmos e tornar seu manuseio mais fácil (DEB, M.; KUMAR, D. Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): An eco-friendly approach, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 189. 2020).

[037] Preparou-se a solução de OE diluído em acetona e uma alíquota de 2,0 µL desta solução foi aplicada topicamente à região mesotorácica dos insetos. Após 2 minutos da exposição eles foram transferidos para recipientes plásticos contendo farinha de trigo como meio de cultura e a mortalidade foi registrada em 24, 48 e 72 horas, para identificação de LD50 e LD90. Por sua vez, o controle do ensaio foi realizado com acetona em mesma metodologia e cada teste foi realizado em triplicata.

RESULTADOS OBTIDOS

Potencial de repelência dos óleos essenciais

[038] A partir da metodologia de preferência de área foi possível identificar que os OE de *C. tricolor*, numa concentração aproximada de 0,12 µL/cm², apresentaram potencial de repelência contra *T. castaneum* em todos os tempos de exposição com classe de PR variando de IV a V, sendo o óleo essencial de folhas da *C. tricolor* (OEFCT) responsável por maior PR, obtendo classe V em 30 e 60 minutos após exposição (tabela 2).

Tabela 2 - Atividade repelente do óleo essencial de Croton tricolor contra adultos de *T. castaneum* em diferentes tempos de exposição.

Amostra testada	Tempo (min.)	Atividade repelente (%)	Classe
OEFCT	15	80 ± 0,0*	IV
	30	84 ± 11,0*	V
	60	96 ± 5,5*	V
	120	80 ± 12,2*	IV
OERCT	15	68 ± 8,3*	IV
	30	66 ± 18,1*	IV
	60	66 ± 18,1*	IV
	120	72 ± 13,0*	IV

OEFCT = óleo essencial de folhas de *Croton tricolor*; OERCT = óleo essencial de ramos de *Croton tricolor*; * = apresenta diferença significativa entre meio tratado e não tratado ($p < 0,05$) de acordo com teste não paramétrico Wilcoxon.

Toxicidade de contato dos óleos essenciais

[039] O ensaio de toxicidade de contato com óleo essencial de folhas e ramos de *C. tricolor* em concentração de 1, 2,5, 5, 7,5 e 10% e 1, 5, 10, 15 e 20%, respectivamente, permitiu identificar potencial inseticida contra adultos de *T. castaneum* em 24, 48 e 72 horas após exposição. De modo que, o óleo essencial dos ramos de *C. tricolor* (OERCT) atingiu 100% de mortalidade após 72 horas na concentração de 20% (tabela 3) e OEFCT apresentou 96,7% de mortalidade após o mesmo período na concentração de 10% (figura 1), demonstrando significativa redução na sobrevivência dos insetos nos grupos tratados com OE de *C. tricolor* quando comparada com a sobrevivência do grupo não tratado (figura 2).

Tabela 3 - Mortalidade de *T. castaneum* em ensaio de toxicidade de contato por tempo após exposição.

Tempo	OERCT			OEFCT		
	C (%)	M (%) ± DP	χ^2 (DF)	C (%)	M (%) ± DP	χ^2 (DF)
24h	1	0 ± 0	0 (1)	1	6,67 ± 5,8	0 (1)
	5	16,67 ± 20,8	1,456 (1)	2,5	40 ± 17,3	9,317 (1)*
	10	50 ± 20	13,871 (1)*	5	56,67 ± 15,3	17,330 (1)*
	15	56,67 ± 11,5	17,330 (1)*	7,5	50 ± 17,3	13,871 (1)*
	20	100 ± 0	52,500 (1)*	10	93,3 ± 11,5	45,067 (1)*
48h	1	6,67 ± 5,8	0 (1)	1	13,33 ± 5,8	0,741 (1)
	5	33,33 ± 5,8	6,667 (1)*	2,5	53,33 ± 20,8	15,556 (1)*
	10	63,33 ± 25,1	21,172 (1)*	5	73,33 ± 15,3	27,778 (1)*
	15	76,67 ± 11,5	30,240 (1)*	7,5	73,3 ± 11,5	27,778 (1)*
	20	100 ± 0	52,500 (1)*	10	96,7 ± 5,8	48,654 (1)*
72h	1	16,67 ± 20,8	1,456 (1)	1	16,67 ± 11,5	1,456 (1)
	5	40 ± 10	9,317 (1)*	2,5	53,33 ± 20,8	15,556 (1)*
	10	66,67 ± 30,5	23,254 (1)*	5	73,33 ± 15,3	27,778 (1)*
	15	76,67 ± 11,5	30,240 (1)*	7,5	80 ± 10	32,851 (1)*
	20	100 ± 0	52,500 (1)*	10	96,7 ± 5,8	48,654 (1)*

C = concentração; M = Mortalidade; DP = desvio padrão; χ^2 = qui-quadrado; DF = degrees of freedom; * = significância (p < 0,05).

[040] A comparação do percentual de mortalidade de *T. castaneum* 72 horas após exposição aos dois óleos essenciais de *Croton tricolor* mostrou que o OEFCT provoca maior mortalidade com uma concentração final menor que a do OERCT. Tal dado é ratificado pelos valores de LD₅₀/LD₉₀, os quais mostram que o *T. castaneum* é mais sensível ao OEFCT em ensaio de toxicidade de contato (tabela 4).

Tabela 4 - Toxicidade de contato dos óleos essenciais de *C. tricolor* contra *T. castaneum* após 24, 48 e 72 horas de exposição.

Óleo essencial	Tempo (h)	LD ₅₀ (µg/adulto) (IC ₉₅)	LD ₉₀ (µg/adulto) (IC ₉₅)	χ^2	Valor p
OERCT	24	2,193 (0,032 – 5,752)	4,832 (2,930 – 2,545E11)	9,898	0,019
	48	1,369 (1,030 – 1,731)	4,750 (3,499 – 7,682)	6,989	0,072
	72	1,054 (0,124 – 2,522)	5,356 (2,309 – 1032,080)	7,972	0,047
OEFCT	24	0,923 (-)	3,601 (-)	11,085	0,011
	48	0,601 (0,449 – 0,758)	2,164 (1,593 – 3,571)	4,876	0,181
	72	0,558 (0,414 – 0,705)	1,990 (1,475 – 3,221)	2,239	0,504

LD₅₀ = dose letal que mata 50% dos organismos de teste; LD₉₀ = dose letal que mata 90% dos organismos de teste; χ^2 = qui-quadrado; IC = intervalo de confiança.

VANTAGENS DA PATENTE

[041] Em virtude do crescente aumento populacional, surge a necessidade de maximizar a produtividade agrícola, visando atender à demanda por alimentos, incluindo os grãos. Porém, a estratégia de controle de pragas mais comumente utilizada, os inseticidas químicos sintéticos, apresentam riscos ao ambiente e à saúde humana. Do mesmo modo, crescem as exigências sociais para o desenvolvimento de biotecnologias que combatam as pragas desses produtos de forma segura para o ambiente e para a saúde humana e eficaz no seu objetivo de controle de insetos pragas.

[042] Sendo assim, utilizando OE de *C. tricolor*, produto reconhecidamente não tóxico para mamíferos, a solicitada invenção apresenta vantagens em relação às metodologias já existentes:

[043] - O processo de extração do OE de *C. tricolor* mostra-se compatível para produção dessa biotecnologia, uma vez que a utilização de formulações à base desse produto mostra-se eficaz para o controle de *T. castaneum*;

[044] - O OE de *C. tricolor* mostrou-se altamente tóxico e repelente para *T. castaneum* em baixas concentrações;

[045] - Esta invenção não gera impactos negativos para o meio ambiente e saúde humana, como vistos nos inseticidas químicos sintéticos, mostrando-se biodegradável, não tóxico e de baixo custo;

[046] - A realização deste invento possibilita uma maior diferenciação e fortalecimento da biotecnologia brasileira, uma vez que utiliza um recurso natural da flora local e aumenta o valor de maneira sustentável à matéria prima estudada.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição inseticida e repelente contra *Tribolium castaneum* caracterizada por conter óleos essenciais de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Sacatinga) obtidos pela extração dos óleos essenciais de ramos e folhas de *Croton tricolor* in natura ou secos ou mantidos sob refrigeração e aplicados puros no controle de praga de grãos armazenados nas formas de ovo ou larva ou pulpa ou adultos em soluções que variam de 1 a 20% dos óleos essenciais.
2. Composição inseticida e repelente, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela aplicação ser em qualquer ambiente interno ou externo ou residencial ou comercial ou em instalações rurais.
3. Composição inseticida e repelente, de acordo com as reivindicações 1 ou 2, caracterizado por estar associado a todo e qualquer tipo de diluente eficaz na preparação de soluções líquidas ou pastas ou géis ou cremes ou aerossol ou suspensões de modo que foram impregnados em suportes físicos para liberação eletrônica ou através de dispositivos de queima e liberação por calor.

DESENHOS

Figura 1

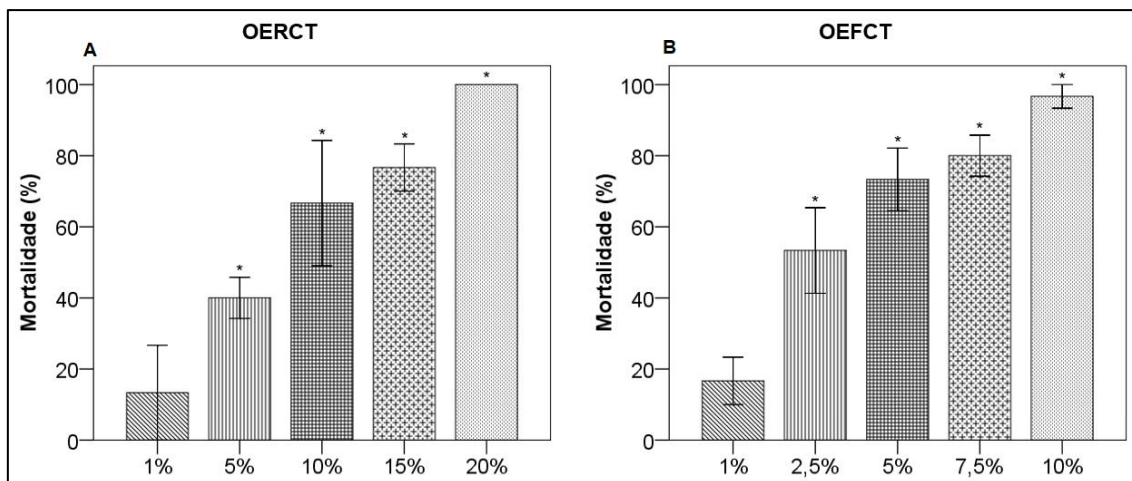


Figura 2

