



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

CARTA PATENTE Nº BR 102020018455-5

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 102020018455-5

(22) Data do Depósito: 10/09/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 22/03/2022

(51) Classificação Internacional: A01N 65/08; A01N 63/14; A01P 7/04.

(52) Classificação CPC: A01N 65/08; A01N 63/14.

(54) Título: FORMULAÇÃO DE ATRAÇÃO DE MACHOS VIRGENS DE C. ANONELLA, BASEADA NA COMBINAÇÃO SINÉRGICA DE EXTRÁTOS DE PLANTAS FRUTIFICADAS DE ANNONA SQUAMOSA COM O FEROMÔNIO SEXUAL DE FÊMEAS DE C. ANONELLA

(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: RITA DE CÁSSIA CORRREIA DA SILVA; RUTH RUFINO DO NASCIMENTO; MAXDOUGLAS DOS SANTOS; FABIANE CAXICO DE ABREU GALDINO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 10/09/2020, observadas as condições legais

Expedida em: 29/10/2024

Assinado digitalmente por:
Alexandre Dantas Rodrigues

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

RELATÓRIO DESCritivo DA PATENTE DE INVENÇÃO PARA “Formulação de atração de machos virgens de *C. anonella*, baseada na combinação sinérgica de extratos de plantas frutificadas de *Annona squamosa* com o feromônio sexual de fêmeas de *C. anonella*”

[001] A presente patente tem por objetivo a preparação de uma formulação a base da mistura do extrato hexânico dos constituintes voláteis liberados por plantas frutificadas de pinha (*Annona squamosa*) e do feromônio sexual de fêmeas virgens de *C. anonella* com efeito sinérgico na atração de machos da broca do fruto das anonáceas.

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER

[002] A fruticultura apresenta-se como uma atividade de muita importância para o setor agrícola brasileiro e, dentre as frutíferas cultivadas no território nacional, a pinheira (*Annona squamosa*) apresenta grande importância econômica entre as espécies cultivadas. Entretanto, esta espécie de anonácea é alvo de problemas fitossanitários, dentre os quais, a incidência de pragas é um dos principais fatores de redução da sua produtividade. A broca-do-fruto (*Cerconota anonella*) é considerada uma das mais nocivas pragas devido aos danos que causa a esta cultura, pois além de depreciar a qualidade dos frutos (devido a alimentação da polpa pelas lagartas), ainda facilita a entrada de vários organismos oportunistas (fungos e bactérias) no interior dos frutos (BRAGA SOBRINHO, 2014).

[003] Devido a carência de informações e a inexistência de produtos oficialmente registrados no MAPA para o controle dessa broca em pinheiras, faz-se necessário a utilização de métodos alternativos, como é o caso do emprego de semioquímicos como cairomônios e feromônios, que venham a preencher esta lacuna (BURT, 2004; REDDY; UERRERO, 2004).

[004] Os semioquímicos liberados por plantas e frutos hospedeiros afetam o comportamento reprodutivo de machos e fêmeas de lepidópteros, atuando como sinalizadores que orientam os machos virgens para os sítios de acasalamento, mesmo na ausência de feromônio sexual.

[005] A utilização dos semioquímicos no controle de insetos-praga tem como principal entrave a liberação destes compostos, visto que eles apresentam alta volatilidade, fazendo com que seja necessário a determinação de parâmetros específicos, como a taxa de liberação ou a composição do atraente, para garantir a efetividade na atração.

[006] Os semioquímicos devem ser impregnados em materiais conhecidos como liberadores, que apresentam a propriedade de liberar os compostos a uma taxa relativamente constante, durante o período de captura do inseto-alvo, o que pode variar de alguns dias a diversos meses (EVALDO F.; DELLA LUCIA, 1987).

[007] Dentre os liberadores utilizados, a quitosana é um biopolímero promissor, de origem natural, proveniente da desacetilação da quitina, um polissacarídeo presente no exoesqueleto de animais como crustáceos, moluscos e insetos (SONIA; SARMA, 2011). A quitosana pode ser utilizada em um processo denominado de microencapsulação, promovendo uma camada polimérica que isola ou protege os compostos bioativos, atuando como uma barreira contra os diversos fatores ambientais, que podem vir a liberar o material sob condições específicas e, ainda, em taxas controladas de velocidade e de quantidade (JANSSON-CHARRIER *et al.*, 1996; HEUSKIN *et al.*, 2011).

[008] A presente invenção se propôs a investigar a existência de sinergismo entre o feromônio sexual liberado por fêmeas virgens de *C. anonella* e os compostos voláteis liberados pela planta hospedeira, na atração de machos de *C. anonella*, visando a obtenção de uma ferramenta eficaz na atração de machos coespecíficos, para minimizar o problema enfrentado pelos produtores destes frutos, no que se refere ao ataque da praga em questão, pelo uso de uma formulação contendo a mistura destes semioquímicos.

CAMPO DE ATUAÇÃO

[009] A presente invenção destina-se ao uso em plantios comerciais de *A. squamosa* nas diversas regiões brasileiras em que essa cultura está disseminada, objetivando o controle e consequente diminuição dos prejuízos causados pela broca do fruto *Cerconota anonella*.

ESTADO DA TÉCNICA

[010] Atualmente, o Brasil destaca-se em nível mundial quanto a produção e exportação de frutas, tendo exportado mais de 234 mil toneladas de frutas no primeiro trimestre de 2020, segundo a ABRAFRUTAS (2020). Dentre as frutíferas cultivadas em solo brasileiro, a pinheira (*Annona squamosa* L) destaca-se devido ao excelente sabor do seu fruto, que é muito utilizado na elaboração de purês, sorvetes, musses, iogurtes e sucos (RIBEIRO *et al.*, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2008).

[011] Estudos comprovam a importância da relação dos insetos herbívoros com seus respectivos hospedeiros e essa integração pode gerar mudanças fisiológicas e/ou estimular comportamentos específicos nos insetos, tais como alimentação, acasalamento e oviposição, devido às interações estabelecidas entre os feromônios produzidos pelos insetos e os aleloquímicos liberados pela planta hospedeira (LANDOLT; PHILLIPS, 1997).

[012] Os compostos voláteis presentes nas plantas hospedeiras podem desencadear uma atração mais acentuada em insetos quando liberados em associação com o feromônio sexual. Esta combinação pode resultar em sinergismo, uma vez que a resposta desencadeada no organismo receptor é maior do que a observada quando o feromônio sexual ou os compostos voláteis da planta hospedeira são testados separadamente. A sinergia entre os semioquímicos de plantas e o feromônio sexual pode conferir ao inseto um maior sucesso no acasalamento, desempenhando, provavelmente, um papel importante no isolamento reprodutivo (REDDY; GUERRERO, 2004).

[013] Em pesquisas realizadas em diferentes bases patentárias foi encontrado o registro de patente referente à mariposa *Cerconota anonella*, a patente BR102014010066A2, intitulada composição com atividade feromonal e seu uso no controle da broca de frutos anonáceas, a qual refere-se a formulação com atividade de feromônio sexual, eficazes no controle da broca de frutos (*Cerconota anonella*) de anonáceas (pinha, graviola e atemóia). Já para extratos a base de espécies do gênero *Annona* foram encontradas os seguintes registros de patentes: BR102018008313A2,

intitulada formulação inseticida e/ou acaricida, microencapsulada por secador de spray, de *Annona squamosa* e *Annona muricata* que caracteriza o desenvolvimento de um produto microencapsulado natural, por secagem por pulverização, à base de extrato hexânico de semente de *A. squamosa* (pinha) e extrato etanólico de *A. muricata* (graviola) com ação inseticida / acaricida e a BRPI1105786A2 denominada composições fitopraguicidas sinérgicas a partir da combinação de extratos de Annonaceae e Piperaceae e processos de utilização contra *Aedes aegypti* e outras pragas, refere-se a extratos a partir de sementes de graviola *Annona muricata* e frutos de pimenta do reino *Piper nigrum*, que foram testados em diferentes combinações contra o mosquito, vetor de dengue *Aedes aegypti*.

[014] Considerando a ação de compostos voláteis de plantas hospedeiras no comportamento de diversas espécies de lepidópteros e a inexistência de patentes baseadas no sinergismo dos compostos voláteis liberados por plantas de *A. squamosa* em associação com o feromônio e seu potencial como atraente para machos adultos de *C. anonella*, os autores, desta invenção, propõem, através de estudos biológicos comportamentais, o desenvolvimento de um bioproduto, baseado nos semioquímicos, administrado na forma de formulação específica e agricolarmente aceitável, que sirva para captura de machos de *C. anonella*.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[015] A presente invenção reivindica a composição da formulação em biopolímero da mistura do extrato de voláteis de planta de *A. squamosa* em estágio frutificado e do feromônio sexual atraente para os machos de *C. anonella*. As formulações testadas foram: o extrato de voláteis de planta de *A. squamosa* em estágio frutificado, extrato do feromônio sexual e a mistura dos extratos de voláteis de planta de *A. muricata* em estágio frutificado e o extrato do feromônio sexual (na proporção de 1:1), sendo esta mistura, a formulação que apresentou atividade sinérgica. As formulações foram preparadas utilizando 10 µL dos extratos individuais/mistura adsorvidos em 10 mg do substrato biopolimérico quitosana, por um período de 24 horas, em uma sala com temperatura controlada (25°C), as quais foram colocadas em eppendorfs e testadas posteriormente com machos virgens de *C. anonella*.

[016] A composição da invenção pode conter um ou mais agentes poliméricos tais como celuloses, proteínas, caseína, polímeros baseados em fluorcarbono, resinas hidrogenadas, ligninas, melamina, poliuretanas, polímeros vinílicos, tais como acetato de polivinila (PVAC), policarbonatos, polivinilideno dinitrila, poliamidas, álcool polivinílico (PVA), poliamida-aldeído, aldeído polivinílico, poliésteres, cloreto de polivinila (PVC), polietilenos, poliestirenos, polivinilideno, silicones, e combinações dos mesmos. Exemplos de celuloses incluem, mas não estão limitados a, metilcelulose, etil celulose, acetato de celulose, acetato-butirato de celulose, acetato-propionato de celulose, propionato de celulose, e combinações dos mesmos.

Exemplo 1: Coleta e armazenamento dos frutos infestados para obtenção dos insetos adultos.

[017] Frutos infestados com lagartas da broca-dos-frutos, *C. anonella* foram coletados no município de Coruripe-AL (10°09'54"S; 36°21'07"W) e levados para o laboratório de Ecologia Química, do Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Os frutos maduros e verdes, com sinais de infestação da praga *C. anonella*, foram armazenados em gaiolas de madeira (30 cm de largura x 30 cm de comprimento x 30 cm de altura) com as laterais cobertas por tela de material plástico, para facilitar a ventilação.

Exemplo 2. Manutenção dos Insetos.

[018] Os frutos infestados foram utilizados para a remoção das lagartas de *C. anonella*. Com o auxílio de luvas e pinças, as lagartas foram individualmente retiradas e mantidas em placas de Petri de acrílico contendo dieta artificial de realimentação, sendo mantidas em laboratório para criação até obtenção das pupas. A dieta para a alimentação das lagartas foi constituída pelos seguintes ingredientes: gérmen de trigo, cloridrato de colina, sais de Wesson, ácido ascórbico, farelo de soja, açúcar, nipagin, ácido sórbico, ágar-ágar, solução vitamínica, formol, ambrasinto, vita gold e água destilada e foi preparada conforme metodologia já estabelecida (Silva, 2004). No estágio de pupa, fêmeas e machos foram sexados com o auxílio do microscópio, baseado na presença de poro genital, presente em machos e, ausente em fêmeas. Em seguida, foram colocadas em placas forradas com algodão umedecido com água

destilada e uma solução de sulfato de cobre a 1%, cobertas com papel filtro e mantidas em câmara de vidro (9 cm de largura x 16 cm de comprimento x 9,5 cm de altura) devidamente etiquetadas, onde se encontrava um recipiente de vidro contendo o alimento (solução de mel em água a 10%). Após a emergência dos insetos adultos, fêmeas e machos virgens foram colocados em câmaras de vidro (9 cm de largura x 16 cm de comprimento x 9,5 cm de altura) devidamente identificadas, contendo alimento. Os machos virgens foram utilizados em bioensaios posteriores. Este procedimento ocorreu em sala climatizada ($24,1^{\circ}\text{C} \pm 1,2$ e $65\% \text{ UR} \pm 1,9$), com fotoperíodo invertido (12h:12h), no horário das 8h às 12h.

Exemplo 3. Obtenção das Plantas.

[019] As plantas utilizadas nos experimentos foram pinheiras (*A. squamosa*) no estágio frutificado cultivadas pelo Laboratório de Biologia vegetal BIOVEG - CECA-UFAL, situado no Campus Delza Gitaí, no município de Rio Largo, Alagoas ($7^{\circ}27'57''\text{S}$; $34^{\circ}50'1''\text{W}$).

Exemplo 4. Obtenção dos extratos das plantas de pinha frutificada.

[020] Os extratos de plantas de *A. squamosa*, no estágio frutificado, foram obtidos pelo uso da técnica de aeração, também conhecida como headspace dinâmico, utilizando sacos plásticos, hermeticamente fechados, contendo em uma das extremidades (entrada) um tubo com carvão ativo, que serviu como filtro para purificar o ar que entrava no sistema, e na outra extremidade (saída) existia um segundo tubo contendo um polímero adsorvente, neste caso, 150 mg de Tenax[®] (Supelco, diâmetro poroso de 60-80 mesh), para adsorver as substâncias voláteis liberadas pelas plantas. Uma bomba de ar foi conectada na extremidade contendo o tubo de carvão ativado e a corrente de ar (filtrada com carvão ativo) que entrava, passava no interior do saco e seguia em direção ao tubo contendo o adsorvente (Tenax[®] TA). A aeração foi processada por um período de 24 horas.

[021] Os compostos voláteis liberados pelas plantas foram dessorvidos da superfície do adsorvente, Tenax[®], através da passagem de 1mL de hexano (C_6H_{12}) bidestilado (Sigma- Aldrich, grau HPLC). Os extratos foram armazenados em ampolas com

capacidade de 2 mL. Em seguida, as ampolas foram seladas, identificadas e mantidas em freezer para uso posterior nos bioensaios comportamentais.

Exemplo 5. Obtenção de extratos de glândulas abdominais de *C. anonella*.

[022] Dez fêmeas virgens de *C. anonella*, com idade variando entre 2-3 dias e apresentando o comportamento de chamamento, foram retiradas das gaiolas de manutenção e levadas ao freezer (-5°C) localizado no Laboratório de Ecologia Química (IQB-UFAL), durante 5 minutos, para fins de imobilização e de manutenção das condições fisiológicas da glândula produtora do feromônio. Ao término desse período, as fêmeas foram retiradas do freezer e, com auxílio de um bisturi, o sétimo e oitavo segmentos abdominais de cada fêmea foram cortados e mantidos em uma cuba de vidro, onde permaneceram em contato com 100 µL de hexano por cerca de 30 segundos. Durante todo o processo de preparação dos extratos, a cuba foi mantida imersa em gelo, a fim de evitar a evaporação do solvente. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, o extrato obtido foi transferido para um tubo, tipo *vial*, anteriormente identificado e levado ao freezer para posterior utilização nos bioensaios.

Exemplo 6. Ensaios de laboratório com as formulações.

[023] Para avaliar os comportamentos exibidos por machos virgens de *C. anonella*, os bioensaios foram conduzidos em sala climatizada, com temperatura média de 26,2°C e umidade relativa média de 40%, do laboratório de Ecologia Química (UFAL), durante a escotofase, no período das 8:00 às 12:00 h. Foram utilizados machos virgens de *C. anonella*, com idade variando entre 2 a 5 dias, utilizando um tubo bifurcado com quatro entradas para amostras (15,7 cm de comprimento x 4,4 cm de altura), ao qual foi acoplada uma área de monitoramento (54 cm de comprimento x 25,8 cm de largura x 24,7 cm de altura) e uma bomba para introdução de ar no interior do olfatômetro, o qual foi purificado mediante passagem prévia em filtro de carvão ativo. Pelo fato dos bioensaios serem realizados no escuro, os mesmos foram conduzidos com auxílio de uma luz vermelha, para visualização do comportamento do inseto.

[024] As formulações testadas foram adicionadas em um dos braços do sistema do “Y”, e foram substituídos a cada bioensaio. A formulação foi considerada preferencial,

quando atraiu os insetos ou provocou algum comportamento específico (antenação, voo curto e/ou voo longo orientado) em direção ao mesmo. As posições dos tratamentos foram alterados entre os braços do olfatômetro para evitar qualquer efeito tendencioso de habituação.

[025] Nos bioensaios foram testados as seguintes formulações (tratamentos): extrato de glândulas produtoras de feromônio sexual extraídas de fêmeas virgens de *C. anonella*, extrato de planta de *A. squamosa* no estágio frutificado, a mistura constituída pelo extrato contendo o feromônio sexual e o extrato de *A. squamosa* no estágio frutificado na proporção de 1:1 e hexano (controle). Foram realizadas 12 repetições para cada tratamento, utilizando um macho virgem em cada repetição, com período de observação de 15 minutos.

Exemplo 7. Análises estatísticas.

[026] Os dados obtidos nos bioensaios foram analisados primeiramente com a finalidade de verificar os pressupostos paramétricos de normalidade e homogeneidade das variâncias dos tratamentos. Uma vez que os parâmetros de normalidade não foram atendidos, o teste não-paramétrico de Wilcoxon ($P<0,05$) foi aplicado a fim de verificar quais tratamentos influenciaram no comportamento de atratividade para fêmeas acasaladas e machos virgens. Todas as análises estatísticas foram executadas no programa Origin 8.

Resultados obtidos

Resposta de machos de *C. anonella* para extratos da planta de *A. squamosa*, extratos de feromônio sexual e misturas contendo os dois extratos.

[027] Com exceção do hexano, machos virgens de *C. anonella* foram atraídos para todos os tratamentos testados, exibindo os comportamentos de antenação, voo curto e voo longo orientado para a fonte de odor, pouso e permanência na fonte de odor (Figura 1). Dentre os tratamentos, um maior número de machos foi atraído para a mistura constituída pelo extrato contendo o feromônio sexual e o extrato de *A. squamosa* no estágio frutificado na proporção de 1:1, como pode ser visto na figura 1.

[028] Comparando-se as respostas dos machos para os extratos testados, constatou-se a preferência destes pela mistura constituída pelo extrato contendo o feromônio sexual e o extrato de *A. squamosa* no estágio frutificado na proporção 1:1, seguida do extrato contendo o feromônio sexual de fêmeas virgens de *C. anonella* (Figura 2).

[029] Segundo WANG (2008), os semioquímicos mais importantes para os insetos são os compostos voláteis da planta hospedeira e os feromônios liberados pelos insetos, visto que a combinação destes (efeito sinérgico) pode modular o seu comportamento.

[030] Alguns voláteis ativos de plantas têm um efeito sinérgico com feromônios sexuais ou agem como repelentes de insetos que são aplicados para controlar pragas de insetos no campo (LIGHT *et al.*, 1993; RICHARD; THACKER; TRAIN, 2010).

[031] Os insetos produzem ou liberam feromônios sexuais em resposta a sinais específicos da planta hospedeira e as substâncias voláteis oriundas de plantas hospedeiras frequentemente potencializam (efeito sinérgico) a resposta de um inseto aos feromônios sexuais. As interações entre semioquímicos da planta hospedeira e feromônios dos insetos foram reconhecidas como um sistema de comunicação essencial dentro das espécies (REDDY; GUERRERO 2004).

[032] Quando comparados aos feromônios sexuais de lepidópteros que atuam especificamente, atraindo apenas machos coespecíficos; os voláteis de plantas exercem a vantagem de influenciar as fêmeas de insetos, promotoras dos danos causados as plantas hospedeiras e principal alvo de controle no manejo de pragas (LI *et al.*, 2017; MECHABER *et al.*, 2002,). Os voláteis das plantas podem ser empregados em estratégias eficientes de proteção de culturas por atuarem de forma específica e não serem prejudiciais para o meio ambiente.

[033] O perfil dos voláteis liberados pelas plantas pode mudar conforme a variedade e estágios fenológicos da planta hospedeira, podendo ser: vegetativo, florado ou frutificado (HARE, 2011; ZHU; PARK, 2005).

[034] Os voláteis da planta hospedeira também podem provocar um efeito positivo sobre o comportamento de insetos que determina o nível de especialização entre

eles. Este efeito pode resultar em sinergismo em que a resposta para a mistura do feromônio sexual e os compostos voláteis da planta é maior do que quando se leva em consideração os resultados de atração para cada um dos extratos que compõe a mistura com ação sinérgica (REDDY; GUERRERO, 2004).

[035] As respostas dos machos de *C. anonella* decorrente da interação entre o feromônio sexual e o extrato da pinheira é de grande relevância em estudos relacionados ao uso de semioquímicos. A resposta olfatória de lepidópteros para odores de plantas são conhecidas por serem muito importantes na localização do hospedeiro. Assim, uma mudança de hospedeiro ou estágio fenológico envolve uma alteração na preferência pelo mesmo (THOMPSON; PELLMYR, 1990), podendo aumentar ou diminuir a atração.

[036] Machos e fêmeas de *Anaglyptus subfasciatus* (Cerambycidae), pragas florestais mais prejudiciais do Japão, são atraídos pelo cedro japonês e pelo cipreste japonês para alimentação. A mistura de acetato de metilfenila, um dos constituintes florais do hospedeiro, com o feromônio sexual liberado pelos machos foram significativamente mais atraentes para as fêmeas do que o feromônio ou o éster sozinho (NAKAMUTA *et al.*, 1997).

[037] No momento em que se detecta um parceiro, o sistema olfativo do inseto é confrontado não apenas com feromônios sexuais, mas também pela presença de odores de fundo, como é o caso dos voláteis de plantas (REISENMAN; LEI; GUERENSTEIN, 2019). Os estudos conduzidos por Varela *et al.* (2011), utilizando uma mistura contendo cinco compostos voláteis presentes no pessegueiro, para determinar se os voláteis da planta hospedeira em associação à mistura sintética de feromônio sexual potencializavam comportamentos exibidos por machos da mariposa da maçã, *Grapholita molesta* em condições de laboratório, demonstraram que, quando estes compostos voláteis são associados ao feromônio sexual das fêmeas desencadeiam um aumento da atratividade de machos desta espécie para a mistura testada, evidenciando a sinergia entre os constituintes químicos presentes na mistura testada.

[038] A demonstração da potencialidade da atração sexual induzida pela combinação do feromônio sexual de um inseto em particular com os odores do hospedeiro pode servir para a obtenção de iscas eficazes para uso em armadilhas para o manejo de pragas de insetos. Iscas baseadas apenas em feromônios sintéticos têm pouca probabilidade de serem competitivas com sinais provenientes de alimentos ou plantas (REDDY; GUERRERO, 2004).

[039] A pesquisa com semioquímicos tem sido bastante difundida, uma vez que apresenta vantagens importantes do ponto de vista ambiental, principalmente no que se refere a sua alta especificidade, seu caráter atóxico e eficácia em baixas concentrações (PIRES, 2013).

VANTAGENS DA PATENTE

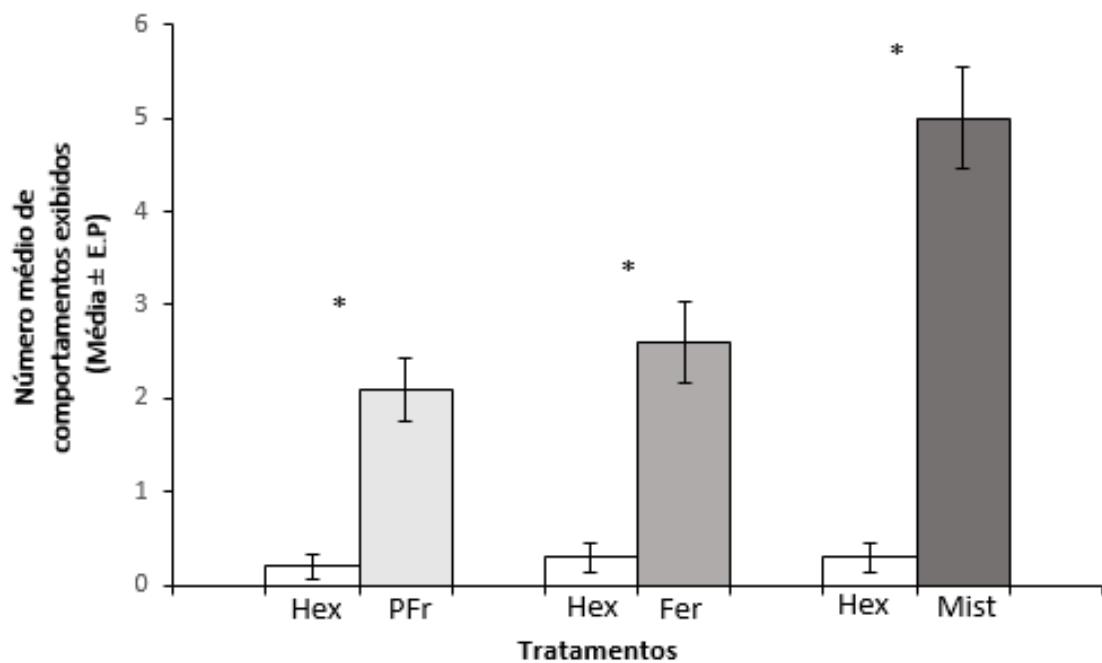
[040] A invenção é inteiramente ecológica, pois são substâncias produzidas e utilizadas pelo próprio inseto e dessa forma agem especificamente sem interferir em organismos não alvos, agregando assim maior valor ao produto.

[041] Surge como uma nova possibilidade para uso no controle por comportamento da praga em estudo, podendo servir, como mais um método para ser agregado ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), principalmente para diminuir o número de acasalamento e, consequentemente promover a diminuição da população deste inseto-praga em plantios comerciais de *A. squamosa* e *A. muricata*.

[042] É economicamente viável, devido ao seu baixo custo com relação a mão de obra utilizada para a aplicação, ambientalmente correta, pode ser aplicado no desenvolvimento de iscas formuladas a base de extrato de *A. squamosa* no estágio frutificado e de feromônio sexual para a captura de fêmeas acasaladas e machos virgens de *C. anonella*, visando minimizar os seus impactos nessa cultura.

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação da mistura atraente com atividade sinérgica para machos virgens de *C. anonella*, **caracterizada por** compreender a mistura dos constituintes orgânicos voláteis liberados por plantas frutificadas de pinha (*Annona squamosa*) e do feromônio sexual de fêmeas virgens de *C. anonella* na proporção 1:1, adsorvidos em 10 mg do substrato biopolimérico quitosana, por um período de 24 horas.
2. Formulação da mistura atraente com atividade sinérgica para machos virgens de *C. anonella*, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelos** constituintes presentes na mistura ser obtidos através do procedimento de headspace dinâmico.
3. Formulação da mistura atraente com atividade sinérgica para machos virgens de *C. anonella*, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pela** obtenção dos extratos das plantas de pinha frutificada.

DESENHOS**FIGURA 01****FIGURA 02**