



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

CARTA PATENTE Nº BR 122024011735-5

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 122024011735-5

(22) Data do Depósito: 08/03/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 06/10/2020

(51) Classificação Internacional: A01N 27/00; A01N 35/02; A01N 31/02; A01P 19/00.

(52) Classificação CPC: A01N 27/00; A01N 35/02; A01N 31/02.

(62) Divisão do Pedido: BR102019004543-4 de 08/03/2019

(54) Título: FORMULAÇÕES ATRAENTES PARA FÊMEAS DE A. OBLIQUA (DIPTERA: TEPHRITIDAE) ORIUNDAS DE COMPOSTOS COMUNS AO FRUTO HOSPEDEIRO CARAMBOLA E AOS COMPONENTES VOLÁTEIS LIBERADOS POR MACHOS HOMOEESPECÍFICOS

(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: RUTH RUFINO DO NASCIMENTO; NATHALY COSTA DE AQUINO CARLOS; FABIANE CAXICO ABREU GALDINO; LUANA LIMA FERREIRA; CLAUDINETE DOS SANTOS SILVA; JESSICA DE LIMA SANTOS; REGIVALDO DOS SANTOS MELO; RITA DE CASSIA CORREIA DA SILVA; ADRIANA DE LIMA MENDONÇA; RAPHAEL DE FARIAS TAVARES.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 08/03/2019, observadas as condições legais

Expedida em: 18/03/2025

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

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

Formulações atraentes para fêmeas de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) oriundas de compostos comuns ao fruto hospedeiro carambola e aos componentes voláteis liberados por machos homoespecíficos
“Dividido do BR10 2019 004543-4, de 08/03/2019”

Campo da invenção

[001] Formulações atraentes para *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) provenientes de compostos comuns ao fruto de carambola e aos componentes voláteis liberados por machos homoespecíficos. As formulações poderão ser utilizadas em pomares associadas ao Manejo Integrado de Pragas sendo enquadrado no setor do agronegócio.

Fundamentos da invenção

[002] A produção mundial de frutas apresenta uma grande diversidade de espécies cultivadas, sendo caracterizada, principalmente, por frutas de clima temperado, as quais são produzidas e consumidas, em maior escala, no Hemisfério Norte. No âmbito mundial, a produção de frutos é superior a 800 milhões de toneladas, sendo a China, Índia e Brasil os países responsáveis por 49,28% desta produção (FAO, 2017, disponível em: FAOSTAT-www.fao.org, consultado em 05 de junho de 2019).

[003] Na fruticultura brasileira, a produção é predominantemente destinada ao mercado interno. Entretanto, sete variedades de frutas frescas: manga, melão, uva, limão, maçã, melancia e mamão, representam aproximadamente 80% do mercado internacional, produzindo uma receita de US\$ 335 bilhões (ABRAFRUTAS, 2024; disponível em: <https://abrafrutas.org/2024/02/as-frutas-mais-produzidas-no-brasil-a-do-parana-vai-te-surpreender/>; consultado em 15 de maio de 2024).

[004] No entanto, à medida que a população mundial aumenta, faz-se necessário um aumento na escala de produção de alimentos, implicando no surgimento de uma variedade de insetos-praga, decorrente, basicamente, de quatro fatores: oferta de alimento, alta taxa reprodutiva, hábito alimentar polífago e ausência de inimigos naturais (ZARBIN, 2009).

[005] Dentre os insetos-praga que causam maior prejuízo econômico à fruticultura mundial, estão as moscas das frutas do gênero *Anastrepha*, que se encontram distribuídas desde os Estados Unidos até a parte sul do continente americano (NÚÑEZ-BUENO, 1994). Neste continente, o Brasil é o país que apresenta a maior diversidade de espécies de *Anastrepha* (NORRBOM, 2004), sendo que as mais polífagas são *A. fraterculus* (Wiedemann, 1830) e *A. obliqua* (Macquart, 1835) (ZUCCHI, 2000).

[006] No território brasileiro, dentre os principais frutos hospedeiros de *A. obliqua* encontram-se a manga, a goiaba e a carambola. Atualmente, o Brasil é um dos maiores produtores de manga e goiaba no mundo (ABRAFRUTAS, 2024). O plantio de carambola ainda é incipiente e destina-se principalmente para o consumo no mercado interno.

[007] Em geral, os principais danos causados aos frutos hospedeiros são provocados por fêmeas e larvas de moscas das frutas. As fêmeas depositam seus ovos no interior do fruto e ao emergirem as larvas se alimentam da polpa do mesmo, resultando na diminuição da qualidade. Além disso, os orifícios produzidos pela inserção do ovipositor da fêmea na superfície do fruto facilitam o acesso de microorganismos oportunistas no interior do fruto, os quais também contribuem para a degradação do mesmo.

[008] Nas interações entre moscas das frutas e seus hospedeiros, os compostos voláteis liberados pelos frutos afetam o comportamento reprodutivo, atuando como pistas olfativas que auxiliam esses insetos na localização de sítios adequados para alimentação, acasalamento e oviposição (SILVA et al. 2023).

[009] Os compostos voláteis liberados por hospedeiros de moscas das frutas são denominados cairomônios e atuam em três contextos distintos: como precursores de moléculas de feromônio, como afrodisíacos, aumentando o desempenho sexual de machos e sucesso no acasalamento e como atraentes de fêmeas para sítios de acasalamento e oviposição (TAN & NISHIDA, 1996; NISHIDA et al. 2000; VERA et al. 2013; MALO et al. 2012; BACHMANN et al. 2015, SILVA, 2017).

[0010] A volatilidade dos compostos que intermediam as interações entre as moscas das frutas e seus hospedeiros constitui um dos principais obstáculos para o uso destes cairomônios em estratégias de monitoramento e controle destes insetos-praga. Assim sendo, é imprescindível a incorporação destes compostos em matrizes que impeçam a

degradação provocada por agentes exógenos (radiação ultravioleta, oxigênio e temperatura) e atuem promovendo a liberação gradual e constante destes no campo (VALLADARES, AUDINO e STRUMIA, 2015).

[0011] Os liberadores utilizados para semioquímicos são diversos, com destaque para o septo de borracha que possui sistemas matriciais, onde os semioquímicos estão adsorvidos em uma espécie de rede formada por cadeias de uma ou várias substâncias químicas polimerizadas, denominada matriz, que atua como agente modulador da liberação (MUÑOZ-PALLARES *et al.*, 2001). Um outro tipo liberador são os polímeros naturais, que tem como característica uma degradação não-tóxica, proveniente da desacetilação da quitina, um polissacarídeo presente no exoesqueleto de animais como crustáceos, moluscos e insetos (ANGELOVA & HUNKELER, 1999).

[0012] A caracterização das misturas de compostos comuns ao feromônio sexual liberado por machos de *A. obliqua* e ao fruto hospedeiro carambola e a incorporação destas em biopolímero adsorvente constitui o principal objetivo deste estudo, que visa a aplicação dessas formulações como iscas olfativas para uso no monitoramento e controle deste inseto-praga.

Breve descrição dos desenhos

[0013] A Figura 1 – Atratividade para formulações com compostos comuns ao fruto de carambola e ao feromônio sexual produzido por machos de *A. obliqua*. A designação **ns** significa que estatisticamente não foi constatada diferença significativa entre as formulações das misturas e a formulação contendo o extrato hexânico do fruto carambola (tratamento-controle).

Descrição da invenção

[0014] A invenção consiste na produção de formulações de misturas de compostos voláteis comuns ao feromônio de machos de *A. obliqua* e ao fruto carambola, as quais funcionam como atraentes para fêmeas coespecíficas e constituem um sistema gradual de liberação dessas misturas.

[0015] Os exemplos a seguir destinam-se a compreender melhor a invenção, onde as etapas de concretização da invenção são descritas.

[0016] **Exemplo 1.** Coleta do material biológico e manutenção dos insetos

[0017] Coletas de frutos de carambola infestados pela praga de *Anastrepha obliqua* e de frutos sadios foram realizadas em pomares no município de Maceió-AL (9°39' 59" S, 35° 44' 6" W). Após a coleta, os frutos infestados foram condicionados no laboratório de Ecologia Química, da Universidade Federal de Alagoas, em gaiolas de isopor (44 × 35 × 25 cm) para a espera do período de emergência das moscas. Após a emergência dos insetos adultos, eles foram mantidos em gaiolas de vidro (30cm x20,5cm x 16cm), com disponibilidade de dieta artificial rica em proteína e carboidratos (extrato de soja, açúcar, levedo de cerveja e germe de trigo na proporção 3:3:1:1) e recipientes contendo água e frutos que servem para domesticação da população. Foram realizadas semanalmente a limpeza das gaiolas de vidro, dietas, água e frutos. A temperatura da sala de criação foi mantida em 25°C, umidade relativa de 60% e fotoperíodo de 14 horas (14h luz/10h escuro).

[0018] **Exemplo 2.** Coleta dos voláteis dos frutos

[0019] Foram realizadas aerações para obtenção de extratos do fruto carambola que seriam utilizados nos testes comportamentais. Para tanto, foram utilizados 250 gramas do fruto no estágio verde que posteriormente foram colocados em um dessecador de vidro que estava acoplado a um fluxo de ar contínuo que tende a purgar as substâncias voláteis, emitidas pela carambola, para um polímero adsorvente Tenax® (150,0 mg de diâmetro de 60-80 mesh). Uma bomba de ar (Resun® AC 2600) com um filtro de carvão ativo, estava interligada a um fluxômetro (Supelco® 0,5 L/min), que controla a saída de ar para o dessecador. A cada 24 h foi realizada a troca do trap que continha o adsorvente Tenax®. Os traps com os compostos voláteis da carambola adsorvidos foram dessorvidos com hexano bidestilado grau HPLC (2,0 mL), distribuídos em ampolas seladas e acondicionadas em freezer.

[0020] **Exemplo 3.** Testes comportamentais em laboratório

[0021] A identificação do feromônio de machos de *A. obliqua* foi realizada por Da Silva (2017) e a identificação química do extrato de carambola por Gonçalves (2001). Após a comparação das análises dos constituintes químicos do feromônio e da carambola foram revelados a presença de compostos comuns entre estes extratos, a saber: ocimeno, 2-hexanona e linalol. Estes compostos, foram adquiridos comercialmente pela Sigma-Aldrich (grau de pureza 98,5%) e utilizados para o preparo das formulações contendo 0,01 g de um substrato biopolimérico e 10µl das misturas resultando em uma dose de 10 ng. As proporções utilizadas para o ocimeno, 2-hexanona e linalol foram de 1:1,5:25,3 respectivamente.

[0022] Testes comportamentais foram realizados em uma arena de vidro (45cm x 30 cm x 30 cm) que foi coberta com tecido tipo *voil* durante a realização dos testes que ocorreram no período entre as 14:00-17:00h. Na arena de vidro, foram penduradas as formulações nas extremidades da arena, de maneira equidistante (30 cm), tendo como controle positivo o extrato do fruto de carambola e o controle negativo o eppendorf contendo o polímero adsorvente (substrato). Cada teste comportamental teve a duração de 20 minutos totalizando 6 repetições para cada formulação. Em cada repetição, foram utilizadas 6 moscas diferentes, sendo todos os testes de dupla escolha no qual o inseto foi exposto a dois tratamentos por repetição. Em cada teste, foram observados dois comportamentos nos insetos: agonístico e comportamento de atração para a fonte de odor. As misturas testadas foram: M1FC: ocimeno, 2- hexanona, linalol, M2FC: ocimeno e 2- hexanona, M3FC: 2- hexanona, linalol e M4FC: ocimeno e linalol.

[0023] **Exemplo 4.** Análise estatística

[0024] Após os testes comportamentais foram realizadas as análises estatísticas com o software Assistat 7.7. Os testes de Lilliefors e Kolmogorov- Smirnov ($p < 0.05$) foram usados para avaliar os parâmetros de normalidade e homogeneidade das variâncias dos resultados. Constatado o parâmetro de normalidade e homogeneidade, foi aplicado o teste t de Student ($p < 0.05$) para verificação de diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos em uma mesma repetição.

[0025] Diversos estudos revelam a ação dos compostos comuns ao extrato de carambola e feromônio e diferentes espécies de moscas das frutas. Para a espécie de *C. capitata*

os componentes: acetato de etila, acetato de geranila, 2,3-dimetilpirazina, 2,5-dimetilpirazina, (*E,E*)- α -farneseno, (*E*)-3-hexenoato de etila, indol, linalol, mirceno, (*E*)-6-nonen-1-ol, (*E*)-nonenoato de metila, (*E*)-3-octenoato de etila, (*E*)- β -ocimeno e pirrol, eliciaram atividade comportamental ou eletrofisiológica em machos e/ou fêmeas coespecíficos em bioensaios conduzidos em laboratório ou em campo (JACOBSON et al 1973, OHINATA et al 1977, 1979, BAKER et al, 1985, JANG et al 1989, BAKER et al 1990, COSSÉ et al 1995).

[0026] Em um trabalho, Cha et al (2017) identificou nove compostos voláteis ativos para machos e fêmeas de *R. zephyria*, a partir de frutos de *S. albus*, da variedade *laevigatus*, foram eles: 3-metilbutan-1-ol, trissulfeto de dimetila, 1-octen-3-ol, mirceno, nonanal, linalol, (3*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT), decanal, β -cariofileno, dentre os quais se destacam o linalol e β -cariofileno que foram identificados no presente trabalho como comuns aos extratos de carambola e goiaba respectivamente. Em continuidade ao trabalho realizado por Gonçalves et al (2013), o documento de patente depositado por Do Nascimento et al. 2018 (BR 102018000016-0) demonstra os resultados dos testes eletrofisiológicos empregando extratos dos machos e antenas de fêmeas virgens de *A. obliqua* revelando a despolarização das antenas para os compostos: 1-heptanol, linalol, (*Z*)-3-nonen-1-ol, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol e α -farneseno.

[0027] Em seguida, em ensaios de laboratório, observou-se que esses compostos bem como suas respectivas misturas desencadearam atração em fêmeas virgens coespecíficas, dentre estes compostos encontra-se o componente linalol que além de ser EAD ativo no extrato de feromônio dos machos de *A. obliqua* também foi EAD ativo no extrato do fruto de carambola (DO NASCIMENTO et al. 2018).

[0028] Outros estudos também reportaram a presença dos componentes comuns em feromônio de variadas espécies de moscas das frutas e hospedeiros.

[0029] Para *A. striata* foram identificados uma mistura de três compostos, a saber: linalol, octanoato de etila e hexanoato de etila, presente na mistura feromonal liberada por machos de colônias da Guatemala, Costa Rica e Texas e posteriormente determinou-se que a composição da mistura feromonal desta espécie é mais complexa, sendo constituída por onze compostos: hexanoato de etila, octanoato de etila, (*Z*)-3-nonenol,

(Z,Z)-3,6-nonadien-1-ol, linalol, mirceno, limoneno, (Z)-(β)-ocimeno, (E)-(β)-ocimeno, terpineol, (Z,E)- α -farneseno (HEATH et al., 2000, CRUZ-LÓPEZ et al. 2015). Os compostos linalol, octanoato de etila e hexanoato de etila são os componentes majoritários da mistura e os únicos que desencadearam resposta antenal em fêmeas (CRUZ-LÓPEZ et al. 2015).

[0030] Diante do exposto, observa-se que diferentes formulações provenientes de componentes comuns ao extrato de carambola e ao feromônio de machos de *A. obliqua*, em combinação específica qualitativamente e quantitativamente podem atrair fêmeas co-específicas e ajudar a elucidar a polifagia da praga.

Referências

[0031] ABRAFRUTAS, 2024. Disponível em: <https://abrafrutas.org/2024/03/brasil-produziu-mais-de-um-milhao-de-toneladas-de-frutas-em-2023-entenda/>. Acesso: 09/05/2024.

[0032] ANGELOVA, N.; HUNKELER, D. Rationalizing the design of polymeric biomaterials. Trends in Biotechnology, Amsterdam, v.17, p.409-421, 1999.

[0033] BACHMANN, Ge, SEGURA, DF, DEVESCOVI, F., JUÁREZ, ML, RUIZ, MJ, VERA, MT, CLADERA, JL, TEAL, PEA, FERNÁNDEZ, PC (2015). Male sexual behavior and pheromone emission is Enhanced by exposure to guava fruit volatiles in *Anastrepha fraterculus*. PLoS One 10: e0124250.

[0034] BAKER PS, HOWSE PE, ONDARZA, RN, REYES J (1990) Field trials of synthetic sex pheromone components of the male Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in southern Mexico. J. Econ. Entomol 83: 2235–2245.

[0035] BAKER R, HERBERT RH, GRANT GG (1985) Isolation and Identification of the sex pheromone of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitidis capitata* (Wied). J. Chem. Soc., Chem. Commun 12:824–825.

[0036] CHA DH, OLSSON SB, YEE WL, GOUGHNOUR RB, HOOD GR, MATTSSON M, SCHWARZ D, FEDER JL, LINN JR.CE. (2017) Identification of Host Fruit Volatiles from

Snowberry (*Symphoricarpos albus*), attractive to *Rhagoletis zephyria* flies from the Western United States. J Chem Ecol 43:188–197.

[0037] COSSE AA, TODD JL, MILLAR J G, MARTINEZ LA, BAKER TC (1995) Electroantennographic and coupled gas chromatographic-electroantennographic responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, to male produced volatiles and mango odor. J. Chem. Ecol 21:1823-1836.

[0038] Da SILVA, C. Semioquímicos envolvidos nas interações intra- e interespecífica da mosca das frutas do Oeste indiano *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Alagoas, 2017. 106p.

[0039] GONÇALVES GB, SILVA CE, DE LIMA MENDONÇA A, VANÍČKOVÁ L, TOMČALA A, NASCIMENTO RRD (2013) Pheromone communication in *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae): a comparison of the volatiles and salivary gland extracts of two wild populations. Fla Entomol 1365-1374

[0040] GONÇALVES, G. B. Influência dos constituintes voláteis dos hospedeiros *Averrhoa carambola* L. e *Mangifera indica* L. na composição química das substâncias liberadas por machos de *Anastrepha obliqua* e *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Alagoas, 2001. 106p.

[0041] JACOBSON M, OHINATA K, CHAMBERS DL, JONES WA, FUJIMOTO MS (1973) Isolation, identification and synthesis of sex pheromones of the Mediterranean fruit fly. J. Med. Chem. 16: 248–251.

[0042] JANG EB, LIGHT DM, FLATH RA, NAGATA JT, MON TR (1989) Electroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* to identified volatile constituents from calling males. Entomol Exp Appl 50: 7-19.

[0043] MALO, EA, GALLEGOS-TORRES, I, TOLEDO, J., VALLE-MORA, J., ROJAS, JC (2012). Attraction of the West Indian fruit fly to mango fruit volatiles. Entomol Exp Appl 142: 45-52.

[0044] MUÑOZ-PALLARES, J., CORMA, A., PRIM, J., PRIMO-YUFERA, E. Zeolites as pheromone dispensers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 4801-4801, 2001.

[0045] NISHIDA, R., SHELLY, T.E., KASHENIRO, K.Y., TAN, K.H. (2000). Roles of semiochemicals in mating systems: a comparison between oriental fruit fly and medfly, p.631-637. In: Tan, K.H. (ed.). *Area wide control of fruit flies and other insect pests*. Penerbit University Sains, Malaysia, Penang, Malaysia, 200p.

[0046] NORRBOM, A.L. Updates to Biosystematic Database of World Diptera for Tephritidae through 1999. *Diptera Data Dissemination Disk* (CD-ROM, 2004).

[0047] NUÑES-BUENO, L. (1994). Las moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae). *Revista ICA Bogota*, v. 29, p. 121-134, 1994.

[0048] OHINATA K, JACOBSON M, NAKAGAWA S, FUJIMOTO MS, HIGA H (1977) Mediterranean fruit fly: Laboratory and field evaluations of synthetic sex pheromones. *J. Environ. Sci. Heath A12*: 67–78

[0049] SILVA, CS, SANTOS, JCG, FERREIRA, LL, AQUINO, NC, TAVARES, RF, SILVA, RCC, MENDONÇA, AL, DO NASCIMENTO, RR. Cairomônios das moscas-das-frutas. In: *Moscas-das-frutas no Brasil: conhecimento básico e aplicado*, Zucchi, R.A., Malavasi, A., Adaime, R. & Nava, D. E. (eds.), Editora FEALQ, Piracicaba, São Paulo, p.279-291, 2023.

[0050] SILVA, CR (2017). Identificação dos constituintes químicos do feromônio sexual de populações de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e de seu fruto hospedeiro preferencial, goiaba. Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas. Maceió, Alagoas, Brasil, 96 p.

[0051] TAN, K.H., NISHIDA, R. (1996). Sex pheromone and mating competition after methyl eugenol consumption in the *Bactrocera dorsalis* complex. In: McPheron, B.A., Steck, G.J. (eds.). *Fruit fly pests*. St. Lucie Press, Delray Beach, pp-147-153.

[0052] VALLADARES, G. A., AUDINO, P.G. & STRUMIA, M.C. (2015). Preparation and evaluation of alginate/chitosan microspheres containing pheromones for pest control of

Megaplatypus mutatus Chapuis (Platypodinae: Platypodidae). Polymer International 65 (2): 216-223.

[0053] VERA MT, RUIZ MJ, OVIEDO A, ABRAHAM S, MENDOZA M, SEGURA DF, KOULOSSIS E, WILLINK E (2013) Fruit compounds affect male sexual success in the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). J Appl Entomol 137: 2-10

[0054] ZARBIN, Paulo HG; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, Eraldo R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.

[0055] ZUCCHI, R. A. Taxonomia In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas das frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p. 13-24, 2000.

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação atraente com atividade cairomonal para fêmeas da mosca das frutas *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) caracterizada por compreender formulação de mistura de compostos voláteis comuns ao feromônio sexual liberado por machos virgens de *A. obliqua* e o fruto hospedeiro carambola, a qual foi designada como M3FC: 2-hexanona e linalol na proporção de 1,5:25,3, respectivamente.
2. Formulação atraente com atividade cairomonal para fêmeas da mosca das frutas *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela mistura dos componentes (M3FC), formulada em 0,01g de quitosana, na dose de 10 ng, com a proporção entre a mistura e substrato de 1:1.

DESENHO

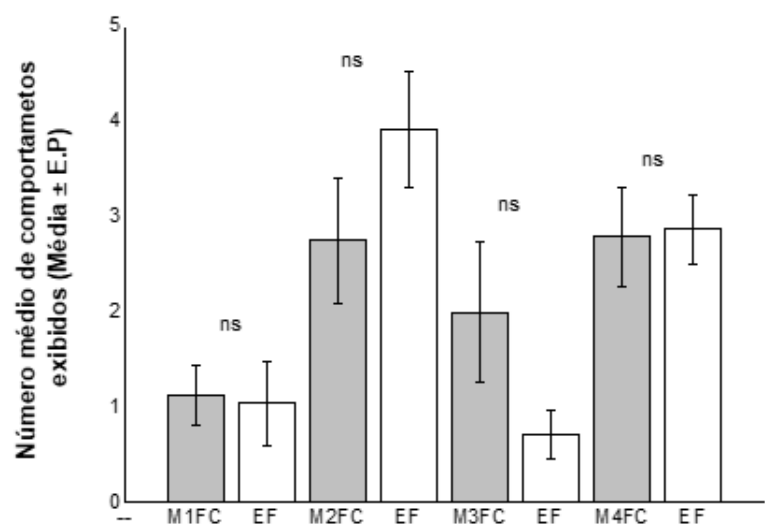


Figura 1