



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
MINISTÉRIO DA ECONOMIA  
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102015016404-1

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 102015016404-1

**(22) Data do Depósito:** 08/07/2015

**(43) Data da Publicação Nacional:** 13/03/2018

**(51) Classificação Internacional:** A01N 63/02; A01N 53/00; A01N 57/16; A01N 37/38; A01N 57/12; A01N 57/14; A01N 25/00; A01P 7/04.

**(52) Classificação CPC:** A01N 63/02; A01N 53/00; A01N 57/16; A01N 37/38; A01N 57/12; A01N 57/14; A01N 25/00.

**(54) Título:** FORMULAÇÕES COM ATIVIDADE DE FEROMÔNIO SEXUAL, EFICAZES NO CONTROLE DA MOSCA-DAS-FRUTAS ANASTREPHA FRATERCULUS

**(73) Titular:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24464109000148. Endereço: AV. LOURIVAL DE MELO MOTA, S/N, CAMPUS A.C. SIMÕES, MACEIÓ, AL, BRASIL(BR), 57072-900

**(72) Inventor:** RUTH RUFINO DO NASCIMENTO; LUCIE VANÍCKOVÁ; ADRIANA DE LIMA MENDONÇA; LUANA LIMA FERREIRA; NATHALY COSTA DE AQUINO; PAULO MILET-PINHEIRO; RAPHAEL DE FARIAS TAVARES.

**Prazo de Validade:** 20 (vinte) anos contados a partir de 08/07/2015, observadas as condições legais

**Expedida em:** 22/03/2022

Assinado digitalmente por:

**Liane Elizabeth Caldeira Lage**

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

**Relatório Descritivo da Patente de Invenção para “Formulações com Atividade de Feromônio Sexual, Eficazes no Controle da Mosca-das-Frutas *Anastrepha fraterculus*”**

[001] A presente invenção refere-se a formulações com atividade de feromônio sexual, eficazes no controle da mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus*. Em uma primeira concretização, a composição da referida formulação compreende: (a) a combinação de:  $\alpha$ -pineno, limoneno, ( $Z$ )-3-nonen-1-ol, ( $E,Z$ )-3,6-nonadien-1-ol,  $\alpha$ -farneseno e ( $S,S$ )-(-)-epianastrefina e, (b) um veículo agronomicamente aceitável. A razão entre estes componentes nas composições da invenção é de 3:60:0,1:2:26:9.

**PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPÕE A RESOLVER:**

[002] A mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* é economicamente um dos tefritídeos mais problemáticos na América do Sul. Esta espécie polífaga tem um impacto direto na produção de frutos, causando restrições quarentenárias na exportação de frutas para muitos países. A goiaba é uma das frutas mais afetadas por esta praga no Brasil. Os danos diretos causados pela mosca das frutas estão relacionados à perfuração ocasionada pelas fêmeas durante a oviposição e pela alimentação e desenvolvimento das larvas no interior do fruto, que resulta no apodrecimento prematuro das frutas. Além disso, a perfuração também serve como porta de entrada para microrganismos no interior do fruto. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), mundialmente, os prejuízos causados por tefritídeos totalizam US\$ 1,7 bilhão por ano, 10% dos quais ocorrem no Brasil (FAO. 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. <http://faostat3.fao.org>. Acesso em: 10/04/2015).

[003] A presente invenção se propõe a resolver o problema enfrentado pelos produtores de frutos de goiaba, no que se refere ao ataque pela praga em

questão, a qual vem causando sérios prejuízos na produção comercial deste fruto em diversos estados brasileiros.

### **ESTADO DA TÉCNICA**

[004] A utilização de feromônios no manejo integrado de pragas que atacam culturas de valor econômico significativo tem sido muito difundida, especialmente nos últimos tempos. Assim, o estudo, a caracterização e o desenvolvimento de rotas de síntese dos componentes de feromônios têm sido substancialmente intensificados.

[005] Muitos grupos de pesquisadores vêm trabalhando na identificação dos componentes de feromônios de diversas espécies de moscas-das-frutas e até o presente momento, já estão disponíveis as informações sobre esses componentes em várias bases de dados, por exemplo, "The Pherobase" (El-Sayed AM. 2014. *The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals*. <http://www.pherobase.com>). Apesar disto, existe apenas um trabalho que relata a identificação e atividade biológica de extratos de aeração contendo estes compostos especificamente para *A. fraterculus*, para a qual os compostos identificados foram (*E,Z*)- $\alpha$ -farneseno, suspensolídeo, 2,3,5-trimetilpirazina, 2,5-dimetil-3-etylpirazina, 2,5-dimetil-3-butilpirazina, anastrefina, limoneno e (*Z*)- $\beta$ -ocimeno [Lima IS, House PE, do Nascimento RR. 2001. *Volatile substances from male Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae): *Identification and behavioural activity*. *Journal of Brazilian Chemical Society* 12(2):196-201].

[006] Para outra espécie do mesmo gênero, a mosca das frutas mexicana, *A. ludens*, o estudo conduzido por Robacker, D.C. 1988 (*Behavioral responses of female Mexican fruit flies, Anastrepha ludens to components of male produced sex pheromone*. *Journal of Chemical Ecology* 14(9): 1715-1725) demonstrou que dentre os compostos liberados por machos desta espécie, apenas os álcoois,

(Z)-3-nonenol e /ou (Z,Z)-3,6-nonadienol em combinação com a lactona, (S,S)-(-)-epianastrefina eliciaram respostas de atração em fêmeas coespecíficas em bioensaios de laboratório. A identificação dos compostos voláteis liberados por machos desta espécie foi descrita por Rocca e colaboradores (Rocca, J. R., Nation, J. L., Strekowski, L., Battiste, M. A. 1992 *Comparison of volatiles emitted by male Caribbean and Mexican fruit flies. Journal of Chemical Ecology* 18: 223) Os álcoois, (Z)-3-nonenol e (Z,Z)-3,6-nonadienol; três lactonas, anastrefina, epianastrefina e suspensolídeo; três sesquiterpenos, (E,E)- $\alpha$ -farneseno,  $\alpha$ -trans-bergamoteno e  $\beta$ -bisaboleno e dois monoterpenos, limoneno e  $\beta$ -ocimeno foram reportados como componentes das misturas de voláteis liberadas por machos das moscas mexicana e do Caribe, *A. ludens* e *A. suspensa*. A especificidade de cada mistura está diretamente relacionada a diferença na proporção relativa entre os sesquiterpenos (E,E)- $\alpha$ -farneseno e  $\beta$ -bisaboleno e na presença dos monoterpenos, limoneno e  $\beta$ -ocimeno.

[007] Os álcoois (Z)-3-nonenol e nonadienol,  $\beta$ -farneseno, juntamente com seis sesquiterpenos, dentre eles o (E,E)- $\alpha$ -farneseno e isômeros foram identificados nos extratos de aeração de machos da mosca das frutas do Oeste Indiano, *A. obliqua* (López-Guillén, G., Cruz-López, L., Malo, E. A., Rojas, J. C. 2011. *Olfactory responses of Anastrepha obliqua (Diptera: Tephritidae) to volatiles emitted by calling males. Florida Entomologist* 94: 874-881). Dentre os compostos identificados, (Z)-3-nonenol e a mistura constituída por (Z)-3-nonenol e  $\beta$ -farneseno atraíram fêmeas e machos coespecíficos.

[008] O trabalho do Härter e os seus colaboradores (Härter WR, Grützmacher AD, Nava DE, Gonçalves RS, Botton M. 2010. Isca tóxica e disruptão sexual no controle da mosca-da-fruta sul-americana e da mariposa-oriental em pessegueiro. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.45, n.3, p.229-235) avaliou o emprego simultâneo de isca tóxica e da técnica de disruptão sexual, com uso de

feromônio sexual, para o controle de *Anastrepha fraterculus* e *Grapholita molesta*, em pomar comercial de pêssego (Pelotas, Rio Grande do Sul). A isca tóxica foi formulada com proteína hidrolisada, constituída por Biofruit a 3% + malationa (Malathion 500 CE, 200 mL i.a. por 100 L). O feromônio sexual sintético Splat Grafo (Isca Tecnologias Ltda, Ijuí, Brasil), foi constituído por acetato de (E)-8-dodecenila, acetato de (Z)-8-dodecenila, (Z)-8-dodecenol, (4,4%); (RS)-alpha-ciano-3-fenoxibenzil (1RS, 3RS, 1RS, 3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato). O uso simultâneo da isca tóxica e da técnica de disruptão sexual reduziu em mais de 90% a captura de adultos de *A. fraterculus* e *G. molesta*. Nas duas safras, os danos reduziram de 62–85% em ponteiros, e de 98–99% nos frutos, em comparação à testemunha sem controle. Misturas de monoterpenos, incluindo dois compostos reivindicados no presente pedido, limoneno e  $\alpha$ -pineno, associados a outros componentes foram identificados como atraentes para o besouro da montanha *Dendroctonus ponderosae* e pulgões do gênero psílidos (US20060198860A1. Synergistic blends of monoterpenes for mountain pine beetle pheromones; US20140322159A1. Odors for psyllid trapping, repelling and control).

[009] No Brasil, já existem estudos que demonstram a eficiência no uso de feromônios sintéticos, como por exemplo, o uso do Rincoforol®, feromônio de agregação da broca do olho do coqueiro [Navarro DMAF, Murta MM, Duarte AG, De Lima IS, Do Nascimento RR, Sant'Ana AEG. 2002. Aspectos práticos relacionados ao uso do Rincoforol, o feromônio de agregação da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro. Análise de sua eficiência em campo. **Química Nova** 25:1-6]. A Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, solicitou a patente de nº PI0901970-7, o AtrAedes®, o qual atrai a fêmea do mosquito *Aedes aegypti* (Eiras A. R., Roque R. A. 2009. Composição de Atraente Sintético

para Ovoposição de Fêmeas Grávidas de *Aedes Aegypti*. PI 0901970-7). Esse sistema está licenciado a uma empresa gerando royalties para a UFMG. No que se refere à ordem Lepidoptera, mais especificamente as brocas, vale destacar o feromônio da broca *Diatraea flavipennella* descoberta recentemente no Brasil, cuja formulação possui depósito de patente pelo grupo de Ecologia Química, responsável pelo presente pedido (Mendonça A. L., Sant'Ana A. E. G., Silva C. E., Silva E. L., Cansanção M. R. T., Do Nascimento R. R., 2009. Composição do feromônio sexual e seu uso no controle da broca de cana-de-açúcar. PI 0903698-9). Esta formulação possui alta eficiência em condições de campo (Kalinová B., Do Nascimento R. R., Hoskovec M., Mendonça A. L., Silva E. L., De Freitas M. R. T., Cabral C. R., Silva C. E., Sant'Ana A. E. G., Svatoš A. 2012. Identification of two components of the female sex pheromone of the sugarcane-borer *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Applied Entomology** 136(3):203-211) quando empregadas em armadilhas para captura de machos visando a redução populacional da espécie para índices abaixo do nível de dano econômico. Além desta espécie, este mesmo grupo possui patente depositada, BR 10 2014 010066-0, relativa ao atraente sexual para o lepidóptero *Cerconota anonella*, broca dos frutos das anonáceas (Do Nascimento R. R., Sant'Ana A. E. G., Santos R. S., Mendonça A. L., Silva R. C. C., Vaníčková L., Pires E. V. 2014. Composição com atividade feromonal e seu uso no controle da broca de frutos das Anonáceas).

[010] Com exceção do registro de um atraente alimentar constituído por proteína hidrolisada (Rivera E. M. A., Leon J. C. R., Lopez L. C. C., Arreola J. T. 2008. Attractant for the *Anastrepha obliqua* fruit fly. US20080305072 A1), e do feromônio de marcação de hospedeiro (Schuneman M. R. A., Diaz-Fleischer F., Edmunds A. J. F., Hagmann L. 2001. Isolamento, determinação estrutural, síntese, atividade biológica e aplicação como agente de controle, do feromona

marcador de hospedeiro, (e seus derivados) de moscas de fruta do gênero *Anastrepha* (Díptera:Tephritidae). PI 9914748-3 A2), não existe, até o presente momento, registros de depósitos de patentes para formulações feromonais envolvendo a moscas-das-frutas *A. fraterculus*, objeto desta patente. Nas patentes supracitadas estão envolvidos os odores de frutos hospedeiros e de um feromônio específico de marcação, não relacionado à atividade atrativa sexual.

[011] Do ponto de vista de importância da cultura da goiaba, vale ressaltar que não é somente a quantidade do alimento produzido que interessa, visto que a qualidade do produto colhido é igualmente importante. A qualidade biológica dos alimentos está em seus nutrientes e dois aspectos importantes devem ser considerados pela fruticultura: a produção de plantas saudáveis e a obtenção de alimentos sem agentes químicos potencialmente danosos ao homem e ao ambiente. Assim, prejuízos causados por pragas sobre estes frutos, influenciam diretamente em sua produção, comercialização e exportação (Araujo E. L., Medeiros M. K. M., Silva V. E., Zucchi R. A. 2005. Fruit flies (Diptera : Tephritidae) in the semi-arid region of the state of Rio Grande do Norte, Brazil: Host plants and infestation indices Neotropical Entomology 34(6):889-894). Além disso, no controle de pragas, o uso de pesticidas tende a ser cada vez mais reduzido devido ao impacto ambiental que tais substâncias causam, bem como das restrições quarentenárias impostas pelos países importadores. As restrições ao seu uso têm sido ampliadas em todos os países, especialmente a partir do final do século passado.

[012] Assim, a utilização de feromônios para o controle por comportamento vem sendo encarada como alternativa interessante na medida em que seu impacto ambiental é mínimo se comparado às outras formas de controle de pragas. Essa possibilidade tem contribuído muito para o conhecimento dos hábitos reprodutivos dos insetos que atacam as plantações de culturas importantes.

Mais que isso, o conhecimento dos componentes de feromônios de insetos tem sido importante para o controle de diversas pragas.

[013] Dada à importância dos feromônios no biocontrole de insetos-praga, várias propostas de síntese de feromônios têm sido relatadas em trabalhos publicados e em documentos de patente como alguns dos exemplos citados anteriormente. Portanto, é possível dizer que os principais componentes de feromônios conhecidos estão disponíveis comercialmente, ou são conhecidas rotas de síntese para a sua obtenção, fato este que os tornam potenciais produtos que podem ser aplicados sob a forma de formulações específicas e agricolamente aceitáveis.

[014] Um dos obstáculos no uso de semioquímicos, é a volatilidade destes compostos, de maneira tal que precisam de materiais adsorventes para garantir uma liberação a uma taxa relativamente constante durante o período de captura do inseto-alvo (EVALDO et al., 1987). Além disso, o liberador deve permitir a emissão da mistura de feromônio de forma exata com uma proporcionalidade adequada além de não ser nocivo ao meio ambiente (BEROZA et al., 1975). Os liberadores utilizados para semioquímicos são diversos, com destaque para o septo de borracha que possui sistemas matriciais e os biopolímero naturais (MUÑOZ-PALLARES et al., 2001). Dentre os biopolímeros naturais, os polissacarídeos mais usados são: ácido hialurônico, quitosana, goma xantana, e pectina, com destaque para a quitosana que pode ser utilizada para microencapsulação 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 quantidade (JANSSON-CHARRIER et al., 1996; HEUSKIN et al., 2011; SIONKOWSKA, 2011). Patentes envolvendo formulações e liberadores foram depositadas para as seguintes espécies de moscas das frutas *Ceratitis capitata* e *Anastrepha ludens* (US19874820513,

BR8605335, GB2178315, PI 9914748-3 A2) e *Bactrocera dorsalis* (US2011290909).

[015] A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Díptera: Tephritidae), é a principal praga das frutíferas de clima temperado no sul do Brasil (Kovaleski A., Sugayama R. L., Malavasi A. 1999. Movement of *Anastrepha fraterculus* from native breeding sites into apple orchards in Southern Brazil. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91(3):457-463; Monteiro L. B., de Mio L. L. M., Motta A. C. V., Serrat B. M., Cuquel F. L. 2007. Food attractants used in the monitoring of fruit flies in peach trees in Lapa, Parana (PR), Brazil. *Revista Brasileira De Fruticultura* 29(1):72-74; Salles L. A. 1999. Incidence of the Southamerican fruit fly on plums. *Ciência Rural* 29(2):349; Scoz P. L., Botton M., Garcia M. S. 2004. Chemical control of *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in laboratory. *Ciência Rural* 34(6):1689-1694]. O gênero *Anastrepha* foi descrito primeiramente por Schiner (1868) e abriga 195 espécies das quais cerca de 90 são encontradas em território brasileiro (Zucchi R. A. 2000. Espécies de *Anastrepha*, sinônimas, plantas hospedeiras e parasitóides. In: Malavasi A., Zucchi R. A., editors. *Moscas-das-Frutas de Importância Econômica no Brasil: Conhecimento Básico e Aplicado*. Ribeirão Preto, Brazil: Holos Editora. p 41–48).

[016] Normalmente os feromônios sexuais são produzidos por fêmeas para atrair os machos, porém, para as moscas das frutas, os machos são responsáveis pela produção e a liberação do feromônio sexual. Esses atraentes são, muitas vezes, classificados como feromônio de agregação, pois resultam da atração de ambos os sexos ao sítio de chamamento (Landolt P. J., Phillips T. W. 1997. *Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects*. Annual Review of Entomolgy 42:371–91). O feromônio liberado pelos machos de *A. fraterculus* atrai as fêmeas para o acasalamento e os machos

para a formação dos *leks* (assembleias dos machos). Os *leks* são formados por machos que liberam o feromônio atraindo outros machos para o comportamento de corte que envolve a liberação de sinais químicos e visuais que atraem fêmeas sexualmente receptivas, as quais, após interagirem com alguns machos do grupo, escolhe um deles para a cópula (Lima-Mendonça A. , Mendonça A. D. L., Sant'Ana A. E. G., Do Nascimento R. R. 2014. Semioquímicos de moscas das frutas do gênero *Anastrepha*. Química Nova 37(2):293-301). Assim para a fêmea atraída pelos feromônios, este sinal pode ser também classificado como feromônio sexual.

[017] De modo geral, o estudo dos feromônios de insetos-praga é motivado principalmente por causa dos prejuízos econômicos, causados pelos insetos, os quais geralmente estão acompanhados pelos danos ambientais e de saúde pública, causados pelo uso de produtos químicos de ação pesticida. Portanto essa busca se encaixa no princípio do Manejo Integrado de Pragas (MIP) que pode ser definido como um sistema de manejo de pragas que associa o ambiente e a dinâmica populacional da espécie, utilizando todas as técnicas apropriadas e métodos de forma tão compatível quanto possível mantendo a população da praga em níveis abaixo daqueles capazes de causar dano econômico (Waquil J. M., Boregas K. G. B., Mendes S. M. 2008. Viabilidade do uso de hospedeiros alternativos como área de refúgio para o manejo da resistência da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do milho-Bt. Sete Lagoas: EMBRAPA CNPMS, p. 68).

[018] No Brasil, até o ano de 2009, foram registrados 28 feromônios para o controle de insetos-praga na agricultura, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2015. [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em 10/04/2015). Tais feromônios são usados no monitoramento, captura

massal e na confusão sexual de pragas. Mais de 90% dos produtos comerciais a base de feromônios são utilizados no monitoramento, que consiste na captura de machos e/ou fêmeas para detecção de surtos populacionais, época de emergência dos insetos adultos e detecção de presença, distribuição e abundância dos insetos (Ibarra R. T. L. B. 2006. Monitoramento de *Leucoptera cafeeella* com armadilha de feromônio sexual. Tese Doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil.).

[019] A vantagem do monitoramento com feromônio é a rápida detecção do inseto mesmo que em baixa densidade populacional, diferentemente de outros métodos de amostragem. As armadilhas de feromônio detectam adultos que estão emergindo ou emigrando, e isto pode ser um sinal de alerta para a tomada de decisão de controle (Wall C. 1988. Application of sex attractants for monitoring the pea moth, *Cydia nigricana* (F.) (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Chemical Ecology** 14(10):1857-1866).

## DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

[020] Os inventores da presente composição identificaram os compostos α-pineno, limoneno, (*Z*)-3-nonen-1-ol, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol, α-farneseno e (*S,S*)-(-)-epianastrefina, como os componentes da mistura feromonal de machos de *A. fraterculus*, também conhecida como mosca-das-frutas.

[021] Nos estudos que resultaram na composição da invenção, foi verificado, em análises dos extratos hexânicos de machos virgens desta espécie, por Cromatografia Gasosa bidimensional acoplada à Espectrometria de Massas (CGxCG-EM), que o feromônio sexual desta praga é constituído por uma mistura dos compostos acima citados na proporção de 3:60:0,1:2:26:9.

[022] Em bioensaios conduzidos no laboratório, soluções dos compostos sintéticos, formulados em biopolímero, testados individualmente, induziram maiores respostas comportamentais em fêmeas do que o tratamento controle

(hexano), entretanto foi a mistura sintética formulada em biopolímero, constituída por todos os compostos que eliciaram despolarização nas antenas de fêmeas, que desencadeou uma resposta comportamental semelhante aquela exibida diante de extratos de aeração de machos coespecíficos. Em condições seminaturais, a mistura sintética formulada em biopolímero foi mais atraente para as fêmeas do que o hexano (tratamento controle) e tão atraente quanto os extratos de aeração de machos.

[023] As composições da invenção podem ser apresentadas nas formas líquida, sólida e semi-sólida. Na forma sólida, a composição pode estar na forma micronizada, na forma de grânulos, de pó ou de qualquer outra forma adequada. Na forma líquida, as composições da invenção podem estar na forma de soluções, suspensões ou géis.

[024] As composições da invenção podem incluir um ou mais aditivos para melhorar a estabilidade da composição, enchimentos, espessantes, solventes, aglutinantes. Exemplos de tais aditivos incluem, mas não estão limitados a, óleos vegetais, tais como, óleo de oliva, óleo de soja, óleo de milho, óleo de girassol, óleo de canola e suas combinações. Exemplos de enchimentos incluem uma ou mais argilas minerais (por exemplo, atapulgita). Exemplos de solventes incluem álcool etílico, álcool metílico, hidrocarbonetos clorados, solventes de petróleo e suas combinações. Exemplos de aglutinantes incluem goma shellac, resinas acrílicas, epóxidos, alquídicas, poliuretanas, óleo de linhaça e suas combinações. Estimulantes de apetite também podem estar presentes nas composições da invenção, estimulantes esses que incluem, mas não estão limitados a, óleo de semente de algodão, ésteres de ácido graxo de fitol, ésteres de ácido graxo de geranil geraniol, extratos de plantas, álcoois de plantas e suas combinações.

[025] As composições da invenção podem conter um ou mais agentes poliméricos tais como celuloses, proteínas, caseína, polímeros baseados em fluorocarbono, 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, etilcelulose, acetato de celulose, acetato-butirato de celulose, acetato-propionato de celulose, propionato de celulose, e combinações dos mesmos.

[026] As composições da invenção também podem incluir um ou mais inseticidas químicos tais como cifultrin, permetrin, cipermetrin, bifintrin, fenvalerato, flucitrinato, azinfosmetil, metil paration, malation e outros. As composições da invenção também podem incluir inseticidas biológicos, tais como toxinas e piretrinas naturais, proteínas de *Bacillus thuringiensis* e de *Beauveria bassiana*.

[027] As composições da invenção compreendem os ingredientes ativos e inertes em uma quantidade feromonal eficaz, ou seja, em uma quantidade suficiente para atrair sexualmente machos e fêmeas da espécie *A. fraterculus* em pomares de goiaba. A dita quantidade feromonal eficaz corresponde a uma proporção que varia na faixa de 1 até 10 (p/p) de substâncias ativas (componentes do feromônio).

[028] Os exemplos a seguir são referentes a experimentos para identificação e caracterização dos componentes ativos na mistura feromonal obtida a partir de aeração de machos de *A. fraterculus* no período de liberação do feromônio sexual:

**Exemplo 1:** Extração a partir de aeração de machos em chamamento

[029] Grupos de 20 machos virgens sexualmente maduros de *A. fraterculus*, oriundos de pomares de goiaba localizados no Estado de Alagoas e mantidos em criação estabelecida em laboratório, foram colocados em um dessecador de vidro (180 mm de altura; 200 mm de diâmetro) e os compostos voláteis emitidos foram recolhidos usando o método de headspace dinâmico (aeração). A entrada do dessecador foi modificada pela adição de um tubo de entrada contendo Tenax® (100 mg; Chromapack) para adsorver os voláteis liberados. O ar no interior do dessecador, formado pelos compostos voláteis liberados pelos machos, foi sugado através de uma bomba de ar (Resun® AC 2600, 6L/min), acoplada a um medidor de fluxo (Supelco®) que libera um fluxo constante de 500 mL/min, por 24 horas (das 07h 00 às 07h 00) e por último é adsorvido no filtro contendo Tenax®. Os voláteis retidos no filtro foram então eluídos com 500 mL de hexano redestilado. Foram coletadas dez amostras de aeração do feromônio com duração de 24h cada. As amostras foram armazenadas em ampolas, seladas após a dessorção, e colocadas no congelador (-5°C) para posteriores análises químicas e ensaios comportamentais.

**Exemplo 2:** Análise dos extratos por Eletroantenografia (CG-EAD) e por Cromatografia Gasosa Bidimensional (CGxCG-EM)

[030] Para detectar os compostos presentes nas amostras de headspace dos machos de *A. fraterculus* que são ativos na atração de fêmeas coespecíficas, análises eletrofisiológicas foram realizadas num cromatógrafo gasoso (GC Thermo Ultra, Thermo Scientific, Milão, Itália), equipado com um detector de ionização de chama (DIC) e uma coluna VB-5 (30 m × 0,25 mm i.d. × 0,25 µm filme, ValcoBond) acoplada a uma instalação de EAD (linha de transferência aquecida, com controlador universal de dois canais de aquisição serial bus) fabricada pela Synthech (Kirchzarten, Alemanha). O controle do fluxo electrónico foi usado para manter um fluxo de gás transportador de hélio com vazão

constante de 1 mL/min. Uma alíquota das amostras de headspace dos machos (2  $\mu$ L) foi injetada no modo *splitless* com uma temperatura do forno de 40 °C e uma temperatura do injetor de 150 °C, seguido por abertura da válvula de separação depois de 1 minuto e aumentando a temperatura do forno a uma taxa de 6 °C/min até 200 °C. A temperatura final foi mantida durante 5 minutos. A coluna foi dividida no final por um separador em duas peças de capilar desativada (comprimento 40 cm, i.d. de 0,25 mm). Um gás *make-up* (nitrogênio) foi adicionado antes da divisão da amostra. Um dos capilares foi conectado ao detector de ionização de chamas (DIC) e o outro foi direcionado para o lado de fora do forno do CG, em um tubo de vidro, em que o efluente foi misturado com um fluxo de ar limpo, umidificado e direcionado para a preparação contendo a cabeça da fêmea com suas respectivas antenas. Fêmeas de *A. fraterculus* (10-20 dias de idade) foram usadas para estas análises. A cabeça de uma fêmea foi retirada do tórax usando uma micro tesoura. A base da cabeça e a ponta de uma antena foram montadas entre dois microelétrodos montados em capilares de vidro, os quais foram preenchidos com solução de Ringer (8,0 g/L de NaCl, 0,4 g/L de KCl, 0,4 g/L de CaCl<sub>2</sub>) e ligados a fios de prata, fechando um circuito elétrico. O sinal da antena amplificado foi transferido para a interface EAD. Um composto foi considerado como sendo EAD-ativo quando induziu uma resposta de despolarização em, pelo menos, três de seis repetições.

[031] Os extratos de headspace de machos de *A. fraterculus* foram analisados por Cromatografia Gasosa Bidimensional em um instrumento LECO Pegasus 4D CGxCG-EM (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EUA), equipado com um modulador criogênico. A coluna cromatográfica de primeira dimensão (coluna 1) era de 30 m  $\times$  250  $\mu$ m i.d.  $\times$  0,25  $\mu$ m ZB-5MS (Phenomenex, CA, EUA). A coluna cromatográfica de segunda dimensão (coluna 2) foi de 2 m  $\times$  100  $\mu$ m i.d.  $\times$  0,20  $\mu$ m RTX-50 (RESTEC, Bellefonte, PA, EUA). O hélio (1 mL/min) foi usado

como o gás de arraste num modo de fluxo constante. O modo de injeção foi o automático (Agilent 7683 amostrador automático, Palo, Alto, CA, EUA). Um 1  $\mu$ L da amostra foi injetado sob o modo *splitless* em injetor com temperatura de 220 °C. As condições de análise para a separação dos componentes na coluna 1 foram as seguintes: temperatura inicial, 40°C durante 2 min, com velocidade de aquecimento de 5°C/min até atingir 270°C, em seguida a 20°C/min até a temperatura final de 320°C, a qual foi mantida por 2 minutos. A temperatura da linha de transferência foi de 260°C e a do ponto de ajuste da fonte de ionização foi de 220°C. O detector operou com voltagem de 1750 V e a primeira polarização de filamento foi - 70 V. Os espectros de massas foram obtidos a partir de m/z 10 a 600 a 100 espectros/seg. Os dados foram processados e visualizados consecutivamente em 2D e 3D utilizando o software de cromatogramas LECO Chroma TOF. Uma série de *n*-alcanos (C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub>; Sigma-Aldrich) foram coinjetados com amostras autênticas, para determinar os seus índices de retenção. Os compostos foram identificados por comparação de seus padrões de fragmentação nos seus espectros de massas, tempos de retenção e índices de retenção com dados publicados anteriormente (Adams RP. 2007. *Identification of dssential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation; Vaníčková L. 2012. *Chemical ecology of fruit flies: genera Ceratitis and Anastrepha*. PhD Thesis. Prague: Institute of Chemical Technology; Vaníčková L, do Nascimento RR, Hoskovec M, Ježková Z, Břízová R, Tomčala A, Kalinová B. 2012. *Are the wild and laboratory insect populations different in semiochemical emission? The case of medfly sex pheromone*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60:7168-7176) e com soluções de padrões sintéticos, quando disponíveis. [032] As análises por CGxCG-EM revelaram que 29 compostos estão presentes nos extratos de headspace de machos de *A. fraterculus*. Os

compostos representam uma mistura complexa de diferentes estruturas químicas, incluindo terpenos, álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres (Tabela 1). Os componentes principais (> 19%) foram identificados como sendo o limoneno e o (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno. Componentes presentes em menor proporção (1-7%) incluem: 2-hexanona,  $\alpha$ -pineno, 2-etylhexan-1-ol, *p*-cimeno, indano, (*E*)- $\beta$ -ocimeno, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol, (*Z,E*)- $\alpha$ -farneseno, suspensolídeo, anastrefina e (S,S)-(-)-epianastrefina. Os demais componentes voláteis foram detectados em quantidades de traço (<0,1%), inclusive o (*Z*)-3-nonen-1-ol. A análise por CG-EAD com os extratos de headspace de machos de *A. fraterculus* revelou que apenas seis compostos, provocam despolarização nas antenas de fêmeas coespecíficas (Tabela 1, Figura 1). Os compostos responsáveis pela despolarização das antenas foram dois monoterpenos ( $\alpha$ -pineno e limoneno), dois álcoois [(*Z*)-3-nonen-1-ol e (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol], um sesquiterpeno (*E,E*)- $\alpha$ -farneseno e uma lactona de (S,S)-(-)-epianastrefina. O último composto foi o que provocou uma resposta mais forte na antena de fêmeas de *A. fraterculus*.

**Tabela 1.** Os compostos químicos (média percentual em relação  $\pm$  desvio padrão relativo) identificados por CGxCG-EM nos extratos headspace ( $N = 10$ ) de vinte machos de *Anastrepha fraterculus*.

No.	Compostos	RI	RI <sub>ref</sub>	Media $\pm$ SD
1	3-Hexanona <sup>b</sup>	791	795	tr
2	2-Hexanona <sup>b</sup>	796	788	2.97 $\pm$ 0.08
3	Hexanal <sup>b</sup>	801	800	0.60 $\pm$ 0.02
4	$\alpha$ -Pineno <sup>a,c</sup>	938	939	2.13 $\pm$ 0.06
5	Canfeno <sup>a</sup>	956	953	tr
6	$\beta$ -Pineno <sup>a</sup>	985	980	0.79 $\pm$ 0.33
7	Mirceno <sup>a</sup>	991	991	0.43 $\pm$ 0.04
8	Hexanoato de etila <sup>a</sup>	996	996	0.62 $\pm$ 0.08
9	<i>p</i> -Cimeno <sup>b</sup>	1030	1033	4.09 $\pm$ 1.36

10	2-Etilhexan-1-ol <sup>b</sup>	1030	1029	2.10±0.31
11	Limoneno <sup>a,c</sup>	1035	1036	44.0±2.84
12	(Z)-β-Ocimeno <sup>b</sup>	1035	1034	0.81±0.09
13	5-Etenildiidro-5-metil-2(3H)-furanona <sup>b</sup>	1044	-	0.13±0.02
14	Indano <sup>b</sup>	1046	1048	1.49±0.53
15	(E)-β-Ocimeno <sup>b</sup>	1059	1060	6.34±1.15
16	Linalol <sup>a</sup>	1101	1100	tr
17	Cânfora <sup>a</sup>	1141	1143	tr
18	(Z)-3-Nonen-1-ol <sup>a,c</sup>	1158	1159	tr
19	(E,Z)-3,6-Nonadien-1-ol <sup>a,c</sup>	1160	1161	1.21±0.39
20	Acetato de bornila <sup>b</sup>	1293	1291	0.30±0.06
21	(E)-α-Bergamoteno <sup>b</sup>	1435	1436	0.18±0.01
22	(Z)-β-Farneseno <sup>b</sup>	1448	1443	0.22±0.04
23	(Z,E)-α-Farneseno <sup>a,c</sup>	1492	1495	2.73±0.70
24	Germacreno D <sup>b</sup>	1502	1499	tr
25	Suspensolideo <sup>b</sup>	1509	1506	1.03±0.17
26	(E,E)-α-Farneseno <sup>a,c</sup>	1510	1508	19.47±1.32
27	Oxido de cariofileno <sup>b</sup>	1606	1606	tr
28	Anastrefina <sup>b</sup>	1610	1617	1.59±0.04
29	(S,S)-(-)-Epianastrefina <sup>a,c</sup>	1625	1621	6.33±1.20

[033] Deste tem-se, <sup>a</sup>Compostos identificados com base na comparação com padrões sintéticos. <sup>b</sup>Os compostos identificados por comparação com os dados publicados [Adams RP. 2007. Identification of dssential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation; Rocca J, R., Nation J, L., Strekowski L, Battiste M, A. 1992. Comparison of volatiles emitted by male Caribbean and Mexican fruit flies. Journal of Chemical Ecology 18(2):223-244]. <sup>c</sup>Compostos que desencadearam a resposta da antena de *A. fraterculus* fêmeas da mesma espécie. RI - o índice de retenção, RI<sub>ref</sub> - o índice de retenção referencial da literatura [Adams RP. 2007. *Identification of dssential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation; Břízová R, Mendonça AL, Vaníčková L, Lima-Mendonça A, da Silva CE, Tomčala A, Paranhos BAJ,

Dias VS, Joachim-Bravo IS, Hoskovec M and others. 2013. Pheromone analyses of the *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) cryptic species complex. Florida Entomologist 96(3):1107-1115; Vaníčková L. 2012. Chemical ecology of fruit flies: genera *Ceratitis* and *Anastrepha*. PhD Thesis. Prague: Institute of Chemical Technology; Vaníčková L, Do Nascimento RR, Hoskovec M, Ježková Z, Břízová R, Tomčala A, Kalinová B. 2012. Are the wild and laboratory insect populations different in semiochemical emission? The case of medfly sex pheromone. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60:7168–7176], tr - pequena quantidade (<0,1%).

[034] A Figura 1 representa um exemplo de separação por cromatográfica gasosa de um extrato de headspace de machos de *Anastrepha fraterculus* por detecção convencional (CG-DIC) e detecção eletroantenográfica (CG-EAD) utilizando antenas de fêmeas coespecíficas. Os asteriscos indicam despolarização da antena.

[035] Exemplo 4: Bioensaios para determinação da atividade biológica dos compostos em condições de laboratório.

[036] A atratividade de fêmeas virgens de *A. fraterculus* para os extratos de machos bem como para formulações contendo os compostos sintéticos individuais e mistura de compostos, que apresentaram atividade biológica nos ensaios de EAD, foi mensurada através de bioensaios comportamentais realizados em uma arena de vidro (28 x 10 x 15 cm) com o lado superior aberto e coberto por uma tela de nylon transparente. Para cada repetição, três fêmeas virgens marcadas com tinta inodora e atóxica, de diversas cores, foram colocadas na arena de bioensaio. As soluções dos padrões sintéticos foram preparadas de acordo com as proporções relativas de cada composto presente no extrato dos machos, 3:60:0,1:2:26:9 α-pineno: limoneno: (Z)-3-nonen-1-ol: (E,Z)-3,6-nonadien-1-ol: α-farneseno: (S,S)-(-)-epianastrefina, respectivamente,

na concentração de 100 ng/mL. Esta concentração foi escolhida com base em ensaios laboratoriais preliminares, em que foram testadas diferentes concentrações das misturas sintéticas (a saber  $c = 0,1, 10, 100$  ng/mL). Um tubo de ependorf que contém 0,01 mg de um biopolímero e 100  $\mu$ L de cada tratamento a ser testado foi colocado em posição central no topo da arena do bioensaio, com extrato do feromônio dos machos, compostos individuais ou mistura dos compostos. A impregnação do biopolímero com cada tratamento foi realizada 24 horas antes dos experimentos. Este método controla a liberação dos compostos de acordo com as suas volatilidades, principalmente no caso da mistura sintética de compostos voláteis [Shailaja D, Ahmed SM, Yaseen M. 1997. Comparative study of release kinetics of pheromone from polymer dispensers. *Journal of Applied Polymer Science* 64(7):1373-1380]. Foram avaliados os seguintes tratamentos: 1=(1R)-(+)- $\alpha$ -pineno, 2=(1S)-(-)- $\alpha$ -pineno, 3=(1R)-(+)-limoneno, 4=(1S)-(-)-limoneno, 5=(Z)-3-nonen-1-ol, 6=(E,Z)-3,6-nonadienol, 7= $\alpha$ -farneseno, 8=(S,S)-(-)-epianastrefina, 9=a mistura sintética de compostos ativos no EAD, 10=extrato de aeração dos machos, 11= hexano (controle). No total, realizaram-se dez repetições por cada tratamento. Cada bioensaio durou 20 minutos e os comportamentos exibidos por cada grupo de três fêmeas foram observados por duas pessoas. A resposta comportamental das fêmeas constitui as duas variáveis observadas: (1) Comportamento de busca: antenação, voos curtos e disputa entre fêmeas a uma distância inferior a 1 cm da fonte de odor e (2) toque na fonte de odor e permanência por mais de 2 minutos. Estes comportamentos foram descritos anteriormente por Robacker (Robacker DC. 1988. Behavioral response of female Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens*, to components of male-produced sex pheromone. *Journal of Chemical Ecology* 14:1715-1726) para *Anastrepha ludens*. Os ensaios

comportamentais foram realizados no horário da manhã e para cada repetição foi utilizada uma nova arena.

[037] Os bioensaios demonstraram que o extrato de headspace de machos de *A. fraterculus*, os compostos individuais e suas misturas que geraram a despolarização nas antenas, formulados em biopolímero, provocaram respostas comportamentais em fêmeas virgens coespecíficas (Figura 2A e 2B). Em relação ao comportamento 1 (antenação, voos curtos e disputa entre fêmeas a aproximadamente  $\leq 1$  cm da fonte de odor), o número médio de respostas por fêmeas diferiu significativamente entre os tratamentos ( $F_{10,99} = 123,6, P < 0,0001$ ). As comparações *post-hoc* mostraram que, com a exceção de dois enantiômeros  $\alpha$ -pineno e (*Z*)-3-nonen-1-ol todos os tratamentos testados estimularam mais respostas comportamentais em fêmeas do que o tratamento controle (hexano) (Figure 2B). No entanto, apenas a mistura de todos os compostos ativos no EAD, formulada em biopolímero, foi tão eficaz na atração de fêmeas quanto os extratos de headspace dos machos. Em relação ao comportamento 2 (toque na fonte de odor e permanência por mais de 2 minutos), o número médio de respostas por fêmeas também diferiu significativamente entre os tratamentos ( $F_{10,99} = 230,4, P < 0,0001$ ). No entanto, as comparações *post-hoc* indicaram que todos os tratamentos testados provocaram mais respostas em fêmeas coespecíficas virgens do que o tratamento controle (hexano) (Figura 2A). Novamente, apenas a mistura de todos os compostos sintéticos ativos no EAD foi tão eficaz quanto o extrato de headspace dos machos (Figura 2A).

[038] A Figura 2 mostra respostas médias de fêmeas *A. fraterculus* para formulações dos compostos sintéticos ativos no EAD (testados individualmente ou como uma mistura), extratos do headspace de machos, e um controle de hexano em ensaios de laboratório ( $N = 10$ ). (A) Tocando a fonte de odor e permanecendo durante mais de 2 minutos, (B) comportamento agonístico de

pelo menos um centímetro em torno da fonte de odor. A caixa e o bigode representam erro padrão e desvio, respectivamente. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (teste *post-hoc* HSD de Tukey,  $P<0,05$ ).

[039] Exemplo 5: Bioensaios para determinação da atividade biológica dos compostos em condições seminaturais

[040] A atratividade das fêmeas para o extrato de machos foi testado em condições seminaturais empregando-se uma gaiola quadrada de tela clara de nylon (4 m largura  $\times$  2 m de altura), que foi montada na área do campus da Universidade Federal de Alagoas (09°39'57"S, 35°44'06" W).

[041] A gaiola possuía altura de 30 cm e diâmetro de 50 cm para fornecer parcialmente as condições naturais necessárias para as moscas, quatro árvores de pequeno porte (1,5 m de altura) plantadas em potes de plástico foram colocadas dentro da gaiola: duas árvores de Araçá (*Psidium aracá* Raddi) e duas figueiras (*Ficus ficus* L.). As árvores em vasos foram dispostas de forma equidistante umas das outras, em cada um dos cantos da gaiola. Dois ensaios de escolha foram realizados utilizando armadilhas McPhail (Isca Tecnologias, Brasil). As armadilhas foram penduradas a 15 cm a partir do topo da gaiola e acima das árvores de Araçá. Para evitar que as moscas escapassem das armadilhas, a tensão superficial da água foi eliminada, com 250 mL de água contendo o detergente Tween-20 (Sigma-Aldrich, Brasil) (1 mL de Tween-20 em 1 L de água). A cada repetição, a posição das armadilhas foi modificada girando-a no sentido horário para reduzir os efeitos posicionais. A mistura sintética foi preparada em doses de 100 mg. Esta concentração foi escolhida com base nos bioensaios preliminares conduzidos em condições seminaturais, nos quais foram testadas diferentes concentrações das misturas sintéticas (a saber,  $c = 10, 100, 500$  mg/mL). Na primeira série de experimentos, foi avaliada a capacidade de

atração da formulação da mistura sintética frente ao controle (armadilhas sem iscas) e no segundo a formulação da mistura sintética frente aos extratos de aeração dos machos. Fêmeas de *A. fraterculus* foram liberadas na gaiola de campo diariamente às 07:00 h, e o número de moscas capturadas por armadilha foi contada e registrada às 17:00 h do mesmo dia. As moscas não capturadas foram removidas das gaiolas de campo e usadas apenas uma vez durante os experimentos. Os bioensaios de dupla escolha foram repetidos 10 vezes. Os bioensaios foram realizados em dias de sol, com temperatura média e umidade relativa de  $30 \pm 2$  °C e  $77 \pm 5\%$ , respectivamente.

[042] A armadilha com a formulação da mistura de compostos sintéticos ativos no EAD capturou mais fêmeas de *A. fraterculus* que as armadilhas controle (Fig. 3A). No entanto, não houve diferença entre a resposta de fêmeas pela mistura de compostos ativos no EAD em comparação com os extratos de headspace de machos (Figura 3B).

[043] A Figura 3 mostra número de fêmeas de *A. fraterculus* capturadas em bioensaios de dupla escolha realizados em uma gaiola de campo. Armadilhas contendo uma formulação da mistura sintética de compostos EAD ativos versus hexano (A), ou extratos heasdpace dos machos coespecíficos (B). As diferenças entre as amostras em cada bioensaio foram avaliadas por um teste Binomial: n.s = Não significativo, \*\*\* =  $P<0,0001$ .

[044] Dado o exposto, apesar da invenção precedente ter sido descrita em alguns detalhes por meio de exemplos para finalidade de clareza e entendimento, é óbvio que certas mudanças e modificações podem ser praticadas dentro do escopo da mesma.

## NOVIDADE

[045] O Brasil, com mais de 30 polos produtivos, é o terceiro maior produtor mundial de frutas, depois da China e da Índia. No ano de 2009, foram produzidas mais de 41 milhões de toneladas (IBRAF. 2014. [www.ibraf.org.br](http://www.ibraf.org.br). Acesso em: 20/04/2014), gerando uma receita de R\$ 17,7 bilhões (IBGE. 2015. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 05/03/2015). O Sistema Agropecuário de Produção Integrada (SAPI), coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e com o apoio do CNPq e EMBRAPA, engloba 21 culturas frutíferas, das quais 14 em condições de certificação formam pólos de produção integrada e institucionalizadas com selos de conformidade. Atualmente, o mercado desfavorável para algumas frutas mais convencionais, tem estimulado a procura dos fruticultores por espécies frutíferas de alto valor nos mercados nacional e internacional.

[046] Nos dias atuais não existem produtos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de pragas e doenças em goiaba utilizando feromônios (AGROFIT. 2015. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. <http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>. Acesso em 01/03/2015). Assim, técnicas de controle que visem à captura destes insetos do ponto de vista específico, são extremamente interessantes. Principalmente no que diz respeito a utilização de formulações não tóxicas, em baixas quantidades e concentrações que pode ser instalado na forma de armadilhas de fácil manuseio para o produtor.

## **APLICAÇÃO INDUSTRIAL/ COMERCIAL**

O plantio de frutos, especialmente, goiabas tem tido um aumento significativo nos últimos anos. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de goiaba sendo que a região nordeste é responsável por aproximadamente 50% da área colhida deste fruto (6.951 hectares), destacando o Estado de Pernambuco como

maior produtor brasileiro (98.955 toneladas) (ARGIANUAL. 2012. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, Brasil: Informa economics/FNP p. 307), e o Estado do Ceará como principal Estado exportador (SEBRAE. 2013. Serviço de Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Estatística das expotações e importações de frutas frescas p. 66).

[047] Assim, levando-se em consideração que um sachê contendo a formulação feromonal seja distribuído por hectare, estima-se uma demanda de ao menos 13.902 sachês a cada seis meses, período de atividade estimada para compostos feromonais sintéticos em condições de campo.

### **ATIVIDADE INVENTIVA**

[048] A formulação aqui descrita foi descoberta a partir de técnicas cromatográficas aliadas a experimentos comportamentais em condições de laboratório e condições seminaturais. Como dito anteriormente, não existem registros da combinação dos compostos feromonais encontrados para utilização no controle da mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* em pomares de goiaba. Assim, do ponto de vista técnico, as formas de elucidação e consequente produção da formulação envolve a combinação destes compostos com produtos agricolarmente aceitáveis, os quais serão aplicados em condições específicas e, portanto, inovadoras para a aplicação a qual se propõe.

### **VANTAGENS E MELHORAMENTOS EM RELAÇÃO ÀS TÉCNICAS JÁ EXISTENTES**

[049] Com o objetivo de conter o desenvolvimento desse inseto-praga, o controle químico ainda é difundido nos dias atuais, onde a prática da pulverização da cobertura total da área cultivada é realizada utilizando-se defensivos químicos, que nas últimas décadas tem gerado problemas como: resíduos em frutos, desequilíbrio trófico e seleção de organismos resistentes (Romano RM, Romano MA, Bernardi MM, Furtado PV, Oliveira CA. 2010.

Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. Archives of Toxicology 84:309–317). Esse tipo de controle vem sendo substituído ao longo dos anos por métodos menos agressivos, de modo geral ao meio ambiente e aos consumidores, visto que, a redução no nível de agrotóxicos nos alimentos torna-se uma tendência a ser seguida pelos mercados produtores e cada vez mais exigida pelos mercados consumidores de frutos *in natura* (Carvalho RS, Nascimento AS, Matrangolo WJR. 2000. Controle biológico. In: Malavasi A, Zucchi RA, editors. Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil. Ribeirão Preto: Holos. p 113-117). Como medidas alternativas de controle de moscas-das-frutas destacam-se: o uso de atrativos alimentares em armadilhas modelos Jackson ou MacPhail e a liberação de machos estéreis. Além da utilização de insetos e microrganismos benéficos, esses por sua vez, atuam combatendo a praga somente em estágios iniciais de desenvolvimento.

[050] Além disso, embora sejam conhecidas várias composições de feromônios, é um fato conhecido que nem todos os componentes são ativos, o que reduz significativamente a atividade do produto. Mais que isso, a especificidade das misturas de feromônio impossibilita a utilização ampliada de uma composição feromonal para diferentes espécies, inclusive de mesmo gênero. Portanto, fica evidente a necessidade de se encontrar uma composição feromonal em que os componentes ativos tenham sua atividade potencializada pela ocorrência de sinergismo entre os ingredientes ativos, permitindo, assim, a maximização da captura dos insetos-alvo na época da procriação e, consequentemente, o seu controle.

[051] A utilização de formulações com mistura feromonal atraente para esta praga pode significar a captura massal da mesma de modo a reduzir a população para índices abaixo do nível de dano. O princípio é 100% ecológico,

pois são substâncias produzidas e utilizadas pelo próprio inseto e dessa forma agem especificamente sem interferir em organismo não alvo. A identificação dos compostos atrativos leva a uma nova possibilidade de controle da praga em estudo, podendo servir, se comprovada sua eficácia, como mais um método para ser agregado ao MIP.

## REIVINDICAÇÕES

1. Formulação com Atividade de Feromônio Sexual, Eficaz no Controle da Mosca-das-Frutas *Anastrepha fraterculus*, **caracterizadas** pela mistura dos componentes  $\alpha$ -pineno, limoneno, (*Z*)-3-nonen-1-ol, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol,  $\alpha$ -farneseno e (*S,S*)-(-)-epianastrefina formulada em substrato biopolimérico.
2. Formulação com Atividade de Feromônio Sexual, eficaz no Controle da Mosca-das-Frutas *Anastrepha fraterculus*, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas pela** razão entre os componentes na combinação (a) da invenção ser, preferencialmente, de 3:60:0.1:2:26:9 na concentração de 100 ng/mL.

## DESENHOS

Figura 01

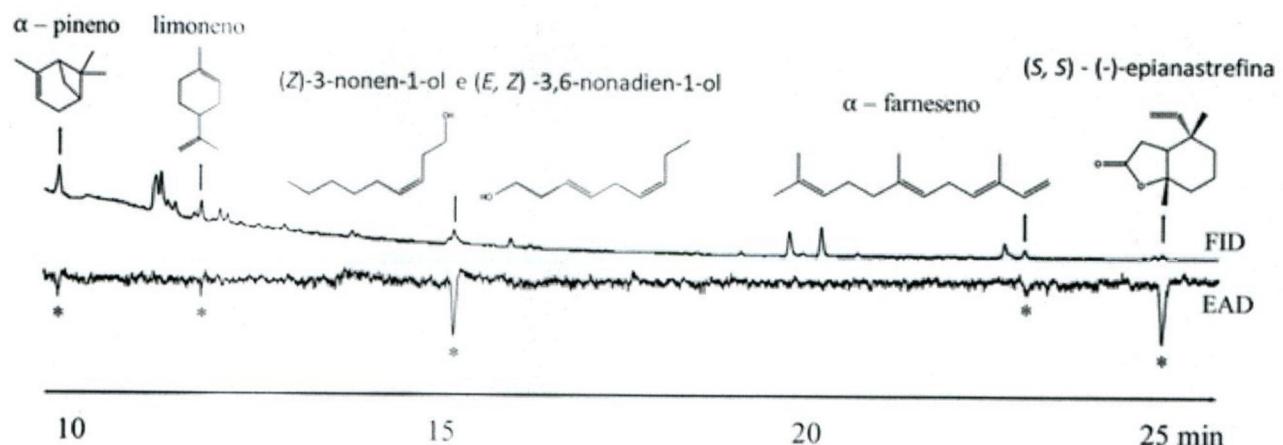


Figura 02

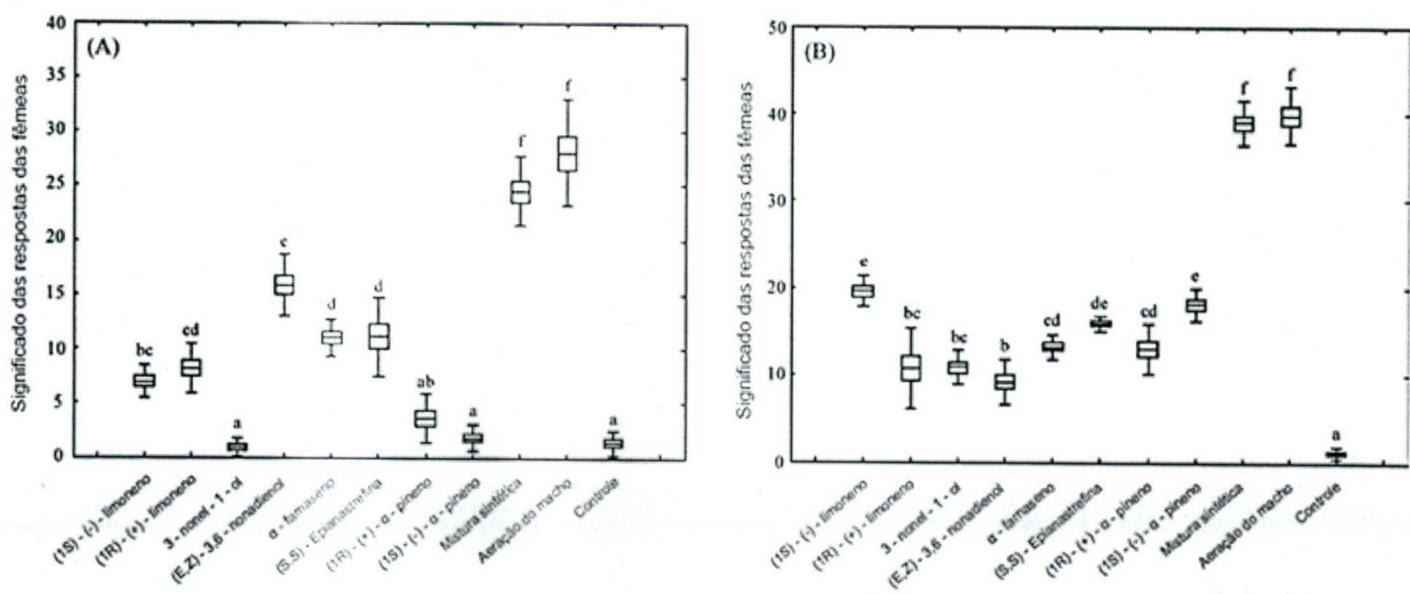


Figura 03

