



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

CARTA PATENTE Nº BR 102018000784-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102018000784-0

(22) Data do Depósito: 15/01/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 30/07/2019

(51) Classificação Internacional: A01N 27/00; A01N 31/02; A01P 7/04.

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

(54) Título: MONITORAMENTO E CONTROLE COMPORTAMENTAL COM FEROMÔNIO SEXUAL DA PRAGA DESFOLHADORA, OPSIPHANES INVIRAE HUBNER, 1808 (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE)

(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: KECIANE MESQUITA DAS CHAGAS; ANTÔNIO EUZÉBIO GOULART SANTANA; GAUS SILVESTRE DE ANDRADE LIMA; HENRIQUE FONSECA GOULART; MERYBETH FERNANDEZ TRIANA; JAKELINE MARIA DOS SANTOS; ISIS TORRES SOUZA; RICARDO SALLES TINÔCO; PAULO MANOEL PONTES LINS; MARIANA OLIVEIRA BREDA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 15/01/2018, observadas as condições legais

Expedida em: 11/04/2023

Assinado digitalmente por:
Alexandre Dantas Rodrigues

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

RELATÓRIO DESCritivo DA PATENTE DE INVENÇÃO PARA “Monitoramento e controle comportamental com feromônio sexual da praga desfolhadora, *Opsiphanes invirae* Hubner, 1808 (Lepidoptera: Nymphalidae)”

[001] A presente invenção diz respeito a composição de feromônio sexual para o monitoramento e controle comportamental das populações de adultos de *Opsiphanes invirae*. O feromônio está composto por: β-farneseno, (E)-nerolidol e (Z)-7-heptadeceno, variando na proporção 1:1:1 a 1:10:20., respectivamente.

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPÕE A RESOLVER

[002] A lagarta desfolhadora *O. invirae* é considerada uma das principais pragas de plantas da família Arecaceae de relevante interesse socioeconômico como o coqueiro (*Cocos nucifera* L.) e a palma-de-óleo ou dendzeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), tendo sua ocorrência em toda extensão da América do Sul (FERREIRA et al., 2015; FERREIRA, 2008; LEMOS; BOARI, 2010).

[003] No Brasil, apresenta registros em diferentes hospedeiros, além do coco e dendê, há relatos em outras arecáceas, como açaizeiro (*Euterpe oleracea*), carnaúba (*Copernicia cerifera*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*), butiazeiro (*Butia eriospatha*), palmeira imperial (*Roystonea oleracea*), palmeira-de-leque (*Licuala rotundifolia*), palmeira-de-leque-da-Austrália (*Livistona australis*) e musáceas, como a bananeira (*Musa* spp.) (RIBEIRO et al., 2010; FERREIRA et al., 1998; FERREIRA et al., 2015; SILVA et al., 1968; NOGUEIRA; FIGUEIRÉDO; MULLER, 2005). Essa diversidade de plantas hospedeiras, que não apresentam importância comercial podem influenciar no aumento da infestação das espécies cultivadas.

[004] Estes cultivos enfrentam elevadas perdas na produção e qualidade do produto, em virtude de pragas como as lagartas desfolhadoras, bastante comuns nas palmeiras. Durante o estágio de lagarta causa a destruição dos folíolos, reduzindo a área foliar, o que prejudica a transpiração e a fotossíntese das plantas (FERREIRA; LINS, 2006). Estes fatores atrasam o desenvolvimento das culturas cultivadas, refletindo negativamente em seus custos.

[005] Até então, a metodologia mais utilizada para redução da população de adultos de *O. invirae* ocorre com o uso de armadilhas contendo melaço de cana-de-açúcar como atrativo alimentar e em alguns casos adicionada de solução inseticida (LEMOS;

BOARI, 2010; FERREIRA et al., 2015). Estas armadilhas confeccionadas com sacos plásticos ou recipientes plásticos (carotes), contendo uma abertura para entrada dos insetos adultos, são distribuídas em todo o plantio.

[006] Das espécies vegetais relatadas como hospedeiras de *O. invirae* apenas para as culturas do coqueiro, dendzeiro e bananeira é recomendado o produto Dipel® à base de ingredientes ativos de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki, para o controle da referida praga (AGROFIT, 2003; BRASIL, 2010). Entretanto, para *Brassolis sophorae*, outra praga desfolhadora de arecáceas, há registro de oito produtos para o coqueiro e três para dedenzeiro. Essa carência de produtos registrados para *O. invirae* em relação à *B. sophorae*, juntamente com a expansão dos cultivos de dendê nos últimos anos (CORLEY, 2009), favorece a busca de outras medidas de controle de forma segura e seletiva para culturas agrícolas com ocorrência de *O. invirae*.

[007] No manejo integrado de pragas, o uso de semioquímicos como o feromônio sexual de insetos representa um dos maiores avanços em estratégias de controle de insetos-pragas. Esta ferramenta além de aumentar a eficiência dos métodos de controle existentes, tem contribuído para a preservação do meio ambiente (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009).

[008] Nieberding e colaboradores (2008) após determinar a composição química do feromônio sexual masculino na borboleta africana *Bicyclu sanynana* (Lepidoptera: Nymphalidae), comprovaram em condições de semi-campo, a influência da taxa de liberação do feromônio no sucesso do acasalamento de *B. anynana*. Demostraram que em quantidades artificialmente reduzidas de feromônio, era observado diminuição no acasalamento, e em doses maiores, o processo de cópula era restabelecido. Concluindo que a presença do feromônio nas quantidades adequadas é indispensável no processo de comunicação intraespecífica do inseto.

[009] Os feromônios tem sido as substâncias modificadoras de comportamento utilizadas com maior frequência no manejo de populações de insetos (BENTO, 2001). Nosso estudo tem implicações práticas na entomologia aplicada, pois a formulação feromonial aqui estabelecida com β -farneseno, (*E*)-nerolidol e (*Z*)-7-heptadeceno, pode ser usada no monitoramento, para detecção e diagnóstico precoce da ocorrência da praga, e no controle massal deste inseto.

[010] Diante do exposto, a presente invenção busca resolver o problema enfrentado por produtores rurais, com a inserção do uso do feromônio sexual no manejo integrado de *O. invirae*, a fim de monitorar e controlar a população desta praga em campo, como uma alternativa racional e sustentável. **CAMPO DE ATUAÇÃO**

[011] A patente desenvolve um método de controle efetivo para a espécie-praga *O. invirae* em cultivos de plantas das famílias Arecaceae e Musaceae, como o coqueiro, dendzeiro e bananeira, tendo como princípio o uso do feromônio sexual macho específico, que manipula o comportamento natural do inseto e permite o monitoramento e a captura massal do mesmo. Com isto, avança-se na identificação dos compostos que mediam a comunicação do inseto na área da ecologia química e o uso destes como uma alternativa de controle no Manejo Integrado de Pragas (MIP).

[012] Um dos objetivos do trabalho aqui descrito é a identificação dos compostos responsáveis pela atratividade dos insetos da espécie *O. invirae*, visando potencializar o controle desta espécie-praga em culturas de arecáceas de importância socioeconômica. O uso desta tecnologia pode refletir no incremento da produtividade, que está relacionada principalmente ao aumento das taxas de crescimento e desenvolvimento dos cultivos, impactando diretamente na oferta e na qualidade das palmeiras.

[013] Embora com o intuito de beneficiar as culturas das arecáceas e musáceas, a tecnologia desenvolvida por este trabalho tem o potencial de aplicabilidade em outros nichos locais também afetados por esta espécie-praga.

ESTADO DA TÉCNICA

[014] Os feromônios são produtos naturais não poluentes e comumente sem toxicidade (BENTO et al., 2016). Seu uso para o controle de pragas tem sido registrado em diversas culturas e países, não havendo evidências de efeitos adversos sobre a saúde humana, organismos não-alvo ou meio ambiente (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010), destacando-se como uma importante ferramenta nos programas de Manejo Integrado de Pragas.

[015] O controle comportamental já vem sendo adotado com excelentes resultados no controle massal da broca do olho coqueiro *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) nas regiões da América Central e do Sul, com uso estimado em 25.000

iscas por ano (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010), sendo hoje, o Rincoforol®, o feromônio mais difundido no Brasil para o controle da referida praga. Os resultados de Navarro e colaboradores (2002) mostraram a eficiência e qualidade do Rincoforol® em campo, com uso de apenas uma cápsula de feromônio, para uma área de 3 hectares no controle de *R. palmarum*. Demonstrando assim, sua eficiência e economia no manejo integrado desta praga.

[016] Ainda se tratando de culturas das arecáceas, principal hospedeiro de *O. invirae*, recentemente foi descoberto no Brasil, o feromônio de agregação da broca do pedúnculo floral do coqueiro *Homalinotus coriaceus* (Coleoptera: Curculionidae) (depósito de patente sob o número BR 10 2012 017317 4 A2). Esta composição feromonal se mostrou eficiente para a atração de indivíduos machos e fêmeas às armadilhas contendo feromônio, viabilizando assim, o seu monitoramento e controle nos plantios de palmeiras.

[017] Outro lepidóptero importante é a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), considerada uma das principais pragas na agricultura brasileira. Em função do impacto causado por esta praga no agronegócio brasileiro, está entre as 10 espécies mais importantes do país, causando danos expressivos à diversas culturas (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009), dentre elas, o milho, um dos cereais mais cultivados no mundo (LANA et al., 2012). Seu principal controle se dá com o uso de inseticidas, e por este motivo, estudos com feromônio de *S. frugiperda*, tem se destacado na América do Norte, Central e do Sul, com resultados satisfatórios ao monitoramento e controle massal desta espécie-praga. (MITCHELL; TUMLINSON; MCNEIL, 1985; TUMLINSON et al., 1986; ANDRADE; RODRIGUEZ; OEHLSCHLAGER, 2000; BATISTA-PEREIRA et al., 2006).

[018] *O. invirae* é uma praga desfolhadora que acaba influenciando diretamente na produção de fotossíntese, reduzindo drasticamente a produtividade (FERREIRA et al., 2015). Assim, o registro de um produto para o controle dessa lagarta desfolhadora, é um passo importante na sua redução populacional. Até o presente momento, não há registros de patentes para a composição feromonal desta espécie, objeto desta patente. Todavia, pesquisas com borboletas da família Nymphalidae, tem sido

registrada na área da ecologia química (SCHULZ et al., 2008; DARRAGH et al., 2017; BORGES et al., 2017).

[019] O conhecimento do comportamento reprodutivo de lepidópteros para o controle de insetos-praga no campo tem entusiasmado cientistas de todo o mundo, e levado a identificação de vários semioquímicos produzidos por borboletas. Existem uma diversidade de estruturas morfológicas presentes que liberam esses compostos, desde estruturas modificadas localizadas nas asas e “tufo de pelos”, à regiões como, abdômen, pernas e tórax (ROELOFS; CARDÉ, 1977; GANAI; KHAN; DAR, 2017). Brower et al., (1965) relataram a influência do “tufo de pelos” (hair-pencil) do macho de *Danaus gilippus* (Lepidoptera: Nymphalidae) para fêmeas co-específicas durante seu comportamento reprodutivo. Para *Opsiphanes invirae isagoras*, assim como na espécie objeto deste estudo, glândulas odoríferas para produção de substâncias atraentes masculinas, estão presentes em mais de um órgão. Estas glândulas localizam-se nas laterais do abdômem e asas posteriores, e seu “pincel distribuidor”, se encontra ao lado da área glandular de suas asas posteriores. No período de cortejo, os voláteis emitidos ganham maior concentração, no intuito de aumentar o efeito excitante sobre as fêmeas para fim de acasalamento (RUDOLF BARTH, 1980). Além destes, vários tem sido os trabalhos que evidenciam a influência de um ou mais compostos no comportamento de aceitação da fêmea para o acasalamento em borboletas como: *Danaus gilippus* (PLISKE; EISNER, 1969), *Idea leucone* (NISHIDA et al., 1996), *Bicyclus anynana* (NIEBERDING et al., 2008), *Ithominae* (TRIGO; BARATA; BROWN, 1994), *Danainae* (Lepidoptera: Nymphalidae) (HONDA et al., 2016), *Pieris napi* (ANDERSSON et al., 2007)e *Colias eurytheme* (Lepidoptera: Pieridae) (GRULA; MCCHESNEY; TAYLOR, 1980). Nestes trabalhos se confirmam que o feromônio destas borboletas é liberado pelos machos coespecíficos, e não por fêmeas, como geralmente ocorre na produção de feromônios sexuais liberados por mariposas.

[020] No processo evolutivo, borboletas e mariposas desenvolveram comportamentos reprodutivos distintos. Em geral, as mariposas fêmeas liberam feromônios sexuais de longo alcance para atração do sexo oposto, dos machos coespecíficos (SARTO I MONTEYS et al., 2012; ANDERSSON et al., 2007). No

estudo do comportamento reprodutivo de borboletas, sugere-se que os machos sejam os responsáveis pela liberação do feromônio afrodisíaco (YILDIZHAN et al., 2009). Estes aproximam-se inicialmente das fêmeas de forma visual, para em seguida ocorrer a liberação do feromônio (LI; MATHEWS, 2016). Estas substâncias aromáticas específicas dos machos atuariam como feromônios sexuais da espécie, pelo reconhecimento de seu papel na aceitação da fêmea durante o comportamento de corte e acasalamento (ANDERSSON et al., 2007; RUTOWSKI, 1980).

[021] Na prática, os feromônios性uais seguem dois modos de ação, o primeiro consiste na saturação do ar com o feromônio, para interrupção da comunicação e acasalamento, e o segundo fazendo uso do composto feromonal em armadilhas pontuais, para o monitoramento e captura massal da população da praga-alvo (WITZGALL et al., 2008). O principal uso do feromônio é na atração de insetos para armadilhas, visando a detecção e o monitoramento de insetos-pragas. Estima-se que 20 milhões de iscas de feromônios são produzidas no mundo para monitoramento ou captura massal todos os anos (WITZGALL et al., 2008). Com o monitoramento, é possível antecipar e estimar se um inseto específico está presente, informar quando se inicia seu período sazonal, além de orientar o produtor na tomada de decisão, permitindo assim, o uso mais racional de inseticidas (BENTO, 2001). Em países do ocidente esta tecnologia tem sido amplamente utilizada nos setores da agricultura, silvicultura e saúde pública (CUI; ZHU, 2016) destacando-se como uma ferramenta promissora para o controle de insetos-pragas.

[022] O uso de pesticidas tem provocado a resistência de pragas, alteração do equilíbrio ecológico e danos significativos ao ambiente e economia (ZARBIN; VILLAR; CORRÊA, 2007). Estes fatores têm levado a necessidade de um manejo integrado de pragas, com técnicas de baixo ou nenhum impacto ambiental, proporcionando vantagens para a toda a sociedade (EVALDO F. VILELA, 1992). A seletividade é um dos principais benefícios no uso de feromônios. Essa característica permite que apenas a espécie-alvo responda ao feromônio, não afetando outros organismos vivos do sistema de cultivo, como por exemplo os insetos benéficos e agentes de controle biológico (WELTER et al., 2008). Este atributo atua em favor dos inimigos naturais,

reduz o uso de inseticidas em campo, e caminha em consonância com os princípios ecológicos, econômicos e sociais do Manejo Integrado de Pragas.

[023] Os compostos químicos aqui utilizados para a formulação do feromônio sexual de *O. invirae*, são de acesso fácil no mercado, ou são facilmente sintetizados. Fato que os tornam viáveis para a produção em larga escala do feromônio aqui descrito. A presente invenção é uma ferramenta não-tóxica, que não afeta outros organismos, somente a espécie-alvo, não oferecendo riscos à saúde humana e nem ao cultivo. Além disso, utiliza-se o feromônio em armazenadores e liberadores de simples manipulação, o que faz desta invenção, um produto seguro e de fácil aplicabilidade em campo.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[024] Figura 1. Box plot com a representação da média e o desvio padrão das respostas das antenas das fêmeas de *O. invirae* ao ar, hexano, extrato masculino e feminino. A análise demonstra respostas significativas das antenas femininas aos extratos masculinos, pelo teste de Scott-Knott, à 5% de probabilidade.

[025] Figura 2. Cromatograma (GC-FID) do extrato da asa posterior do macho de *O. invirae* e a resposta eletroantenográfica (GC-EAD) da antena da fêmea coespecífica. As setas indicam os compostos para os quais houve despolarização da antena.

[026] Figura 3. Análise multivariada por medida repetida no tempo para o número de adultos de *O. invirae* coletados ao longo de cinco avaliações em armadilhas com diferentes formulações de feromônios em campo.

[027] Figura 4. Representação gráfica do número de insetos adultos de *O. invirae* capturados nas armadilhas iscadas com formulações de feromônios em campo, versus testemunha. As formulações de feromônio T1 e T2 diferiram significativamente da testemunha. As diferenças entre as formulações no bioensaio em campo foram analisados por ANOVA, utilizando o teste de média LSD, em nível de 5% de probabilidade.

[028] Figura 5. Número médio (\pm EP) de *O. invirae* coletadas por monitoramento para cada tratamento com diferentes formulações de feromônios e testemunha (apenas melaço) em armadilhas em campo.

[029] Figura 6. Número médio de adultos de *O. invirae* coletados em armadilhas iscadas com feromônio no experimento em campo.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

- [030] O estudo da presente invenção foi realizado em 4 etapas:
- [031] Extração dos compostos voláteis de *O. invirae* através das técnicas de aeração (headspace) e extração com solvente de partes do inseto;
- [032] Análise dos extratos por Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector de Ionização de Chamas (GC-FID) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS);
- [033] Análise dos extratos por Eletroantenografia (CG-EAG) para a identificação de compostos ativos para o inseto;
- [034] Bioensaios para a determinação da atividade biológica dos compostos em condições de campo.
- [035] Serão detalhados a seguir, os experimentos realizados em laboratório e em campo para identificação, caracterização e determinação dos componentes ativos aos insetos, na mistura feromonial do macho de *O. invirae*.

Extração dos compostos voláteis a partir da aeração e do extrato com solvente das partes do inseto.

[036] Os insetos de *O. invirae* utilizados no experimento, foram coletados na fase de pupa nas fazendas do Complexo Agropalma S/A ($02^{\circ} 31' 31''$ S e $48^{\circ} 45' 7''$), no município de Tailândia, e na fazenda Sococo S/A ($02^{\circ} 7' 11''$ S e $48^{\circ} 38' 45''$ W), no município de Mojú, ambas no estado do Pará. Após a coleta, o material biológico foi transportado para o Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN), da Universidade Federal de Alagoas ($9^{\circ} 33' 17''$ S e $35^{\circ} 46' 33''$), no município de Maceió, estado de Alagoas. Inicialmente, realizou-se a sexagem das pupas, e as mesmas foram penduradas e mantidas em gaiola até a emergência. Grupos de 25-60 insetos adultos (machos e fêmeas) virgens de *O. invirae* de 24 a 72 horas de idade, foram colocados em um sistema fechado que consiste numa câmara de vidro (11 cm de altura e 7 cm de diâmetro) na qual os insetos permaneceram durante um período de 16 horas sobre fluxo contínuo de ar (1,5 L/min) previamente filtrado com carvão ativado. A coleta de voláteis começou uma hora anterior ao início do comportamento

reprodutivo desta espécie, que ocorre predominantemente no período crepuscular. Os voláteis liberados pelos insetos dentro da câmara foram arrastados até a extremidade oposta do sistema através de uma bomba de vácuo Platon®, e adsorvidos em uma coluna contendo 50 mg do polímero adsorvente Porapack (50-80 mesh, Waters Corporation). Esta coluna com Porapack foi colocada na saída do sistema. Para uso desta coluna, foi realizado uma limpeza com dois mL do solvente hexano, e posteriormente aquecida à 120ºC, durante o período de duas horas, antes de inserí-la no sistema. Ao término do processo de aeração, a coluna com os compostos adsorvidos foi desconectada, e os voláteis do sistema foram dessorvidos com 500 uL de hexano bidestilado grau HPLC (ZARBIN; FERREIRA; LEAL, 1999), e armazenados em vial com capacidade de dois mL. As amostras foram conservadas em baixa temperatura, em um freezer (-10º C), a fim de evitar perda de material, e garantir posteriores análises. Foi coletada uma média de 10 repetições de amostras de aeração.

[037] Para a realização dos extratos das partes do inseto, foram utilizados 20 machos e 20 fêmeas virgens, de 24 a 72 horas de idade. As extrações foram realizadas no horário de comportamento reprodutivo desses insetos no intuito de garantir a coleta dos compostos envolvidos na comunicação sexual. Os insetos selecionados para o procedimento de extração das partes foram preparados com antecedência, sendo anestesiados no congelador por 2-3 minutos. Foram realizados extratos da asa anterior, asa posterior, perna anterior, perna média, perna posterior, abdome, órgão sexual, androcônia masculina (estrutura presente na asa posterior do macho) e asa posterior do macho sem androcônia. Todas as partes foram removidas com tesouras de dissecção, e imersos em hexano (grau HPLC, bidestilado). As extrações foram realizadas por um período de 20 minutos, e o sobrenadante filtrado em uma coluna de lã de vidro, preparada em uma pipeta de pasteur de vidro, e em seguida, transferidos para um vial com capacidade de dois mL, e conservados em refrigeração (-10º C) para posterior análise. Foi obtido para cada extrato, um acúmulo de 20 partes do inseto, totalizando 4 repetições para cada parte.

Análises dos extratos de *O. invirae* por (GC-FID) e (GC-MS);

[038] Para identificar os compostos presentes nas amostras de aeração e dos extratos das partes do inseto, as amostras foram analisadas em um cromatógrafo gasoso (ShimadzuGC-2010), acoplado a um detector de ionização em chama (FID). A cromatografia foi realizada nas colunas capilares RTx-1 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 μ m Restek®) e RTx-5 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 μ m Restek®). As condições de análise para a separação dos componentes foram de 50°C temperatura inicial, durante cinco minutos, e em seguida elevada a uma taxa de 10°C/min até 300°C, sendo mantida nessa temperatura por 10 min, nas duas colunas. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, com fluxo de 1.79 mL/min. Cada extrato foi injetado no modo splitless em alíquotas de 1 μ L à 250 °C, e a detecção à 300°C.

[039] As obtenções dos espectros de massa foram obtidas em um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS) – QP 2010 Ultra (Shimadzu) operando com modo de ionização por impacto de elétrons a 70eV. As amostras foram eluídas utilizando coluna Rtx – 5 (30m x 0.25mm d.i. x 0.25 μ m, Restek®) sob um fluxo de 1.79 mL/min e hélio como gás de arraste. O modo de injeção e as condições de análise do forno foram as mesmas do GC-FID. Os compostos químicos foram identificados pela comparação de seus índices de Kovats (IKs), usando uma solução padrão de alcanos de 7 a 30 átomos de carbono, por suas características de fragmentação no espectrômetro de massas, comparação com os espectros da biblioteca e com o padrão analítico das substâncias nas duas colunas. Na identificação estrutural dos compostos foram utilizados os espectros de massas do banco de dados do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, 2008 (NIST08 e NIST08s) e da biblioteca Wiley229, ou utilizando os índices de retenção (publicados nos sites Pherobase e NIST Chemistry Web Book) e confirmados pela coinjeção de padrões. As soluções de padrões analíticos comerciais da marca Sigma-Aldrich e AkScientific foram preparados na concentração de 50 mg/mL em hexano grau HPLC, bidestilado. A posição da dupla ligação do composto (*Z*)-7-heptadeceno foi determinada mediante derivatização do extrato com dissulfeto de dimetila (DMDS) e o composto foi confirmado através da síntese. Os compostos nas amostras foram quantificados por normalização de áreas usando eicosano (50 mg/L) como padrão interno.

Análise dos extratos por Eletroantenografia (GC-EAG) para a identificação de compostos bioativos para o inseto;

[040] Para avaliação dos efeitos das amostras sobre a antena dos adultos de *O. invirae*, inicialmente, as antenas dos machos e fêmeas dos insetos, receberam pulsos de ar contendo os extratos do macho e da fêmea. Como forma de controle, pulso do ar e do hexano foram utilizados durante o teste. Adicionou-se 10 uL das amostras testadas (extratos da aeração de machos e fêmeas) sobre um papel de filtro (2,0 cm x 1,0 cm), e em seguida foi inserido em uma pipeta de pasteur de vidro. Esta pipeta foi conectada ao sistema gerador de pulsos (StimulusController, Type CS-55, Syntech), o pulso foi mantido durante 0,3 s. Os estímulos de ar, hexano, e extratos do macho e da fêmea foram utilizados em antenas no sexo oposto de *O. invirae*. Cada antena testada recebeu estímulo de todos os tratamentos sequencialmente por três vezes, e ao término de cada série (3x) trocava-se as antenas. Um total de 10 antenas de cada sexo foram avaliadas (PENG et al., 2012). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

[041] Posteriormente, a eletroantenografia acoplada à cromatografia foi utilizada para detectar os compostos ativos nas amostras dos machos de *O. invirae*. As análises eletroantenográficas foram realizadas com as antenas de fêmeas virgens (2-3 dias de idade, n=6) (PIRES et al., 2016), versus os extratos brutos da aeração, asas posteriores e abdome dos machos. Nas análises utilizou-se 2 uL de cada amostra em um cromatógrafo gasoso (Schimadzu, GC-2010) acoplado a um detector FID e a um detector electroantenográfico (EAD). A cromatografia foi realizada em coluna RTx-5 (30m x 0,25mm d.i. x 0.25µm Restek®). As condições cromatográficas utilizadas foram as mesmas do GC-FID e GC-MS. Os exemplares de *O. invirae* foram anestesiados em baixa temperatura (-10º C) por 2-3 minutos, e em seguida, com uso de pinça e tesoura entomológica, foi removida sua antena cuidadosamente desde a base. A antena foi fixada no eletrodo de prata do sistema EAG com uma extremidade da antena colocada no eletrodo de trabalho e a base da mesma fixada no eletrodo de referência. Um gel condutor foi utilizado para cobrir as extremidades da antena no eletrodo (MORAES et al., 2008). O programa utilizado para análise foi o Syntech GC-

EAD32 versão 4.6 e a amplificação dos sinais elétricos ocorreu em um amplificador de alta impedância (IDA-4, SyntechHilversum, Holanda). Os compostos que eluíram do cromatógrafo foi considerado EAG-ativo quando induziram despolarização em duas ou mais de seis repetições de cada amostra.

Bioensaios para a determinação da atividade biológica dos compostos em condições de campo.

[042] Para verificar a atratividade dos adultos de *O. invirae* para a formulação do feromônio do macho coespecífico, o experimento em campo foi realizado em uma área de monocultura de dendê, na fazenda Agropalma S/A, localizada no município de Tailândia, no estado do Pará.

[043] O teste em campo foi realizado com armadilhas produzidas com sacos plásticos, contendo o atrativo alimentar (melaço) e o feromônio a ser testado. Na preparação das armadilhas iscadas, foram colocados um septo contendo o composto feromonal, e separadamente, uma garrafa pet de 250 ml com pequenas aberturas contendo 100 mL da solução de melaço (50% água e 50% melaço), ambos fixados às sacolas com um arame de aproximadamente 25cm. As armadilhas (80cm de altura e 55cm de comprimento) possuíam uma abertura de aproximadamente 8cm, e foram fixadas às plantas de dendê em média à 100cm do solo.

[044] Como testemunha no experimento, utilizamos as armadilhas contendo somente o atrativo alimentar (melaço), nas mesmas condições das demais armadilhas. Foram realizadas neste experimento três repetições com três formulações do feromônio T1, T2, T3 e testemunha, totalizando 12 armadilhas distribuídas no plantio de dendê, das quais foram capturados um total de 19.941 insetos (Fig.5). As formulações e testemunha foram distribuídas nas esquinas e corredores das parcelas com ocorrência de insetos à uma distância de 20-25m, e suas repetições, à aproximadamente 160m de distância. O experimento foi realizado por um período de três semanas, com um total de cinco monitoramentos, que ocorriam duas vezes na semana. As armadilhas provenientes de cada monitoramento foram transportadas ao laboratório de Fitossanidade do Grupo Agropalma S/A para sexagem e contagem dos insetos capturados. Os bioensaios ocorreram nos meses de setembro a outubro de 2017, com temperatura média de $27,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, e umidade

relativa de $80 \pm 3\%$. As análises estatísticas do bioensaio em campo para verificar as diferenças entre as formulações do feromônio testados e a testemunha, ocorreram pela análise de variância ANOVA, utilizando o teste de média LSD, em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS OBTIDOS

[045] Os machos de *O. invirae* liberam naturalmente uma mistura de monoterpenos, sesquiterpenos e alcenos tais como (*E*)- β -ocimeno, linalol, β -farneseno, (*E*)-nerolidol, (*Z*)-7-hexadeceno e (*Z*)-7-heptadeceno. Estes compostos também fazem parte da composição química das asas posteriores, androcônias e abdômes, com exceção do (*E*)- β -ocimeno que foi encontrado somente na aeração dos adultos de *O. invirae*.

[046] O (*Z*)-7-heptadeceno e o (*E*)-nerolidol são os componentes majoritários nas partes do inseto aqui estudadas, em contraste ao (*Z*)-7-hexadeceno e β -farneseno, que se apresentaram em concentrações menores.

[047] Bioensaios eletroantenográficos mostraram que as antenas das fêmeas apresentaram uma resposta aos extratos dos machos com diferença significativa ($p<0,05$) aos estímulos de ar e hexano, os quais foram usados como controle (Fig. 1). Em contraste, as antenas de machos frente a seus extratos, não apresentaram diferença com os controles ($p>0,05$). Desta forma, os resultados indicaram a presença de compostos biologicamente ativos no macho que produziu respostas significativas nas antenas das fêmeas de *O. invirae*.

[048] A posterior separação dos compostos por CG-EAG, mostraram que três compostos provocaram a despolarização nas antenas das fêmeas de *O. invirae*, sendo estes o β -farneseno, (*E*)-nerolidol e (*Z*)-7-heptadeceno. Estes foram destacados no cromatograma de acordo com a ordem de eluição (Fig.2). A resposta mais expressiva se mostrou ao composto (*E*)-nerolidol, tanto nos voláteis liberados pelos machos como nas amostras de parte do inseto.

[049] O bioensaio realizado em campo para verificar a atratividade e a preferência das formulações sintéticas do feromônio, constituído pelos compostos ativos no EAG, mostraram que as armadilhas iscadas com as formulações de feromônios, capturaram mais insetos e os adultos chegavam antes nos tratamentos que nas armadilhas testemunhas, que continham apenas o atrativo alimentar. A análise

multivariada por medida repetida no tempo para o número de adultos de *O. invirae* coletados ao longo das avaliações revelou que existe diferença estatística entre os monitoramentos e os feromônios (Fig.3). As análises estatísticas mostraram diferença significativa entre as formulações de feromônios dos tratamentos T1 e T2 e a testemunha (Fig.4-5).

[050] A composição da referida invenção foi estabelecida. Conclui-se que os compostos β -farneseno, (*E*)-nerolidol e (*Z*)-7-heptadeceno presente nos machos virgens de *O. invirae*, seriam os componentes do feromônio sexual deste inseto-praga, variando na proporção 1:1:1 a 1:10:20, respectivamente.

VANTAGENS DA PATENTE

[051] O uso de feromônios e a consequente redução na aplicação de pesticidas no cultivo de arecáceas e musáceas são desejáveis para a obtenção de produtos de melhor qualidade e valor agregado, numa prática agrícola mais sustentável. A vantagem ecológica desta invenção é proporcionada pelo uso específico do feromônio aplicado, uma vez que esta técnica somente irá interferir com a população da praga-alvo, não atingindo os demais organismos presentes no local, seja estes, benéficos ou maléficos (COPPING; MENN, 2000).

[052] Atualmente, o manejo dos adultos de *O. invirae* ocorre com uso de armadilhas com atraente alimentar e em alguns casos com inseticida para captura destes insetos. O presente produto é útil na potencialização da atratividade destes insetos, em função da maximização da captura de machos e fêmeas, para o controle de suas populações, através da técnica de coleta massal. Uma das principais vantagens da formulação do feromônio sexual de *O. invirae*, está na eficiência da técnica em função da sua atuação em sinergismo com outros métodos de controle. O uso de armadilhas iscadas com feromônio sintético e atraente alimentar permite a captura dos insetos-alvo logo após sua emergência, provocando a interrupção no acasalamento, impedindo a oviposição, e consequente redução da próxima geração do inseto-praga. As armadilhas para controle de *O. invirae* contendo apenas atraente alimentar e em alguns casos inseticida, demanda tempo para o início da atratividade dos insetos. A presente invenção tão logo exposta ao campo contribui de forma expressiva ao método já aplicado, pela presença de componentes ativos de ação imediata e

contínua, sobre a atração dos insetos em seu período de reprodução, possibilitando, assim, o seu controle.

[053] Outra vantagem desta invenção é o uso do feromônio sexual no monitoramento de pragas, visto que esta ferramenta tem permitido o uso mais racional de inseticidas em campo, trazendo redução destes produtos químicos, e benefícios extraordinários ao produtor (BENTO et al., 2016). A facilidade do seu uso permite reduzir a população para índices abaixo do nível de dano econômico, e o consequente aumento da produtividade agrícola.

[054] Além disso, contribui para o desenvolvimento sustentável, por se tratar de uma fonte de recurso ecologicamente correto, com o desenvolvimento de uma composição feromonal que viabilize o controle desta praga de maneira menos agressiva ao meio e à saúde humana e animal.

REFERÊNCIAS

- [055] AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 12nov. 2017.
- [056] ANDERSSON, J.; BORG-KARLSON, A.; VONGVANICH, N.; WIKLUND, C. Male sex pheromone release and female mate choice in a butterfly. **The Journal of experimental biology**, v. 210, p. 964–970, 2007.
- [057] ANDRADE, R.; RODRIGUEZ, C.; OEHLSCHLAGER, A. C. Optimization of a Pheromone Lure for *Spodoptera frugiperda* (Smith) in Central America. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 6, p. 609–613, 2000.
- [058] BATISTA-PEREIRA, L. G.; STEIN, K.; DE PAULA, A. F.; MOREIRA, J. A.; CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; PERRY JR, J.; CORRÊA, A. G. Isolation, identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the Brazilian population of *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 5, p. 1085–1099, 2006.
- [059] BENTO, J. M. S. Fundamentos do monitoramento, da coleta massal e do confundimento de insetos-praga. In: VILELA, E. F.; LUCIA, T. M. C. D. **Feromônios**

de insetos: biologia, química e aplicação. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, p. 135-144, 2001.

[060] BENTO, J. M. S.; PARRA, J. R. P.; DE MIRANDA, S. H. G.; ADAMI, A. C. O.; VILELA, E. F.; LEAL, W. S. How much is a pheromone worth? **F1000Research**, v. 5, p. 1763, 2016.

[061] BRASIL. Ato nº 58, de 19 de novembro de 2010. Altera o Decreto 4074, de 04 de janeiro de 2002, e dispõe sobre aprovação de alterações nas recomendações de uso do produto Dipel com a inclusão da cultura do Dendê para o controle de *Brassolis sophorae* e *Opsiphanes invirae*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 nov. 2010. Seção 1, p.17.

[062] BROWER, L. P.; BROWER, J.V.Z.; CRANSTON, F. P. Courtship behavior of the Queen butterfly, *Danaus gilippusberenice*. In: **Zoologica : scientific contributions of the New York Zoological Society**. New York, n.1, p.1–11, may, 1965.

[063] BORGES, E. O.; MARTINS, C. B. C.; SILVA, R. R.; ZARBIN, P. H. G. Terpenoids dominate the bouquet of volatile organic compounds produced by *Passiflora edulis* in response to herbivory by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Arthropod-Plant Interactions**, p. 1-9, 2017. DOI- 10.1007/s11829-017-9560-2.

[064] COPPING, L. G.; MENN, J. J. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, v. 56, n. 8, p. 651–676, 2000.

[065] CORLEY, R. H. V. How much palm oil do we need? **Environmental Science & Policy**, v. 12, n. 2, p. 134-139, 2009.

[066] CRUZ, I.; OLIVEIRA, L.; OLIVEIRA, A.C.; VASCONCELOS, C. A. Efeito do Nível de Saturação de Alumínio em Solo Ácido sobre os Danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em Milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 293–297, 1996.

[067] CUI, G. Z.; ZHU, J. J. Pheromone-Based Pest Management in China: Past, Present, and Future Prospects. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 7, p. 557–570, 2016.

- [068] DARRAGH, K.; VANJARI, S.; MANN, F.; GONZALEZ-ROJAS, M. F.; MORRISON, C. R.; SALAZAR, C.; PARDO-DIAZ, C.; MERRIL, R. M.; McMILLAN, W. O.; SCHULZ, S.; JIGGINS, C. D. Male sex pheromone components in *Heliconius* butterflies released by the androconia affect female choice. **PeerJ**, v. 3953, p. 1-23, 2017. DOI 10.7717.
- [069] FERREIRA, M.S.J. Manejo Integrado de Pragas do Coqueiro. **Ciência Agrícola**, Aracajú, v. 8, n.1, p. 21-29, 2007-2008.
- [070] FERREIRA, J.M. S.; LIMA, M. F.; SANTANA, D. L. Q.; MOURA, J. I. L; SOUZA, L. A. Pragas do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. **A cultura do coqueiro no Brasil**. 2.ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa- SPI; Aracaju: Embrapa CPATC, 189-267,1998.
- [071] FERREIRA, M. S. F.; LINS, P. M. P. Pragas do Coqueiro. In: FERREIRA, M. S. F; FONTES, H. R. (Eds.) **Produção Integrada de Coco**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 13-68, 2006.
- [072] FERREIRA, J. M. S.; TEODORO, A. V.; JÚNIOR, A. S. N.; GUZZO, E. C. Descrição, Bioecologia e Manejo das Lagartas- do-Coqueiro *Brassolis sophorae* L. e *Opsiphanes invirae* H. (Lepidoptera : Nymphalidae). **Comunicado Técnico**. n. 178, dez., 2015. ISSN 1678
- [073] GANAI, M. A.; KHAN, Z. H.; DAR, M. A. Pheromones in lepidopteran insects: Types, production, reception and its application. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP**, v. 6, n. 65, p. 2552–2558, 20017.
- [074] GRULA, J. W.; MCCHESNEY, J. D.; TAYLOR, O. R. Aphrodisiac pheromones of the sulfur butterflies *Colias eurytheme* and *C. Philodice* (Lepidoptera, Pieridae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 6, n. 1, p. 241–256, 1980.
- [075] HONDA, K.; HONDA, Y.; MATSUMOTO, J.; TSURUTA, Y., YAGI, W.; ÔMURA, H.; HONDA, H. Production and sex-pheromonal activity of alkaloid-derived androconial compounds in the danaine butterfly, *Parantica sita* (Lepidoptera: Nymphalidae: Danainae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 119, n. 4, p. 1036–1059, 2016.
- [076] KALINOVÁ, B.; DO NASCIMENTO, R. R.; MENDONÇA, A. L.; SILVA, E. L.; FREITAS, M. R. T Identification of two components of the female sex pheromone of

the sugarcane-borer *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 136, n. 3, p. 203–211, 2012.

[077] LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

[078] LEMOS, W.P; BOARI, A.J. Manejo de pragas e doenças no cultivo da palma de óleos nas condições brasileiras. In: RAMALHO FILHO, A. et al. (Org). **Zoneamento agroecológico, produção e manejo da palma de óleo na Amazônia**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p. 145- 152. 2010.

[079] LI, Y.; MATHEWS, R. A. In vivo real-time monitoring of aphrodisiac pheromone release of small white cabbage butterflies (*Pieris rapae*). **Journal of Insect Physiology**, v. 91–92, p. 107–112, 2016.

[080] MITCHELL, E. R.; TUMLINSON, J. H.; MCNEIL, J. N. Field evaluation of commercial pheromone formulations and traps using a more efficient pheromone blend for the *Fall armyworm* (Lepidoptera: Noctuidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 78, p. 1364–1369, 1985.

[081] MONTEYS, V. S.; ACÍN, P.; ROSELL, G.; QUERO, C.; JIMÉNEZ, M. A.; GUERRERO. Moths behaving like butterflies. Evolutionary loss of long range attractant pheromones in castniid moths: a *Paysandisia archon* model. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2012.

[082] NAVARRO, D. M. A. F.; MURTA, M. M.; DUARTE, A. G.; LIMA, I. S.; NASCIMENTO, R. R.; SANTANA, A. E. G. 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**, v. 25, n. 1, p. 32–36, 2002.

[083] NIEBERDING, C. M.; VOS, H.; SCHNEIDER, M.V.; LASSANCE, J.; ESTRAMIL, N.; ANDERSSON, J.; BANG, J.; HEDENSTROM, E.; LOFSTEDT, C.; BRAKEFIELD, P. M. The male sex pheromone of the butterfly *Bicyclus anynana*: Towards an evolutionary analysis. **PLoS ONE**, v. 3, n. 7, p. 1–12, 2008.

- [084] NISHIDA, R.; SCHULZ, S.; KIM, C. S.; FUKAMI, H.; KUWAHARA, Y.; HONDA, K.; HAYASHI, N. Male sex pheromone of a giant danaine butterfly, *Idea leuconoe*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 5, p. 949–972, 1996.
- [085] NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; MULLER, A. A. Açaí. Sistemas de Produção. **Embrapa**, Belém, n. 4, jul. 2005.ISSN 1807-0043.
- [086] PENG, C-L.; GU, P.; LI,J.; CHEN, Q-Y.; FENG, C-H.; LUO, H-H.; DU, Y-J. Identification and field bioassay of the sex pheromone of Trichophysetiscretacea(Lepidoptera: Crambidae). **Journal of economic entomology**, v. 105, n. 5, p. 1566–1572, 2012.
- [087] PIRES, E. V.; MENDONÇA, A. L.; VANÍCKOVÁ, L.; SERRA, N. S. J.; SILVA, R. C. C.; SANTOS, D. C. ; CAMPOS, R. S.; SANTA'NA, A. E. G.; NASCIMENTO, R. R. Identification and field and laboratory tests of the sex pheromone of *Cerconota anonella* Sepp. (Lepidoptera: Oecophoridae). **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 1–2, p. 72–80, 2016.
- [088] PLISKE, T. E.; EISNER, T. Sex Pheromone of the Queen Butterfly: Biology. **Science**, v. 164, n. 3884, p. 1170–1172, 1969.
- [089] RIBEIRO, R. C.; LEMOS, W. P.; BERNARDINO, A. S.; BUECKE, J.; MULLER, A. A. Primeira ocorrência de *Alcaeorrhynchus grandis* (Dallas)(Hemiptera: Pentatomidae) predando lagartas desfolhadoras do dendezeiro no Estado do Pará. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 1, p. 131–132, 2010.
- [090] ROELOFS, W.L. ; CARDÉ, R. T. Responses of lepidoptera and their analogues. **Annual Review of Entomology**, v.22, p. 377–405, 1977.
- [091] RUDOLF BARTH. Considerações gerais e específicas sobre as glândulas cutâneas sexuais dos lepidópteros. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 75, n. 3-4, p. 129-140, 1980.
- [092] RUTOWSKI, R. L. Male scent-producing structures in *Colias* butterflies - Function, Localization, and Adaptive Features. **Journal of Chemical Ecology**, Tempe, v. 6, n. 1, p. 13–26, 1980.
- [093] SCHULZ, S.; ESTRADA, C.; YILDIZHAN, S.; BOPPRÉ, M.; GILBERT, L. E. Na Antiaphrodisiac in *Heliconius melpomene* Butterflies. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n. 1, p. 82-93, 2008.

- [094] SILVA, A. G.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES, J; SILVA, M. N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Seus parasitas e predadores.** Rio de Janeiro: Serviço de Defesa Sanitária Vegetal, 1968. 622 p. Parte II. Tomo 1.
- [095] TRIGO, J. R.; BARATA, L. E. S.; BROWN, K. S. Stereochemical inversion of pyrrolizidine alkaloids by *Mechanitis polymnia* (Lepidoptera: Nymphalidae: Ithomiinae): Specificity and evolutionary significance. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 11, p. 2883–2899, 1994.
- [096] TUMLINSON, J. H.; MITCHELL, E. R.; TEAL, P. E. A.; HEATH, R. R.; MENGELOK, L.J. Sex pheromone of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) - Identification of components critical to attraction in the field. **Journal of Chemical Ecology**, v. 12, n. 9, p. 1909–1926, 1986.
- [097] UFAL. Universidade Federal de Alagoas (Maceió, AL). Antonio Euzebio Goulart Santana; Rose Paula Mendonça de Omena; Edjane Vieira Pires; Henrique Fonseca Goulart; Fernando Antonio Calvacante de Mendonça; Joana Maria Santos Ferreira; João Gomes da Costa. **Composição para controle da broca de pedúnculo floral do coqueiro *Homalinotus coriaceus* contendo o feromônio de agregação e seu uso.** Brasil patente BR n. 1020120173174 A2, 20 jun. 2012, 30 jun. 2015.
- [098] VILELA, E. F. Adoção de feromônios no manejo integrado de pragas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.27, p. 315-318, 1992.
- [099] WELTER, S. C.; PICKEL, C.; MILLAR, J.; CAVE, F.; STEENWYK, R. A. V.; DUNLEY, J. Pheromone mating disruption offers selective management options for key pests. **California Agriculture**, v. 59, n. 1, p. 16–22, 2008.
- [100] WITZGALL, P.; STELINSKI, L.; GUT, L.; THOMSON, D. Codling Moth Management and Chemical Ecology. **Annual Review of Entomology**, v. 53, n. 1, p. 503–522, 2008.
- [101] WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 1, p. 80–100, 2010.
- [102] ZARBIN, P. H. G.; FERREIRA, J. T. B.; LEAL, W. S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. **Química Nova**, v. 22, n. 2, p. 263–268, 1999.

- [103] ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722–731, 2009.
- [104] ZARBIN, P. H. G.; VILLAR, J. A. F. P.; CORRÊA, A. G. Insect pheromone synthesis in Brazil: An overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 1100–1124, 2007.

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação de Feromônio Sexual, eficaz no controle da lagarta desfolhadora, *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera: Nymphalidae), caracterizada por compreender uma combinação de: β -farneseno, (*E*)-nerolidol e (*Z*)-7-heptadeceno.
2. Formulação de Feromônio Sexual, eficaz no controle da lagarta desfolhadora, *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera: Nymphalidae), de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela razão entre os componentes β -farneseno, (*E*)-nerolidol e (*Z*)-7-heptadeceno variando na proporção 1:1:1 a 1:10:20, respectivamente.
3. Formulação de Feromônio Sexual, eficaz no controle da lagarta desfolhadora, *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera: Nymphalidae), de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizada por se apresentar na forma líquida, seja na forma em suspensão ou gel, ou, na forma sólida por se apresentar micronizada em pó ou em grânulos.
4. Formulação de Feromônio Sexual, eficaz no controle da lagarta desfolhadora, *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera: Nymphalidae), de acordo com as reivindicações 1 a 3, caracterizada por ser usada com fagos estimulantes provenientes da cana-de-açúcar, melaço da cana-de-açúcar, garapa da cana-de-açúcar, produtos derivados da fermentação biológica, frutos em fermentação, álcoois de plantas, extratos de plantas e suas combinações.
5. Uso da formulação de feromônio sexual, de acordo com as reivindicações 1 a 4, para monitoramento e controle da lagarta desfolhadora, *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera: Nymphalidae).

DESENHOS

Figura 01

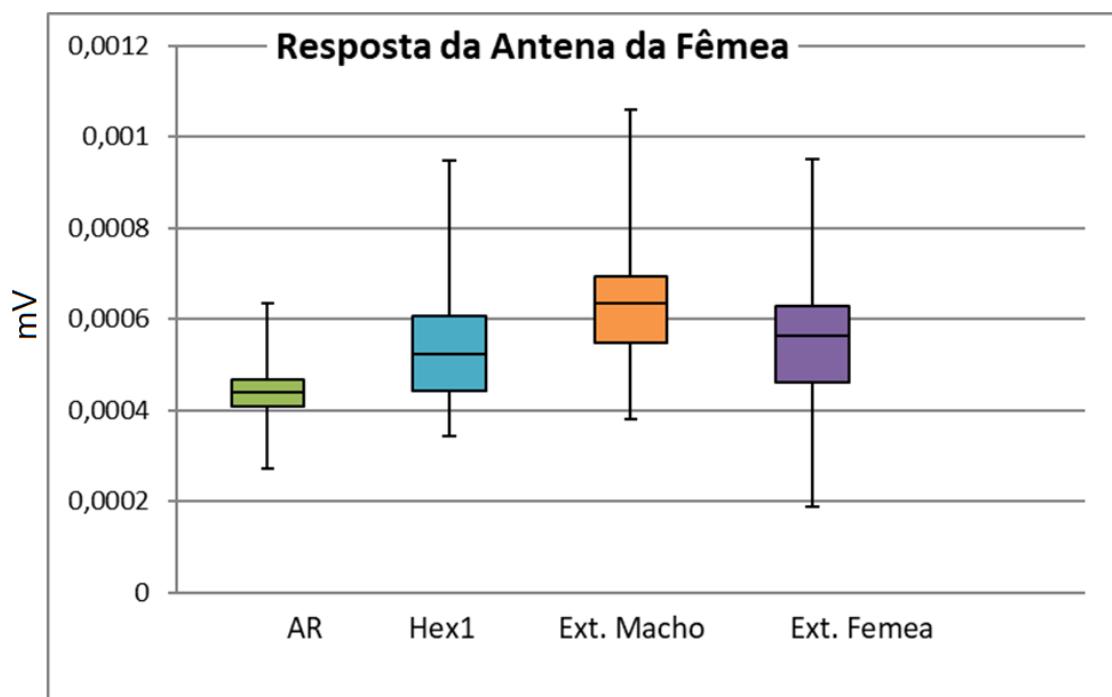


Figura 02

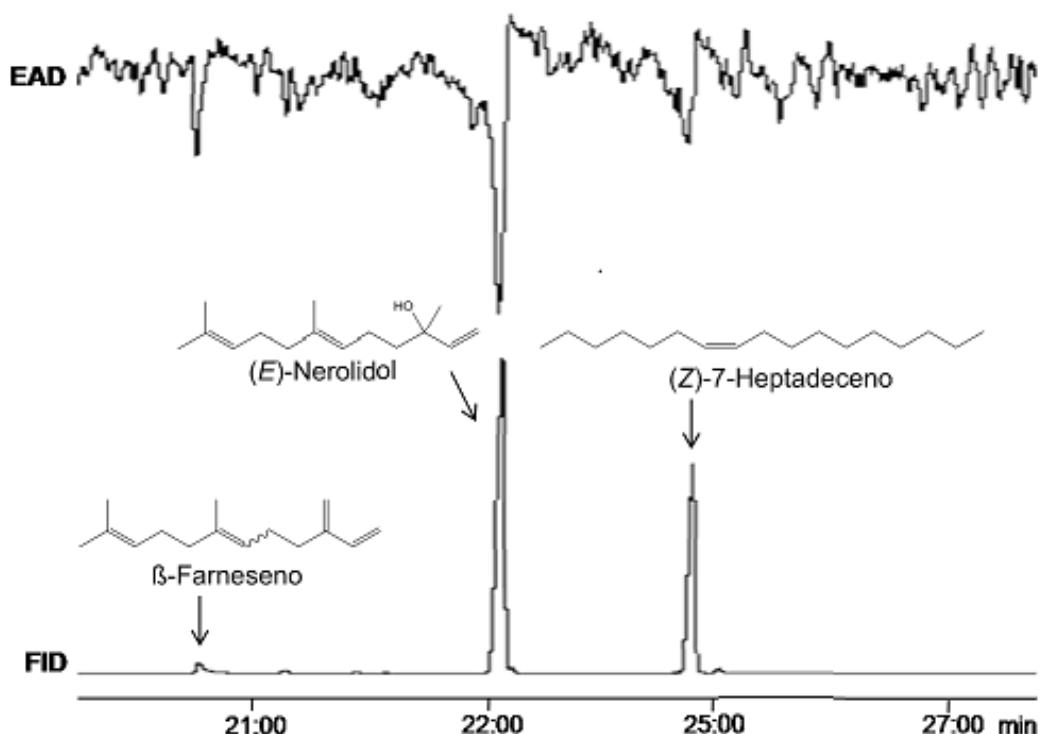


Figura 03

Causas da variação	GL	F	P
Monitoramento	4	11,21	<0,0001
Feromônio	3	4,16	0,0117
Feromônio * Monitoramento	12	1,71	0,1010
Valor de Wilks' Lambda = 0,029			

Figura 04

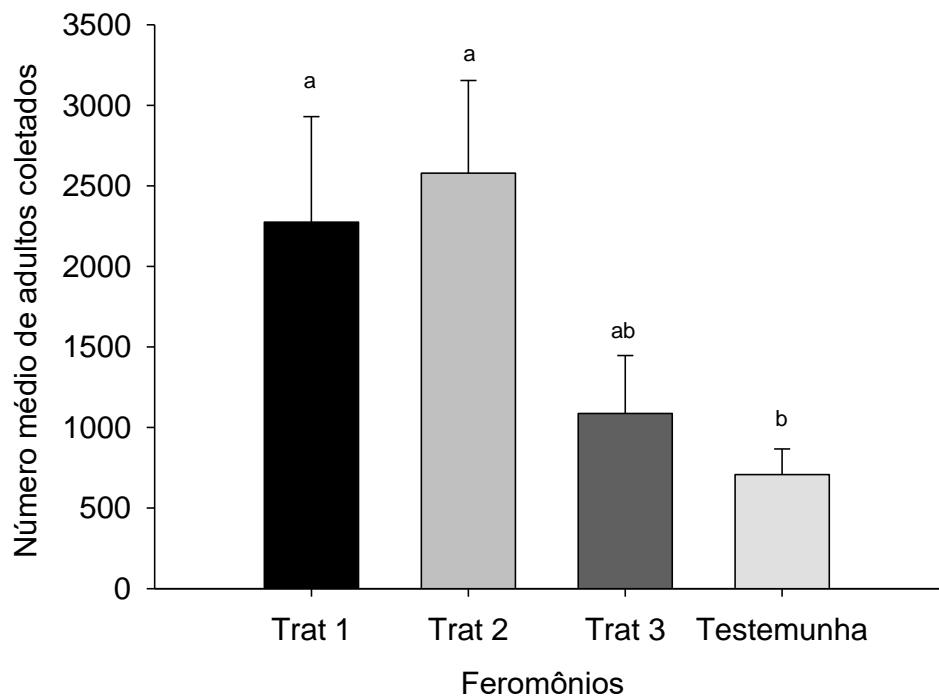


Figura 05

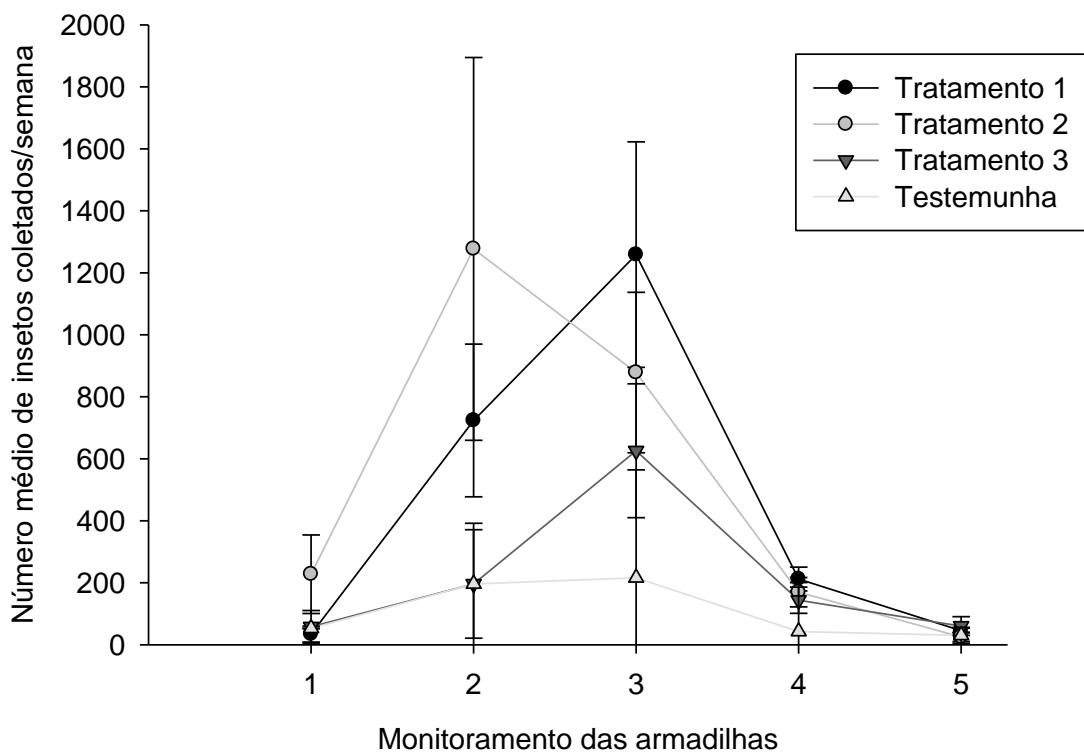


Figura 06

