



INPI
INSTITUTO
NACIONAL
DA PROPRIEDADE
INDUSTRIAL
Assinado
Digitalmente

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

CARTA PATENTE Nº PI 0606641-0

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: PI 0606641-0

(22) Data do Depósito: 21/03/2006

(43) Data da Publicação Nacional: 14/07/2009

(51) Classificação Internacional: A61K 31/70.

(30) Prioridade Unionista: US 60/664,020 de 22/03/2005.

(54) Título: PROCESSO PARA REDUZIR O SUCESSO DE ATAQUES POR ESCARAVELHO E/OU POR BROCA DA MADEIRA CERAMBICIDA EM ÁRVORES

(73) Titular: SYNGENTA PARTICIPATIONS AG, Sociedade Suíça. Endereço: Schwarzwaldallee 215, CH-4058 Basel, SUIÇA(CH); THE TEXAS A & M UNIVERSITY SYSTEM, Sociedade Norte-Americana. Endereço: OFFICE OF TECHNOLOGY COMMERCIALIZATION, 3369 TAMU, COLLEGE STATION TX 77843-3369, ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA(US)

(72) Inventor: DONALD M. GROSMAN; DAVID COX.

(87) Publicação PCT: WO 2006/102285 de 28/09/2006

Prazo de Validade: 10 (dez) anos contados a partir de 05/11/2019, observadas as condições legais

Expedida em: 05/11/2019

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 **"PROCESSO PARA REDUZIR O SUCESSO DE ATAQUES POR ESCARAVELHO E/OU POR BROCA DA MADEIRA CERAMBICIDA EM ÁRVORES"**.

[001] A presente invenção se refere a um processo para a prevenção/tratamento de infestação de árvores por escaravelho e/ou broca da madeira que compreende o tratamento da árvore com uma composição que compreende uma lactona macrocíclica. Em particular, a presente invenção se refere ao uso de benzoato de emamectina em um método para a prevenção/tratamento da infestação por escaravelho de árvores.

[002] Um número de espécies de escaravelho causa uma grande quantidade de destruição de árvores, em particular pinheiros. Destas espécies destrutivas, o besouro do pinheiro do sul (*Dendroctonus frontalis* Zimmerman) o besouro do pinheiro da montanha (*D. ponderosae* Hopkins), o besouro do pinheiro do oeste (*D. brevicomis* LeConte), o besouro do abeto (*D. rufipennis* Kirby), o besouro da conífera americana (*D. pseudotsugae* Hopkins), o "pine engraver" (*Ips pini* Say), o "piñon ips" (*I. confusus* LeConte), o "California five-spined ips" (*I. paraconfusus* Lanier) e o "Arizonia five-spined ips" (*I. lecontei* Swaine) têm importância particular. Também é sabido que os besouros da casca secundários, incluindo *I. avulsus* (Eichoff), *I. grandicollis* (Eichoff) e *I. calligraphus* (Germar), causam mortalidade significativa de pinheiros no sudoeste dos Estados Unidos da América. Estes besouros atacam normalmente árvores estressadas pela seca, relâmpagos, com distúrbios nas raízes e outros fatores. Em adição, as larvas do besouro cerambicida que fura a madeira causam danos substanciais às árvores.

[003] Os besouros perfuram as árvores e os adultos cruzados cavam galerias e canais sob a casca.

[004] Os ovos depositados nestes canais eclodem em larvas que

se alimentam da camada de câmbio abaixo da casca. Os canais que formam cortam o suplemento de água e de nutrientes e resultam na morte da árvore. Em adição, os besouros podem ainda carregar fungos sobre seus corpos que podem germinar e se espalhar dentro das árvores - tais fungos também podem alterar a coloração da madeira.

[005] O besouro do pinheiro do sul (SPB) (*D. frontalis* Zimmermann), é a praga mais importante das florestas de pinheiros no sul dos Estados Unidos da América. Os ataques locais e regionais de SPB causam várias perdas econômicas em uma base quase anual. Recentemente, um ataque sem precedentes se espalhou ao longo de grande parte do sudeste dos Estados Unidos da América. Durante o período de 1999 até 2002, as perdas causadas por SPB causaram danos às árvores e a mortalidade foi estimada em mais de 1 bilhão de dólares (Report on losses caused by forest insects, Southern Forest Insect Work Conference, 2000, 2001, 2002 e 2003). O SPB não apenas afeta a indústria madeireira; também possui um impacto significativo sobre os recursos recreativos, de água e da vida selvagem assim como propriedade residencial. A interface urbana/selvagem está continuando a se expandir colocando assim mais árvores residenciais de alto valor em risco ao ataque por SPB. A abundância atual de árvores e florestas susceptíveis evidencia a importância do desenvolvimento de novos métodos para proteger árvores individuais contra o ataque por SPB.

[006] A proteção de árvores individuais de SPB gravador e *Ips* envolveu historicamente aplicações de inseticidas químicos no tronco inteiro da árvore utilizando borrifadores hidráulicos. Vários produtos foram registrados junto a Environmental Protection Agency (EPA) para este uso, incluindo hexacloro de benzeno (BHC), Lindane®, fenitrotiona (Pestroy®) e clorpirifos (Dursban®), mas recentemente o uso do último destes, Dursban®, foi retirado de uso. Em 2003, bifentrin (Onyx®) foi registrado pela EPA para o uso contra várias espécies de

besouros da casca incluindo SPB gravador e *Ips* em plantas ornamentais, mas até agora este produto não se tornou amplamente disponível para os consumidores e não está registrado para uso em situações de floresta. Mesmo quando disponível, as aplicações por pulverizador de inseticidas têm limitações. São caros, demorados, constituem um risco alto para a exposição e a passagem do trabalhador e são prejudiciais aos inimigos naturais (Billings 1980).

[007] Os inseticidas sistêmicos foram sugeridos como uma ferramenta potencialmente útil para a proteção de árvores individuais e áreas florestadas. Um dos primeiros que foram testados, acefato (Orthene®), foi aplicado na folhagem a duas taxas diferentes (Crisp, Richmond e Shea 1979 dados não publicados, em Billings 1980). Foi relatado que os tratamentos reduzem a sobrevivência das larvas de SPB, mas não tinha efeito sobre os ovos, as pupas, os imaturos ou adultos parentais. Um estudo mais recente avaliou a fenitrotiona (Pestroy®) e um tratamento de combinação de N-metilditiocarbamato de sódio (SMDC, Vapam®) mais dimetil sulfoxido (DMSO) aplicado em entalhes da casca e dicrotofos (Bidrin®) aplicado por injetores Mauget™ (Inject-a-icide - B®) nas árvores na borda principal de infestações por SPB (Dalusky e outros 1990).

[008] Embora a mortalidade das árvores não tenha sido prevenida por qualquer um dos tratamentos, foi descoberto que o dicrotofos reduz significativamente tanto o comprimento das galerias dos ovos e a subsequente produção de progênie. Devido ao fato de que o dicrotofos possui uma toxicidade relativamente alta aos mamíferos, não está disponível para o público geral. O metil oxidimenton (Metasystox-R) aplicado por injetores Mauget (Inject-a-icide®) é registrado para uso contra várias espécies de *Dendroctonus* e *Ips* de besouros da casca, mas não está registrado para o SPB.

[009] Devido à natureza altamente destrutiva destes besouros,

são sempre requeridos métodos e composições novos e eficientes para a proteção das árvores de seu ataque.

[0010] O benzoato de emamectina, um derivado da avermectina, mostrou atividade sistêmica em pinheiro e é altamente eficiente contra o nematóide de madeira de pinheiro, *Bursaphelenchus xylophilis* (Steiner & Buhner) Nickle (Takai e outros 2000, 2001, 2003a, 2003b) e piral do tronco, *Dioryctria* spp. (Grosman e outros 2002), com a proteção durando mais que três anos. Denim® (benzoato de emamectina) está atualmente registrado para uso nas aplicações por pulverizador foliar em culturas de plantas do gênero *Brassica* contra várias espécies de lepidópteros.

[0011] Foi descoberto agora que o benzoato de emamectina é surpreendentemente eficiente contra os besouros da casca e as brocas da madeira.

[0012] Conseqüentemente, a presente invenção fornece um método para a prevenção/tratamento da infestação pelo besouro da madeira e/ou pela broca da madeira de árvores que compreende o tratamento da árvore com uma composição que compreende uma lactona macrocíclica.

[0013] Um composto de lactona macrocíclica é um composto que possui um anel em sua estrutura química constituído de doze ou mais átomos. Os átomos podem ser selecionados de carbono, oxigênio, nitrogênio ou enxofre, preferencialmente os átomos são carbono e oxigênio. Em uma modalidade, o anel possui até 20 átomos. Os exemplos incluem spinosad (737), avermectina e derivados monossacarídicos de avermectina, tal como abamectina (1), doramectina (25-ciclohexil-5-O-demetil-25-de(1-metilpropil) avermectina A_{1a}; CAS RN 117704-25-3), emamectina (291), eprinomectina ((4"R)- 4"-(acetilamino)-4"-desoxiavermectina B₁; CAS RN 123997-26-2), ivermectina (5-O-demetilavermectina A_{1a} (i) mistura com 5-O-demetil-25-

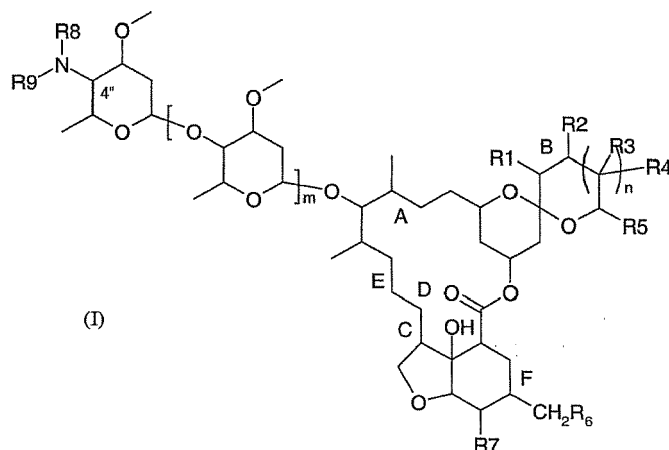
de(1-metilpropil)-25-(1-metiletil) avermectina A_{1a} (ii), CAS RN 70288-86-7 (70161-11-4 + 70209-81-3)) e selamectina ((5Z,25S)-25-ciclohexil-4'-O-de(2,6-didesóxi-3-O-metil- α -L-*arabino*-hexopiranosil)-5-demetóxi-25-de(1-metilpropil)-22,23-dihidro-5-(hidroxiimino) avermectina A_{1a}; CAS RN 165108-07-6) e derivados de milbemicina, tais como milbemectina (557), milbemicina oxima ((6R,25R)-5-demetóxi-28-desóxi-6,28-epóxi-25-etil-5-(hidroxiimino) milbemicina B mistura com (6R,25R)-5-demetóxi-28-desóxi-6,28-epóxi-5-(hidroxiimino)-25-metilmilbemicina B), moxidectina ((6R,23E,25S)-5-O-demetil-28-desóxi-25-[(1E)-1,3-dimetil-1-butenil]-6,28-epóxi-23-(metoxiimino) milbemicina B; CAS RN 113507-06-5) e SI0009 (uma milbemicina B mistura de 5-O-demetil-28-desóxi-6,28-epóxi-25-metil-13-[[[(metoxiimino) fenilacetil] óxi]-(6R, 13R, 25R)-(9CI) e 5-O-demetil-28-desóxi-6,28-epóxi-25-etil-13-[[[(metoxiimino) fenilacetil] óxi]-(6R, 13R, 25R)-(9CI); CAS RN 171249-10-8 e 171249-05-1).

[0014] As avermectinas naturais, que podem ser obtidas de *Streptomyces avermitilis*, são referidas como A_{1a}, A_{1b}, A_{2a}, A_{2b}, B_{1a}, B_{1b}, B_{2a} e B_{2b}. Os compostos referidos como "A" e "B" possuem um radical metóxi e um grupo OH, respectivamente, na posição 5. A série "a" e a série "b" são compostos em que o substituinte R₁ (na posição 25) é um radical sec-butila e um radical isopropila, respectivamente. O número 1 no nome dos compostos significa que os átomos de carbono 22 e 23 estão ligados por ligações duplas; o número 2 significa que estão ligados por uma ligação simples e que o átomo de carbono 23 carrega um grupo OH.

[0015] Os pesticidas, incluindo spinosad, abamectina, milbemectina e emamectina, são descritos no e-Pesticide Manual, versão 3.0, 13^a Edição, Ed. CDC Tomlin, British Crop Protection Council, 2003-04. O número a seguir do nome do composto é o número de entrada fornecido no Pesticide Manual.

[0016] Em uma modalidade, a lactona macrocíclica é um composto da Fórmula (I):

[0017] em que

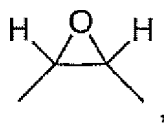


[0018] R1 até R9 representam, independentemente um do outro hidrogênio ou um substituinte;

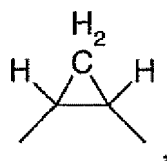
[0019] m é 0, 1 ou 2;

[0020] n é 0, 1, 2 ou 3; e

[0021] as ligações marcadas com A, B, C, D, E e F indicam, independentemente uma da outra, que dois átomos de carbono adjacentes estão conectados por uma ligação dupla, uma ligação simples, uma ligação simples e uma ponte de epóxido da Fórmula



[0022] ou uma ligação simples e uma ponte de metileno de Fórmula



[0023] incluindo, quando aplicável, um isômero E/Z, uma mistura de isômeros E/Z e/ou um tautômero dos mesmos, em cada caso na forma livre ou na forma de sal.

[0024] O composto da Fórmula (I) pode estar na forma de tautômeros. Conseqüentemente, anteriormente aqui e posteriormente aqui, quando apropriado, o composto (I) deve ser entendido como incluindo os tautômeros correspondentes, mesmo se o último não estiver especificamente mencionado em cada caso.

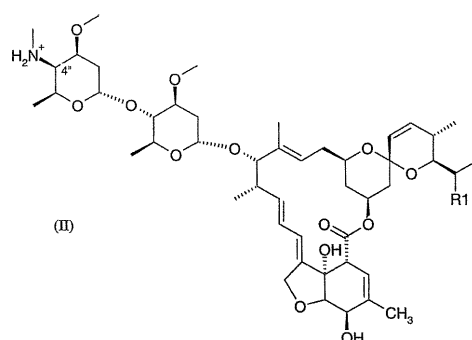
[0025] Os compostos anteriores são capazes de formar sais de adição ácida. Tais sais são formados, por exemplo, com ácidos inorgânicos fortes, tais como ácidos minerais, por exemplo, ácido perclórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido nitroso, um ácido fosfórico ou um haleto de hidrogênio, com ácidos carboxílicos orgânicos fortes, tais como não substituídos ou substituídos, por exemplo, substituídos por halo, ácidos C1-C4 alcano carboxílicos, por exemplo, ácido acético, ácidos dicarboxílicos saturados ou insaturados, por exemplo, ácido oxálico, malônico, succínico, maléico, fumárico ou ftálico, ácidos hidroxicarboxílicos, por exemplo, ácido ascórbico, láctico, málico, tartárico ou cítrico ou ácido benzóico ou com ácidos sulfônicos, tais como não substituídos ou substituídos, por exemplo, substituídos por halo, ácidos C1-C4 alcano- ou aril-sulfônicos, por exemplo, ácido metano- ou p-tolueno-sulfônico.

[0026] Além disso, os compostos da Fórmula (I) que possuem pelo menos um grupo ácido são capazes de formar sais com bases. Os sais adequados com bases são, por exemplo, sais metálicos, tais como sais de metais alcalinos ou alcalinos terrosos, por exemplo, sais de sódio, potássio ou magnésio ou sais com amônia ou uma amina orgânica tais como morfolino, piperidina, pirrolidina, uma mono-, di- ou trialquilamina inferior, por exemplo etil-, dietil-, trietil- ou dimetil-propilamina ou a mono-, di- ou trihidróxi- alquilamina inferior, por exemplo, mono-, di- ou trietanolamina. Em adição, também podem ser formados sais internos correspondentes.

[0027] Em vista da relação íntima entre os compostos da Fórmula

(I) na forma livre e na forma de seus sais, qualquer referência posteriormente aqui ou anteriormente aqui aos compostos livres da Fórmula (I) ou ao seu sal deve ser entendida como incluindo também os sais correspondentes ou os compostos livres da Fórmula (I) quando apropriado e conveniente. O mesmo se aplica no caso de tautômeros dos compostos da Fórmula (I) e dos sais dos mesmos.

[0028] Em uma modalidade particular, a invenção se refere a um composto da Fórmula (II):



[0029] em que R₁ é metila ou etila.

[0030] Este composto é conhecido como 4"-desóxi-4"-N-metilamino avermectina B1a/B1b ou emamectina. É observado que quando R₁ é um grupo etila, o composto está na forma de B1a e quando R₁ é metila, o composto está na forma de B1b. De forma geral, os compostos são utilizados na forma de uma mistura das duas formas, B1a e B1b, uma vez que as diferenças estruturais são muito ligeiras e equivalem à diferença entre o grupo sec-butila e um grupo isopropila e os dois compostos possuem substancialmente as mesmas reatividade química e atividades biológicas. Para conveniência, a nomenclatura B1a/B1b é empregada para indicar compostos individuais e a mistura de tais compostos. Em particular, é preferido que as composições contenham 80% ou mais do componente B1a e 20% ou menos do componente B1b, mais preferencialmente 90% ou mais do componente B1a e 10% ou menos do componente B1b.

[0031] Em particular, a presente invenção está relacionada com o sal de adição ácida do composto anterior. O ácido pode ser ácido ben-

zóico, ácido benzóico substituído por um, dois ou três substituintes selecionados do grupo que consiste em halogênio, hidroxila, carboxila, C1-C6 alquila e C1-C6 alcoxila, ácido benzeno sulfônico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido tartárico ou ácido maléico. Os sais de adição ácida preferidos são formados com ácido benzóico, ácido salicílico, ácido gálico, ácido benzenossulfônico ou ácido cítrico. O sal de adição ácida mais preferido é o formado com ácido benzóico e o composto compreendendo este sal é conhecido como benzoato de emamectina.

[0032] O ingrediente ativo da presente invenção pode ser aplicado nas árvores de qualquer uma das maneiras conhecidas na técnica, por exemplo, por borrifação. Entretanto, o método de aplicação preferido é através de técnicas de injeção na árvore e, em particular, através do sistema de microinfusão Arborjet Tree IV™ (Arborjet, Inc. Woburn, MA).

[0033] O ingrediente ativo pode ser formulado através de qualquer um de um número de maneiras conhecidas e, em particular, pode ser formulado para uso nos métodos de injeção nas árvores. O ingrediente ativo pode ser dissolvido em um solvente ao qual um tensoativo pode ser adicionado e pode ser aplicado junto com veículos, tensoativos ou outros adjuvantes promotores da aplicação adicionais costumeiramente empregados na tecnologia da formulação.

[0034] Os solventes adequados são: hidrocarbonetos aromáticos, por exemplo, misturas de xileno ou naftalenos substituídos, ftalatos, tal como ftalato de dibutila ou ftalato de dioctila, hidrocarbonetos alifáticos, tal como ciclohexano ou parafinas, álcoois ou glicóis e seus éteres e ésteres, tal como éter de etanol, de etileno glicol, de monometil ou monoetil etileno glicol, cetonas, tal como ciclohexanona, solventes fortemente polares, tal como N-metil-2-pirrolidona, dimetil sulfóxido ou dimetilformamida, assim como óleos vegetais ou óleos vegetais epoxidados, tal como óleo de coco ou óleo de soja epoxidado; ou água. Pa-

ra os métodos de injeção nas árvores, é preferível um solvente que possui uma baixa viscosidade.

[0035] Dependendo da natureza do ingrediente ativo que será formulado, os compostos tensoativos adequados são tensoativos não iônicos, catiônicos e/ou aniônicos que possuem boas propriedades emulsificantes, de dispersão e umectantes. O termo 'tensoativos' será também entendido como compreendendo misturas de tensoativos.

[0036] Os tensoativos costumeiramente empregados na tecnologia da formulação podem ser encontrados na literatura a seguir:

[0037] "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" MC Publishing Corp., Glen Rock, NJ., 1988.

[0038] M. e J. Ash, "Enciclopedia of Surfactants", Vol. I-III, Chemical Publishing Co., Nova York, 1980-1981.

[0039] A invenção será agora descrita com referência aos exemplos a seguir:

EXEMPLOS

[0040] A intenção do estudo era avaliar a eficiência de injeções sistêmicas de benzoato de emamectina na redução do sucesso dos ataques do escaravelho no pinheiro teca e determinar a duração da eficiência do tratamento. Como as populações de SPB eram extremamente baixas no Texas em 2004, os besouros gravadores *Ips* foram utilizados como a espécie indicadora.

[0041] Duas plantações de pinheiros teca recentemente podadas de 20 anos de idade foram selecionadas na terra pertencente à Temple-Inland Forest Products Corporation aproximadamente 5 km ao sul de Wells (condado de Angelina), Texas. As árvores em uma plantação receberam injeção para uso em um estudo minucioso (Exemplo 1). As árvores em uma seção de 0,2 ha da segunda plantação receberam injeção como parte de um estudo de proteção de árvores isoladas (Exemplo 2). Uma área em estágios também foi instalada na segunda

plantação em que as amostras da primeira plantação foram expostas aos besouros da casca e às brocas da madeira.

EXEMPLO 1

[0042] Setenta e cinco árvores de pinheiro teda, *Pinus taeda* L., 15 - 20 cm de diâmetro na altura do tórax de um corpo humano, foram selecionadas em março de 2004. Cada tratamento foi injetado nos quatro pontos cardinais aproximadamente 0,3 m acima da terra de cada uma de 15 árvores em abril (16 – 23) utilizando o sistema de microinfusão new Arborjet Tree IV™ (Arborjet, Inc. Woburn, MA). Os tratamentos incluíam:

1) Benzoato de emamectina (Denim®, 1,92% ai, Syngenta Crop Science) - O Denim® foi misturado 1:1 com metanol e aplicado a uma solução de 18,6 mL por 2,54 cm (polegada) de diâmetro de árvore na altura do peito (DBH) (= 0,2 g de agente ativo por 2,54 cm (polegada) de DBH).

2) Controle (não tratadas)

[0043] Após 1 (24 de maio), 3 (19 de julho) e 5 (setembro) meses após a injeção, 5 árvores de cada tratamento foram derrubadas e dois ramos de 1,5 m de comprimento foram removidos das alturas de 3 m e 8 m do tronco. As amostras foram transportadas para uma plantação próxima que tinha sido recentemente podada e continha material recém-cortado fresco. Cada ramo foi colocado aproximadamente a 1 m de distância sobre ramos de pinheiro seco descartados para maximizar a área de superfície disponível para a colonização assim como para desencorajar a predação por organismos do solo e que habitam o resíduo. Para facilitar a colonização oportuna de besouros da casca, pacotes de feromônios de escaravelho (combinação de ipsdienol racêmico + laneriona, ipsenol ou cis-verbenol; Fero Tech, Inc., Delta, BC, Canadá) foram aderidos separadamente às estacas de 1 m das árvores igualmente espaçados na área de estudo. O ipsdienol racêmico e o

cis-verbenol foram utilizados com a segunda e a terceira séries de ramos distribuídos em julho e setembro, respectivamente. Os pacotes foram removidos após 2 semanas quando sinais de ataques (poeira de escavação) eram observados na maior parte de ramos de teste, sinalizando que feromônios produzidos naturalmente estavam presentes.

[0044] Os sinais de ataque pelos besouros (poeira de escavação) eram visíveis em vários ramos apenas alguns dias após os ramos terem sido transferidos para a área de classificação e as iscas de feromônio eliminadas. Dentro de um período de 2 semanas, vários ataques de *Ips* e numerosos nichos de ovos de cerambicida eram evidentes na superfície da casca da maior parte dos ramos.

[0045] Um painel transparente de acetato (10 cm de largura por 25 cm de comprimento) foi anexado no centro de cada ramo após a distribuição de ramos para monitorar a chegada de besouros da casca. A superfície superior de cada painel foi revestida com o composto de captura Stikem Special® (Michel e Pelton, Emeryville, CA). As armadilhas foram deixadas no local durante duas semanas.

[0046] Cada série de ramos foi recuperada aproximadamente 3 semanas após a distribuição, após a observação de muitos nichos de ovos cerambicida na superfície da casca da maior parte dos ramos. Havia uma preocupação de que se fosse permitido que as larvas de cerambicida se desenvolvessem durante muito tempo, sua atividade de alimentação obscureceria ou obliteraria as galerias de *Ips*. Assim, cada série de ramos foi recuperada e armazenada temporariamente em um resfriador de plantas jovens partindo da semente TFS – 42°C (-45°F) para retardar o desenvolvimento de cerambicida até que os ramos pudessem ser avaliados.

[0047] No laboratório, duas tiras de 10 X 50 cm (total = 1000 cm²) de casca foram removidas de cada ramo. Várias medidas foram feitas em relação à construção de câmaras nupciais e galerias de ovos e de-

envolvimento de progênie:

1) Número de ataques sem sucesso – penetração no floema, mas sem galerias de ovos.

2) Número de ataques bem sucedidos – construção de câmara nupcial e pelo menos uma galeria de ovos se estendendo da mesma.

3) Número e comprimentos das galerias de ovos com galerias progênie irradiando das mesmas.

4) Número e comprimentos de galerias de ovos sem galerias de progênie.

5) Atividade de cerambicida, estimada através da colocação de uma grade de 100 cm² sobre uma parte de cada tira de casca e da contagem do número de quadrados que se sobrepõe à área em que as larvas de cerambicida se alimentaram.

[0048] A eficiência do tratamento foi determinada através da comparação de ataques de besouros *Ips* e do comprimento das galerias de ovos e da alimentação de cerambicidas em ramos tratados e não tratados. Os dados foram transformados por $\log_{10}(x+1)$ para satisfazer os critérios para normalidade e homoscedasticidade (Zar 1984) e analisados por GLM e o teste Fishers Protected LSD utilizando o programa estatístico Statview.

[0049] O número de besouros gravadores *Ips* que chegam aos ramos individuais variava consideravelmente, mas não diferia entre os tratamentos em relação à altura ou à série (Tabela 1). Em contraste, o número total de ataques (câmaras nupciais construídas) por besouros machos freqüentemente diferia entre os tratamentos.

[0050] O número de ataques não necessariamente refletia o sucesso do ataque. Como esperado, em maio, os ramos não tratados foram fortemente atacados. Para todas as três séries, quase todas as câmaras nupciais foram construídas de forma bem sucedida em ramos

não tratados – com pelo menos uma galeria de ovos irradiando de cada câmara nupcial. Em um nítido contraste, nos ramos tratados com benzoato de emamectina avaliados em maio, a maior parte dos ataques não foi bem sucedida nas alturas de 3 m (79%) e 8 m (69%) e todos os ataques (100%) não foram bem sucedidos em ambas as alturas em julho e setembro. Parecia que quase todos os ataques eram abortados ou que os besouros morriam assim que penetravam na região do floema. Havia poucos ataques bem sucedidos de *Ips* em uma árvore de cinco em maio, mas estes ataques eram muito menores em número comparados com os das árvores de controle e estavam restritos a tiras estreitas no ramo. Em maio, o benzoato de emamectina reduziu nitidamente o número total (81% e 96%) e o comprimento (94% e 99%) de galerias de ovos em 3 m e 8 m, respectivamente, comparados com os das árvores de controle (Tabela 2). Em julho e setembro, o benzoato de emamectina preveniu completamente a construção de galerias de ovos em todos os ramos.

[0051] Em maio, foi descoberto que as larvas de cerambicida se alimentaram de 30% e 34% da área do floema de ramos não tratados tirados de 3 m e 8 m, respectivamente, durante o período de 3 semanas entre a derrubada da árvore e a avaliação de ramo (Tabela 3). Em contraste, muito pouca alimentação ou desenvolvimento larvar foi observado em ramos tratados com benzoato de emamectina. De forma global, este tratamento reduziu os danos causados pela alimentação em 93% e 100% nos ramos de 3 m e 8 m, respectivamente. As larvas de cerambicida se alimentavam de 23 - 25% e 9 - 14% da área do floema em ramos não tratados tirados em julho e setembro, respectivamente (Tabela 3). Em contraste, ambas as séries de ramos não exibiam alimentação ou desenvolvimento larvar nos ramos tratados com benzoato de emamectina de 3 m. Não ocorreu colonização a 8 m.

EXEMPLO 2

[0052] Foram selecionados pinheiros teca de 15 - 20 cm DBH na segunda plantação em março de 2004. Cada tratamento (os mesmos que os utilizados no Exemplo 1) foi injetado nos quatro pontos cardinais aproximadamente 0,3 m acima da terra de cada uma das 6 árvores em abril (16 – 23) utilizando o sistema Arborjet Tree IV™. Após 5 semanas após a injeção (28 de maio), foram cortados tiras com uma machadinha no alburno entre os pontos de injeção próximos à base da árvore. Uma esponja de celulose foi inserida em cada corte e carregada com 10 mL de uma mistura 4:1 de N-metilditiocarbamato de sódio (MS) (Woodfume®; Osmose, Inc., Buffalo, NY) mais dimetil sulfoxido (DMSO) (Aldrich Chemical) (Roton 1987, Strom e outros 2004). Este método reduz a resina em próximo de zero em 1-2 semanas. A intenção era estressar a árvore e torná-la susceptível ao ataque por besouros da casca sem matá-la.

[0053] Embora a área de estudo tivesse chuvas adequadas para manter a saúde geral das árvores, o tratamento com Vapam/DMSO tinha o efeito desejado de estressar as árvores. A resina escorrendo a superfície da casca era o sinal mais visível de estresse e isto ocorria em quase 40% das árvores do estudo ($F = 0,4487$; $df = 4, 25$; $P = 0,7723$). Os tratamentos não diferiam na proporção de árvores com este sintoma de estresse. Cinco das seis árvores de controle exibiam sinais de ataque por besouros da casca (tubos de resina e poeira de broca) 2 semanas após o tratamento com Vapam /DMSO ter sido administrado. Todas as árvores do estudo foram avaliadas aproximadamente 4 semanas após o tratamento com Vapam/DMSO (= 24 dias após a distribuição inicial de feromônios).

[0054] Os pacotes de feromônios contendo ipsdienol racêmico + laneriona, ipsenol ou cis-verbenol foram aderidos (7 de junho) no topo de estacas de 3 m igualmente espaçados entre e em torno das árvores de estudo para encorajar o ataque pelas três espécies gravadoras de

Ips. Entretanto, os resultados iniciais do teste de ramo sugeriram que encorajando o ataque isolado de *Ips calligraphus* (a espécie maior e mais comum) permitira medidas mais fáceis e mais acuradas de sucesso do ataque por besouros. Assim, as iscas de feromônios de ipsdienol e cis-verbenol eram distribuídas em todas as estacas em 17 de junho. As iscas eram trocadas a cada 4 semanas.

[0055] Um painel translúcido de acetato (10 cm de largura por 25 cm de comprimento) revestido com Stickem Special® foi anexado 2 m de altura nas árvores em posição ereta após a distribuição de iscas de feromônio para monitorar a chegada de besouros da casca. As armadilhas foram deixadas no local durante duas semanas.

[0056] Três semanas após a distribuição dos feromônios (28 de junho), cada árvore foi avaliada através da marcação de uma secção de 30 cm de tronco em uma altura de 3 m. Todos os ataques visíveis por *Ips* e os nichos de ovos de cerambicida foram contados dentro da área marcada. O número de árvores com coroas desbotadas foi registrado. Depois disso, as árvores foram avaliadas semanalmente em relação ao desbotamento das coroas. Quando a mortalidade ocorria, as árvores eram derrubadas e dois ramos tirados e avaliados em relação ao sucesso do ataque e ao comprimento das galerias como descrito no Exemplo 1. Todas as árvores remanescentes foram derrubadas 66 dias (9 de agosto) após a distribuição inicial de feromônios quando nenhuma árvore adicional morreu durante 3 semanas. A eficiência do tratamento foi determinada através da comparação da sobrevivência das árvores, dos ataques de besouros e do comprimento das galerias de ovos sobre ramos tratados e não tratados. Como antes, os dados foram transformados e analisados por GLM e o teste LSD Protegido de Fisher utilizando o programa estatístico Statview.

[0057] Todos os controles foram fortemente atacados por *Ips* e a maior parte tinha dois ou mais nichos de ovos de cerambicida a 3 m

(Tabela 4). Em contraste, as árvores tratadas com benzoato de emamectina tinham significativamente menos ataques por *lps* na mesma altura. Dos poucos ataques por *lps* que foram observados nestas árvores, quase todos pareciam ser baseados sem sucesso no fato de que os tubos de resina nos orifícios de entrada estavam secos e quebradiços. Nenhuma das árvores tratadas com benzoato de emamectina tinha coroas desbotadas (agulhas amareladas) (Tabela 6); enquanto que duas árvores de controle exibiam coroas desbotadas.

[0058] O estudo foi descontinuado após 66 dias quando nenhuma árvore adicional desbotou em 20 dias (Tabela 5). No final, 5 de 6 (83%) das árvores de controle morreram devido ao ataque de besouros da casca. Em contraste, todas as árvores tratadas com benzoato de emamectina sobreviveram. A avaliação de ramos cortados mostrou que todas as árvores tinham sido atacadas, mas os ramos tratados com benzoato de emamectina tinham ataques significativamente menos freqüentes em ambas as alturas de controle (Tabela 6). Todos os ataques que ocorreram eram completamente sem sucesso. Os ramos tratados com benzoato de emamectina tinham galerias de ovos de *lps* significativamente menos freqüentes e mais curtas com ou sem progênie e menos área consumida pelas larvas de cerambicida comparadas a controle (Tabela 7).

[0059] Em ambos os exemplos, o benzoato de emamectina era altamente eficiente na prevenção de ataques bem sucedidos por besouros da casca *lps* e cerambicidas um, três e cinco meses após a injeção. Nos ramos, pelo menos, os *lps* machos que iniciaram os ataques eram imobilizados ou mortos após a penetração na camada do floema e da exposição ao ingrediente ativo. Presume-se que qualquer produção de feromônios por machos à medida que se enterram através da casca foi interrompida prematuramente. Sem estes feromônios, muito poucas, se alguma, fêmeas foram atraídas para o material hos-

pedreiro ou se enterraram na câmara nupcial para cruzar e começar a construção de galerias de ovos. Mesmo quando as fêmeas chegaram em alguns dos troncos da primeira série e começaram a construção de galerias, as galerias eram muito curtas e progênie não se desenvolveu além dos instares larvais iniciais. Assumindo que este cenário também ocorreu nas árvores na posição ereta, a interrupção da produção de feromônios após o contato do macho com a camada de floema também interrompeu a atração de machos adicionais, prevenindo assim o ataque em massa à árvore hospedeira.

[0060] Foi descoberto que a dose de benzoato de emamectina dose (0,2 g ai/2,54 cm (polegada) de diâmetro de árvore) utilizada em 2004 previne o ataque bem sucedido por gravadores *Ips*. Se uma dose inferior tivesse que ser injetada nas árvores na borda principal de infestações ativas por SPB, as árvores injetadas poderiam servir como árvores de captura, isto é, permitir o ataque em massa bem sucedido, a construção de galerias e a postura de ovos pelo SPB adulto, mas as larvas não se desenvolveriam e nenhum adulto da progênie seria produzido. Se o tratamento provasse ser bem sucedido, é concebível que populações locais de SPB diminuiriam e a progressão da infestação cessaria.

TABELA 1: Atração e sucesso de ataque e construção de galerias de besouros gravadores *Ips* em ramos de pinheiros teca cortados um, três e cinco meses após a injeção no tronco com benzoato de emamectina

Período de avaliação	Altura do Ramo	Trt*	N° Médio de <i>Ips</i> pegos/capturados	N° Médio de Câmaras Nupciais Sem Galerias de Ovos		N° Médio de Câmaras Nupciais Com Galerias de Ovos		N° Total Médio de Câmaras Nupciais
				N°	Total	N°	Total	
1 Mês Pós-Injeção (maio)	3m	Emamectina	3,8 a	14,6c	78,5	4,0a	21,5	18,6a
		Controle	6,8a	0,0a	0,0	16,0b	100,0	16,0a
	8m	Emamectina	4,8a	9,0c	69,2	4,0a	30,8	13,0 ab
		Controle	5,0a	0,2a	0,7	27,2b	99,3	27,4c
3 Meses Pós-Injeção (julho)	3 m	Emamectina	1,8a	11,0b	100,0	0,0a	0,0	11,0ab
		Controle	2,4a	0,8a	13,3	5,2c	86,7	6,0a
	8 m	Emamectina	3,4a	8,4c	100,0	0,0a	0,0	8,4b
		Controle	2,8a	0,0a	0,0	3,8b	100,0	3,8a
5 Meses Pós-Injeção (setembro)	3m	Emamectina	1,2a	3,8b	100,0	0,0a	0,0	3,8a
		Controle	1,6a	0,0a	0,0	5,2b	100,0	5,2ab
	8m	Emamectina	0,4a	4,4b	100,0	0,0a	0,0	4,4a
		Controle	2,2b	0,0a	0,0	7,8b	100,0	7,8a

* As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são significativamente diferentes no nível de 5% com base em LDS Protegido de Fisher

TABELA 2: Número e comprimento médios das galerias de ovos construídas por besouros gravadores *Ips* em ramos de pinheiros teca cortados um, três e cinco meses após a injeção no tronco com benzoato de emamectina

Período de avaliação	Altura do Ramo	Trt*	Número de Galerias de Ovos				Comprimento das Galerias de Ovos					
			Sem Progênie		Com Progênie		Galerias Totais	Sem Progênie		Com Progênie		Total Length
			Nº	% Total	Nº	% Total		cm	% Total	Cm	% Total	
1 Mês Pós-Injeção (maio)	3 m	Emamectina Controle	10,0a 29,0b	80,6 44,1	2,4a 36,8c	19,4 55,9	12,4a 65,8b	15,5a 114,8b	50,5 23,8	15,2a 368,4c	49,5 76,2	13,5a 588,2
	8m	Emamectina Controle										
3 Meses Pós-Injeção (julho)	3m	Emamectina Controle	0,0a 2,2ab	12,9	0,0a 14,8b	87,1	0,0a 17,0c	0,0a 14,4b	9,2	0,0a 142,0b	90,8	0,0a 156,4c
	8m	Emamectina Controle	0,0a 1,0ab	7,7	0,0a 12,0b c	92,3	0,0a 13,0c	0,0a 2,4ab	1,5	0,0a 153,6c	98,5	0,0a 156,0c
5 Meses Pós-Injeção (setembro)	3m	Emamectina Controle	0,0a 2,8c	17,7	0,0a 13,0b	82,3	0,0a 15,8c	0,0a 9,8c	6,1	0,0a 150,6b	93,9	0,0a 160,4c
	8m	Emamectina Controle	0,0a 2,4bc	11,9	0,0a 17,8b	88,1	0,0a 20,2c	0,0a 10,8b	4,6	0,0a 223,4b	95,4	0,0a 234,2c

TABELA 3: Alimentação de larvas de cerambicida em ramos de pinheiros teca cortados um, três e cinco meses após a injeção no tronco com benzoato de emamectina

Altura do Ramo	Trt*	Percentual da Área de Floema Consumida pelas Larvas		
		1 Mês Pós-Injeção (maio)	3 Meses Pós-Injeção (julho)	5 Meses Pós-Injeção (setembro)
3m	Emamectina Controle	2,2a 29,9c	0,0a 23,0bc	0,0a 9,3c
8m	Emamectina Controle	0,0a 34,1c	0,0a 24,5b	0,0a 14,2b

* As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são significativamente diferentes no nível de 5% com base em LDS Protegido de Fisher

TABELA 4: Atração e ataques por besouros gravadores *Ips* e cerambicidas ao pinheiro teca na posição ereta após injeção no tronco com inseticidas de emamectina

Tratamento	Nº Médio de <i>Ips</i> Pegos/Capturados	Nº Médio de Ataques/0,3 Secção de Tronco a 3 m após 24 dias	
		<i>Ips</i>	Cerambicida
Emamectina	1,2a	0,5a	0,8a
Controle	6,5b	14,7c	4,3a

* As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são significativamente diferentes no nível de 5% com base em LDS Protegido de Fisher.

TABELA 5: Sinais visíveis de mortalidade em pinheiro teca na posição ereta após injeção no tronco com benzoato de emamectina

Tratamento	Porcentagem de Árvores Com Coroas Desbotadas Após:					
	24 dias	32 dias	39 dias	46 dias	52 dias	66 dias
Emamectina	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a
Controle	33,3ab	66,7b	83,3b	83,3b	83,3b	83,3b

* As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são significativamente diferentes no nível de 5% com base em LDS Protegido de Fisher

TABELA 6: Efeitos de inseticidas de benzoato de emamectina sobre o

sucesso do ataque e a construção de galerias de besouros gravadores *Ips* em ramos de pinheiros teca cortados após a mortalidade da árvore ou o final do teste

Altura do Ramo	Tratamento	Nº Médio de Câmaras Nupciais Sem Gale- rias de Ovos		Nº Médio de Câmaras Nup- ciais Com Gale- rias de Ovos		Nº Total Mé- dio de Câma- ras Nupciais
		Nº	% do Total	Nº	% do Total	
3m	Emamectina Controle	3,0ab	100,0	0,0a	0,0	3,0a
		3,2ab	32,8	6,5b	67,2	9,7bc
8m	Emamectina Controle	1,3ab	100,0	0,0a	0,0	1,3a
		0,8ab	12,2	6,0bc	87,8	6,8b

* As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são signi-
ficativamente diferentes no nível de 5% com base em LDS Protegido
de Fisher.

TABELA 7: Efeitos da emamectina sobre a construção de galerias de besouros gravadores *Ips* e o desenvolvimento larvar de cerambicida em ramos de pinheiros teda cortados após a mortalidade da árvore ou no final do teste.

		Número de Galerias de Ovos				Comprimento das Galerias de Ovos						
Altura do Ramo	Trt*	Sem Progênie		Com Progênie		Número Total	Sem Progênie		Com Progênie		Total Lenght	Área de Ali- mentação de Cerambicida
		N°	% Total	N°	% Total		cm	% Total	Cm	% Total		
3 m	Emamectina	0,0a		0,0a		0,0a	0,0a		0,0a		0,0a	0,0a
	Controle	17,2b	59,5	11,7b	40,5	28,8b	108,3b	48,0	117,2b	52,0	225,5b	3,6b
8m	Emamectina	0,0a		0,0a		0,0a	0,0a		0,0a	69,2	0,0a	0,0a
	Controle	18,5	40,5	27,2b	59,5	45,7b	91,0b	30,8	204,0c		295b	6,2bc

* As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não são significativamente diferentes no nível de 5% com base em LDS Protegido de Fisher.

REFERÊNCIAS:

- M. and J. Ash, "Encyclopedia of Surfactants", Vol. I-III, Chemical Publishing Co., New York, 1980-1981.
- Berisford, C.W., U.E. Brady, R.F. Mizell, L.H. Lashomb, G.E. Fitzpatrick, I.R. Ragenovich and F.L. Hastings. 1980. A technique for field testing insecticides for long-term prevention of bark beetle attack. J. Econ. Entomol. 73: 694-697.
- Billings, R. F. 1980. Direct control. Chapter 10 in The southern pine beetle.: R.C. Thatcher, J.L. Searcy, J.E. Coster, and G.O. Hertel, eds. USDA Tech. Bull. 1631. pp. 179-192.
- Dalusky, M.J., C.W. Berisford and P.B. Bush. 1990. Efficacy of three injected chemical systems for control of the southern pine beetle. Georgia For. Comm. Ga. For. Res. Paper 83. 8 p.
- Grosman, D.M., W.W. Upton, F.A. McCook, and R.F. Billings. 2002. Systemic insecticide injections for control of cone and seed insects in loblolly pine seed orchards – 2 year results. So. J. Appl. For. 26: 146-152.
- "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" MC Publishing Corp., Glen Rock, N.J., 1988.
- Roton, L.M. 1987. Promising treatment for southern pine beetles. American Papermaker. 50: 30-32.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para reduzir o sucesso de ataques por escaravelho e/ou por broca da madeira cerambicida em árvores, caracterizado pelo fato de que compreende o tratamento da árvore com uma composição, que compreende benzoato de emamectina, sendo que a dita composição é aplicada à árvore por injeção a 0,3 m acima do solo.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o sucesso do ataque pelo escaravelho é reduzido.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o sucesso do ataque pelo besouro da broca da madeira cerambicida é reduzido.