

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 478 444**

51 Int. Cl.:

A01N 31/02 (2006.01)

A01N 49/00 (2006.01)

A01N 27/00 (2006.01)

A01P 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2010 E 10824500 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.06.2014 EP 2517561**

54 Título: **Cebo atrayente para capturar el insecto coleóptero perforador del pino *Monochamus galloprovincialis***

30 Prioridad:

21.10.2009 ES 200930883

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.07.2014

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (100.0%)
Plaza Santa Cruz, 5 - Bajo
47002 Valladolid, ES**

72 Inventor/es:

**PAJARES ALONSO, JUAN ALBERTO y
ROBERT HALL, DAVID**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 478 444 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Cebo atrayente para capturar el insecto coleóptero perforador del pino *Monochamus galloprovincialis*

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un método para atraer a trampas donde se capturará y controlará el insecto perforador del pino *Monochamus galloprovincialis*. Dichos insectos transmiten en la actualidad en Europa del nematodo del pino (*Bursaphelenchus xylophilus*), un patógeno causante de la enfermedad del marchitamiento de los pinos.

Antecedentes de la invención

La enfermedad del marchitamiento de los pinos (PWD) representa en estos momentos la más grave y destructiva amenaza que gravita sobre los pinares en nuestro país y en Europa. Esta letal patología está causada por el nematodo de la madera del pino (PWN) *Bursaphelenchus xylophilus*, un organismo originario de Norteamérica considerado de cuarentena en la Unión Europea, que ya ha ocasionado la muerte de millones de árboles en Japón, China, Corea y Taiwán. En 1999 se detectó la introducción de este patógeno por primera vez en Europa, concretamente en Portugal. Hasta recientemente, la enfermedad se ha expandido lentamente, circunscrita en un área demarcada dentro de la península de Marateca (Setúbal). En 2008, la enfermedad se ha detectado en numerosas áreas forestales de Portugal, algunas peligrosamente próximas a la frontera española, y todo el país se ha declarado zona demarcada.

Las prospecciones realizadas en España han encontrado que materiales de madera (paletas, troncos) procedentes de Portugal contenían este nematodo y finalmente se ha declarado un positivo en un árbol situado en la provincia de Cáceres. Por tanto, el riesgo grave de introducción del PWN en nuestro país hace urgente aplicar medidas de control para evitar que el patógeno se establezca y se extienda por nuestras masas forestales. Existe por lo tanto actualmente una gran necesidad y demanda de herramientas que permitan realizar eficazmente este control.

El PWN requiere necesariamente la acción de insectos coleópteros cerambícidos del género *Monochamus* para que pueda transmitirse e infectar a los árboles. En Europa la especie transmisora es *Monochamus galloprovincialis*. Este insecto se reproduce en el tronco de los árboles en descomposición o recién muertos, pero es capaz de infectar árboles sanos cuando los adultos sexualmente inmaduros, justo después de eclosionar se dirigen a alimentarse de los brotes de los árboles sanos, de forma que, si los insectos transportan nematodos, éstos abandonan entonces el insecto y penetran en el árbol, infectándolo, a través de las mordeduras de alimentación.

El control directo del nematodo en el bosque ha resultado hasta ahora inviable, y los esfuerzos para limitar la propagación e incidencia de la enfermedad se centran en tratar de combatir el insecto vector. Un método de gran utilidad para seguir, detectar y combatir las poblaciones del insecto vector es su captura usando trampas con cebos atrayentes. En Asia (Japón, Corea, Taiwan y China) se han utilizados como atrayentes para sus especies de *Monochamus* vectores (*M. alternatus*, *M. saltuarius*) monoterpeno de diferentes pinos. Principalmente se ha usado α -pineno, junto con etanol. Esta mezcla resulta ligeramente atractiva y solamente tiene cierta utilidad en la detección y control de los insectos. En Norteamérica, donde el nematodo es originario pero no resulta virulento para las especies nativas de pinos, se ha descrito que la respuesta atractiva de los *Monochamus* Norteamericanos (*M. scutellatus* y *M. clamator* entre otros) se ve potenciada cuando se emiten α -pineno y etanol junto a otros compuestos que se conocen como componentes de las feromonas de agregación de insectos coleópteros escolítidos perforadores de los pinos: ipsenol principalmente, e ipsdienol. Técnicamente, todos estos compuestos, que son atractivos para una especie pero cuyo origen es ajeno a ella (por ejemplo, el árbol hospedador, presas, competidores, etc.) se denominan genéricamente cairomonas (a diferencia de las feromonas, que son producidas por la propia especie).

En Europa se ha estudiado recientemente la atracción del *M. galloprovincialis* a varias combinaciones de sustancias cairomonales de árboles y de escolítidos, y se ha demostrado que la emisión combinada de α -pineno, ipsenol y 2-metil-3-buten-1-ol supone un buen cebo atractivo para *M. galloprovincialis*, que no se potencia cuando se le añaden otras sustancias cairomonales (Pajares *et al.*, 04; Ibeas *et al.*, 07). Estos resultados han supuesto un importante avance en el tratamiento de esta plaga, al implicar un cebo que aumenta la eficacia en la detección y control de este vector, si bien no resultan suficientes para combatir directamente a los insectos vectores mediante captura masiva, lo cual sería necesario para un tratamiento eficaz de la enfermedad.

Para mejorar la posibilidad de combatir este insecto mediante un potente cebo atractivo se han emprendido estudios para conocer si *M. galloprovincialis* poseía una feromona sexual o de agregación que provocase la atracción entre individuos de ambos sexos, lo cual se ha sugerido recientemente, sin haberse encontrado dicha sustancia (Ibeas *et al.*, 08).

65

Descripción de la invención

La presente invención tiene como objeto identificar la feromona sexual de *M. galloprovincialis* y obtener un cebo altamente atractivo para el control directo de esta especie, y por tanto de la enfermedad que transmite, combinando esta feromona sexual con otras sustancias cairomonales.

Cebo en el sentido de la presente invención no se debe entender como una composición química, sino que las sustancias que lo componen se disponen y utilizan juntas, pero no tienen por qué estar mezcladas entre sí. Tampoco se debe entender como un cebo alimentario, puesto que no contiene elementos alimentarios. La palabra cebo en este campo no debe entenderse necesariamente como algo para comer, sino que, como se usa en el presente documento, como algo que atrae (en español se usa más apropiadamente en estos casos "señuelo").

La presente invención se refiere por lo tanto a un cebo para capturar el insecto *M. galloprovincialis* caracterizado porque comprende la feromona de *M. galloprovincialis* 2-undeciloxi-1-etanol y al menos dos cairomonas atractivas para esta especie.

La feromona 2-undeciloxi-1-etanol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg, preferentemente entre 20 y 500 mg, más preferentemente entre 25 y 300 mg y aún más preferentemente entre 40 y 200 mg.

La feromona de *M. galloprovincialis* 2-undeciloxi-1-etanol es un compuesto volátil, y esta propiedad es lo que la hace especialmente apropiada para el objetivo que se pretende.

Según realizaciones particulares de la invención, el cebo comprende 2-undeciloxi-1-etanol y cairomonas del árbol hospedador del insecto así como de escolítidos. En otros casos el cebo comprende 2-undeciloxi-1-etanol, al menos una cairomona del árbol hospedador y al menos una cairomona procedente de escolítidos.

La cairomona del árbol hospedador puede ser un monoterpeno, tal como α -pineno. Dicha cairomona del árbol hospedador está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 1 g y 400 g, preferentemente entre 10 g y 300 g, más preferentemente entre 20 g y 200 g y aún más preferentemente entre 30 g y 100 g.

Cuando el cebo comprende cairomonas del árbol hospedador y cairomonas de escolítidos, las primeras están presentes en el cebo en una cantidad comprendida entre 1 g y 400 g, y las cairomonas de escolítidos están presentes cada una en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 20 g, preferentemente la cantidad de cairomonas del árbol presentes en el cebo está comprendida entre 10 g y 300 g y la cantidad de cada cairomona de escolítidos presente en el cebo está comprendida entre 15 mg y 15 g, más preferentemente la cantidad de cairomonas del árbol presentes en el cebo está comprendida entre 30 g y 100 g y la cantidad de cada cairomona de escolítidos presente en el cebo está comprendida entre 20 mg y 10 g.

Según realizaciones particulares adicionales, el cebo comprende 2-undeciloxi-1-etanol y cairomonas procedentes exclusivamente de escolítidos, preferentemente dos cairomonas de escolítidos.

Las cairomonas de escolítidos están preferentemente seleccionadas entre ipsenol, 2-metil-3-butanol e ipsdienol.

Una realización especialmente preferida es la que comprende 2-undeciloxi-1-etanol, α -pineno, ipsenol y 2-metil-3-butanol.

Una realización adicional especialmente preferida es la que comprende 2-undeciloxi-1-etanol, ipsenol y 2-metil-3-butanol.

El ipsenol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 3000 mg, preferentemente entre 15 mg y 2000 mg, más preferentemente entre 20 y 1000 mg, y aún más preferentemente entre 20 y 700 mg.

El ipsdienol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 3000 mg, preferentemente entre 15 mg y 2000 mg, más preferentemente entre 20 y 1000 mg, y aún más preferentemente entre 20 y 700 mg.

El 2-metil-3-butanol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 100 mg y 20000 mg, preferentemente entre 200 mg y 15000 mg, más preferentemente entre 500 y 10000 mg, y aún más preferentemente entre 1000 y 5000 mg.

Una realización especialmente preferida es la de un señuelo que comprende:

- 2-undeciloxi-1-etanol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg
- ipsenol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg y
- 2-metil-3-butanol en una cantidad comprendida entre 100 mg y 5000 mg.

Una realización adicional especialmente preferida es la de un señuelo que comprende:

- 2-undeciloxi-1-etanol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg
- α -pineno en una cantidad comprendida entre 1 g y 300 g,
- 5 - ipsenol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg, y
- 2-metil-3-butanol en una cantidad comprendida entre 100 mg y 5000 mg.

Las sustancias que componen el cebo de la invención se pueden emitir desde un dosificador único o desde más de un dosificador, pero como realización preferente se emiten cada una desde dosificadores independientes. Por lo tanto, no se han mezclado entre ellas sino que la mezcla se produce en el aire al emitirse unas junto a otras. Según realizaciones particulares, alguna de ellas pueden emitirse juntas, como el ipsenol y el metil-butanol. Según otras realizaciones el cebo consta de dos o tres dosificadores (como un kit) que se instalan juntos en la trampa, lo cual es bastante habitual en el campo de los atrayentes. Esto se debe a las diferentes velocidades de difusión de cada sustancia, que obliga a utilizar diferentes dosificadores para obtener tasas adecuadas de suministro.

No hay orden de colocación en la trampa, se cuelgan unas al lado de las otras; el tipo de trampa es irrelevante, siempre que estén dentro de las apropiadas para la captura de este insecto.

La presente invención se refiere también a una trampa caracterizada porque comprende el cebo definido anteriormente en esta memoria descriptiva.

La presente invención se refiere también al uso, y más particularmente al uso combinado, de la feromona de *M. galloprovincialis* 2-undeciloxi-1-etanol, con al menos dos cairomonas atractivas para esta especie, en la preparación de un cebo para capturar el insecto *M. galloprovincialis*. El uso combinado significa, de acuerdo con la presente invención, el uso simultáneo de la feromona y las cairomonas en un cebo.

La presente invención proporciona un cebo atractivo altamente eficaz para la captura de insectos coleópteros cerambícidos, perforadores de los pinos, *Monochamus galloprovincialis*.

El ipsenol, 2-metil-3-butanol y α -pineno son cairomonas que se sabe que atraen a esta especie. Sin embargo, la combinación de la feromona con las tres cairomonas provoca un efecto sinérgico que supone una atracción el doble de eficaz que la suma de las atracciones conseguidas por la feromona y las cairomonas por separado. Este nuevo cebo feromonal permite capturar con gran eficacia este insecto relevante, transmisor necesario del peligroso nematodo del pino, un patógeno letal que actualmente amenaza los pinares de España y Europa. La utilización del cebo presentado ampliará las posibilidades de combatir esta enfermedad.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra un análisis GC-FID de volátiles recogidos de *M. galloprovincialis* durante periodos de luz diurna: (a) análisis de brotes de pino recogidos solos (24 h; traza inferior) y después de introducir un macho maduro de *M. galloprovincialis* (traza superior; 48 h); (b) análisis de brotes de pino recogidos solos (24 h; traza inferior) y después de introducir una hembra madura de *M. galloprovincialis* (traza superior; 48 h). Compuesto específico del macho marcado con un *.

La figura 2 muestra un espectro de masas EI de (a) un compuesto específico de los machos de *M. galloprovincialis*, (b) este mismo compuesto después de acetilación y (c) 2-undeciloxi-1-etanol sintético.

La figura 3 muestra la estructura del compuesto específico de los machos de *M. galloprovincialis*.

La figura 4 muestra un análisis GC-EAG con registros EAG de las antenas de la hembra de *M. galloprovincialis*: (a) volátiles de machos maduros; (b) 2-undeciloxi-1-etanol sintético (10 ng inyectados).

La figura 5 muestra el número medio de *M. galloprovincialis* capturados por medio de una trampa (S. España, Murcia, del 3 de julio al 7 de agosto de 2008) en trampas de embudos múltiples cebadas con cairomonas y con el compuesto feromonal de *M. galloprovincialis*. Los compuestos son: aP, α -pineno; Is, Ipsenol; Mb, 2-metil-3-butanol; FeB, feromona en dosis bajas; FeA, feromona en dosis altas. Para cada sexo, las barras seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. Ensayo LSD, $P > 0,05$. ANOVA: Machos: $F = 22,85$, d.f. = 4, $P < 0,0001$, $n = 7$; Hembras: $F = 26,03$, d.f. = 4, $P < 0,0001$, $n = 7$.

La figura 6 muestra el número medio de *M. galloprovincialis* capturados por medio de una trampa (S. España, Murcia, del 7 de agosto al 26 de septiembre de 2008) en trampas de embudos múltiples cebadas con cairomonas y con el compuesto feromonal de *M. galloprovincialis*. Los compuestos son: aP, α -pineno; Id, Ipsdienol; Mb, 2-metil-3-butanol; FeB, feromona en dosis bajas; FeA, feromona en dosis altas. Para cada sexo, las barras seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes. Ensayo LSD, $P > 0,05$. La estadística de ANOVA es: Machos: $F = 10,95$, d.f. = 4, $P < 0,0001$, $n = 7$; Hembras: $F = 22,87$, d.f. = 4, $P < 0,0001$, $n = 7$.

Ejemplo 1

Se ha preparado un cebo de acuerdo con la invención del siguiente modo:

65

Un dosificador de 2-undeciloxi-1-etanol que contiene 50 mg, un dosificador de α -Pino que contiene 200 g, un dosificador de ipsenol que contiene 40 mg y un dosificador de 2-metil-3-butanol que contiene 4000 mg. Los cuatro dosificadores se disponen colgados simultáneamente en la misma trampa.

5 Ejemplo 2

Para la identificación de la feromona sexual de *M. galloprovincialis* se realizó la recogida de volátiles por separado de ramitas de pino solas, 1 a 3 machos sexualmente maduros junto con las ramitas de pino y 1 a 3 hembras maduras con ramitas de pino. La comparación de los cromatogramas de los volátiles obtenidos (Fig 1) reveló la presencia de un compuesto adicional sólo en las aireaciones con machos. El tiempo de retención de este compuesto en el GC (Cromatógrafo de Gases) se indica en la Tabla 1 y el espectro de masas EI en la Figura 2a.

Tabla 1. Datos de retención de GC para el compuesto específico de los machos de *M. galloprovincialis*.

Especie (compuesto)	Índice de Retención Cera	SPB5	(RI) ^a Δ^b
<i>M. galloprovincialis</i>	2126	1617	509
<i>M. galloprovincialis</i> después de acetilación	2152	1778	374
2-undeciloxi-1-etanol	2126	1617	509

^a Índices de retención relativos a los tiempos de retención de hidrocarburos de cadena lineal.
^b Diferencia entre RI en la columna polar y RI en la columna no polar.

La comparación de las bibliotecas indicó inicialmente un ajuste del 38 % para hexiloxietan-1-ol. El espectro de masas del compuesto de los machos de *M. galloprovincialis* (Fig. 2a) mostró un ión inusual en m/z 63 correspondiente al etanodiol protonado ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}_2^+$). El ión en m/z 154 podría deberse a $(\text{C}_9\text{H}_{19}\text{-CH=CH}_2)^+$ formado por la eliminación de un grupo éter de la estructura $\text{C}_{11}\text{H}_{23}$. Una reordenación tipo McLafferty de este resto daría como resultado $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{CH=CH}_2^+$ en m/z 126. El ión en m/z 185 correspondería entonces a una pérdida de $-\text{CH}_2\text{-OH}$ de un peso molecular de 216 por partición α - β al éter. Por tanto, 2-undeciloxietan-1-ol (Fig. 3) fue considerada una estructura posible para el compuesto de los machos. Se sintetizó a partir de 1-bromoundecano y etanodiol y se comprobó que tenía idénticos tiempos de retención GC (Tabla 1) y espectro de masas (Fig. 2c) a los de los compuestos de los machos maduros de *M. galloprovincialis*. Las cantidades de dicho compuesto obtenidas de los dos machos, recogidas durante el periodo de luz diurna fueron 0,4 $\mu\text{g/hora/macho}$ y 1,3 $\mu\text{g/hora/macho}$.

Se realizaron análisis electroanteno-gráficos-cromatográficos (GC-EAG) para estudiar su actividad biológica y confirmar la identificación del compuesto de los machos. En los análisis GC-EAG de las colecciones de volátiles de machos y hembras de *M. galloprovincialis*, se registró una respuesta EAG consistente en las antenas de ambos, hembras (Fig. 4a) y machos al compuesto específico de los machos. El compuesto sintético 2-undeciloxi-1-etanol también produjo una respuesta EAG en la antena de machos y hembras (Fig. 4be). La respuesta de las antenas de los machos pareció ser ligeramente inferior a la de las hembras. Las respuestas absolutas de la antena por encima del control (diana) a los 14 ng del compuesto específico natural fueron $0,83 \pm \text{E.T. } 0,32 \text{ mV}$ ($N = 3$) y $1,85 \pm \text{E.T. } 0,15 \text{ mV}$ ($N = 3$) en machos y hembras respectivamente, y las respuestas a 10 ng del compuesto sintético fueron $0,66 \pm \text{E.T. } 0,09 \text{ mV}$ ($N = 5$) y $1,51 \pm \text{E.T. } 0,15 \text{ mV}$ ($N = 9$) respectivamente. Estas diferencias con la diana fueron significativas en un ensayo de t para los 14 ng del compuesto natural $P = 0,001$ y para los 10 ng del compuesto sintético $P = 0,023$.

Para conocer si *M. galloprovincialis* era atraído al compuesto feromonal identificado en el campo y demostrar así su función como feromona de la especie, y comparar además esta atracción con la atracción a combinaciones de caïromonas conocidas, se realizaron dos experimentos de campo. El primer experimento duró 5 semanas (del 3 de julio al 7 de agosto) y el segundo duró 7 semanas (del 7 de agosto al 26 de septiembre) y se realizaron en un bosque de *Pinus halepensis* en Sierra Espuña (Murcia). En ambos se utilizó un diseño de bloques completados al azar con siete repeticiones (bloques). Los tratamientos, que estuvieron constituidos por combinaciones de las distintas sustancias atrayentes, se dispusieron en trampas de embudos múltiples. Cada una de las sustancias ensayadas se emitió desde dosificadores independientes. El 2-undeciloxi-1-etanol se emitió desde dos tipos de dosificadores, un vial y un sobrecito, de polietileno que contenían 50 mg cada uno. El α -Pino se emitió desde dosificadores de tubo de polietileno que contenían 200 g cada uno. El ipsenol, el ipsdienol y el metil-butanol se emitieron desde dosificadores comerciales disponibles de la compañía Pherotech (Canadá) que contenían respectivamente cada uno 40 mg, 40 mg y 4000 mg. Las velocidades de emisión de todos estos dosificadores en condiciones controladas de laboratorio son las que se indican en la Tabla 2. Las combinaciones ensayadas como señuelos en el experimento 1 fueron las siguientes:

- 1) la combinación caïromonal triple de ipsenol+metil-butanol+ α -pino,
- 2) baja emisión de 2-undeciloxi-1-etanol
- 3) alta emisión de 2-undeciloxi-1-etanol,
- 4) la combinación caïromonal triple + baja emisión de 2-undeciloxi-1-etanol y
- 5) la combinación caïromonal triple + alta emisión de 2-undeciloxi-1-etanol del ejemplo 1.

Los dosificadores independientes que se describen en el ejemplo 1 son los utilizados en el experimento, en diferentes combinaciones.

En el experimento 2 las combinaciones ensayadas fueron:

- 5
- 1) la combinación cairomonal triple de ipsdienol+metil-butanol+ α -pineno,
 - 2) baja emisión de 2-undeciloxi-1-etanol
 - 3) alta emisión de 2-undeciloxi-1-etanol
 - 4) la combinación cairomonal doble de bajas emisiones de ipsdienol+metil-butanol + 2-undeciloxi-1-etanol y
 - 10 5) la combinación cairomonal doble de altas emisiones de ipsdienol+metil-butanol + 2-undeciloxi-1-etanol.

Dentro de cada bloque, las trampas estuvieron separadas al menos 150 m y la menor distancia entre bloques fue de 500 m. Los recipientes colectores de las trampas se equiparon con un comprimido insecticida de DDVP para evitar que los insectos capturados escaparan. Todas las trampas se revisaron periódicamente cada 10 días y los insectos capturados se conservaron para su posterior identificación y recuento. Se estudió la respuesta de cada sexo de *M. galloprovincialis* frente a cada una de las combinaciones atractivas ensayadas. Los datos para ambos sexos se transformaron previamente con la función raíz cuadrada para cumplir las condiciones de normalidad y homocedasticidad y fueron sometidos a un análisis de la varianza ANOVA (GLM) para un diseño de bloques aleatorios con el programa informático SAS. Las medias fueron comparadas mediante ensayo LSD de Fisher con un nivel de significación $\alpha=0,05$.

Tabla 2: Dosis de emisión de los compuestos utilizados en los dos experimentos de atracción de *M. galloprovincialis* en campo, estimados en laboratorio a ¹: 25 °C, o a ²: 27 °C.

Compuesto	Relación enantiomérica (+:-)	Velocidad de liberación (mg/24h)
α -Pineno	5-10:90-95	2859 ¹
Ipsenol	50:50	0,4 ¹
Ipsdienol	50:50	0,2 ¹
2-metil-but-3-en-1-ol	---	11 ¹
2-undeciloxi-1-etanol (baja)	---	0,16 ²
2-undeciloxi-1-etanol (alta)	---	0,76 ²

25 Se obtuvieron los resultados de liberación indicados de 0,76 mg por día, por ejemplo, en laboratorio a 27 °C de temperatura y una velocidad de viento de 8 km/hora.

Los resultados del experimento 1, además de comprobar de nuevo el poder atractivo de la mezcla cairomonal de ipsenol, 2-metil-3-butanol y α -pineno descrita por Ibeas *et al.* (07), mostraron que las hembras, principalmente, y los machos de *M. galloprovincialis* fueron atraídos por 2-undeciloxi-1-etanol sintético, confirmando su papel como feromona en esta especie (Fig. 5). Los dosificadores de alta emisión capturaron tres veces más hembras que los de baja difusión. Comparando con el señuelo cairomonal convencional, la feromona resultó menos atractiva a las dosis ensayadas.

35 Un resultado altamente significativo fue que se encontró un muy alto efecto sinérgico cuando ambos tipos de compuestos, la feromona y las cairomonas, se emitieron conjuntamente. El número de hembras atraídas por el señuelo feromonal-cairomonal fue más de un 80 % superior a la suma de las capturas de cada cebo, feromona y cairomonas, por separado, y en el caso de los machos, el efecto sinérgico fue un 80-90 % mayor. Aunque el número medio de capturas fue mayor con la combinación feromona (alta) + cairomona (73,6 insectos/trampa) que con la combinación feromona (baja) + cairomona (64,8 insectos/trampa), la diferencia entre ambas no fue significativa.

Los resultados del segundo experimento confirmaron los obtenidos en el primer experimento. La mezcla cairomonal triple, con el ipsenol sustituido por el ipsdienol fue atractiva, aunque obtuvo menores capturas (11,4 insectos/trampa) que las logradas en el experimento primero por la primera mezcla triple. La baja emisión de feromona así como la alta emisión resultaron atractivas tanto a machos como a hembras de *M. galloprovincialis*, a tasas de emisión altas (13 insectos/trampa), significativamente más en las hembras que con la mezcla cairomonal. Nuevamente, la combinación de la feromona con las cairomonas, en este caso con solamente dos compuestos de escolítidos, ipsdienol + metil-butanol, obtuvo un potente efecto sinérgico, logrando capturas de 31 insectos/trampa para la combinación con emisión baja de la feromona y 57,8 insectos/trampa, significativamente más, usando la combinación con la alta emisión de feromona. Las capturas obtenidas con este último señuelo no fueron, sin embargo, tan altas como las obtenidas durante un periodo de tiempo más corto por la combinación de la alta emisión de feromona + ipsenol, 2-metil-3-butanol y α -pineno, ensayada en el experimento 1 (73,6 insectos/trampa), lo que indica que esta combinación podría ser superior, incluso aunque los dos experimentos se realizaron en periodos distintos por lo que ambas combinaciones no se pueden comparar directamente.

55 Por lo tanto, 2-undeciloxi-1-etanol se produce por los machos sexualmente maduros de *M. galloprovincialis*, desencadenando respuestas electroantenográficas en las antenas de ambos sexos y es atractivo en campo para

machos y hembras de esta especie. Esto demuestra su papel como feromona agregante de *M. galloprovincialis*. 2-undeciloxietan-1-ol es el primer caso en la subfamilia Lamiinae (Cerambycidae) de un compuesto feromonal específico de sexo con actividad de comportamiento significativa, que puede utilizarse para atraer y capturar insectos en el campo. Pero 2-undeciloxi-1-etanol no sólo es una feromona atractiva, sino que también actúa enormemente en sinergia en la atracción de esta especie a la mezcla de kairomonas conocidas, constituyendo ambos un señuelo combinado de gran utilidad, que captura tanto machos como hembras, lo que es de la máxima importancia. Este altísimo poder atractivo llegó a obtener unas capturas de 2 insectos por trampa y día, en una población no epidémica de los cerambícidos. Este resultado es bastante relevante para combatir esta plaga y la enfermedad que transmite. Un señuelo formado al menos por la combinación de 2-undeciloxi-1-etanol, ipsenol, y 2-metil-3-butanol podría utilizarse con éxito para un tratamiento operativo de la enfermedad del marchitamiento de los pinos, a través del seguimiento y captura masiva del insecto transmisor en trampas cebadas con el cebo atrayente de la invención.

Referencias

- 15 IBEAS, F., GALLEG0, D., DIEZ, J. J., y PAJARES, J. A. 2007. An operative kairomonal lure for managing pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Appl. Entomol.* 131:13-20.
- PAJARES, J. A., IBEAS, F., DIEZ, J. J., y GALLEG0, D. 2004. Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. *J. Appl. Entomol.* 128:633-638
- 20 IBEAS, F., DIEZ, J. J., y PAJARES, J. A. 2008. Olfactory sex attraction and mating behaviour in the pine sawyer *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Insect Behav.* 21:101-110

REIVINDICACIONES

1. Un cebo atrayente para capturar el insecto coleóptero perforador del pino, *Monochamus galloprovincialis* **caracterizado porque** comprende la feromona de *M. galloprovincialis* 2-undeciloxi-1-etanol y al menos dos cairomonas que atraen a dicha especie.
2. Un cebo según la reivindicación 1, **caracterizado porque** 2-undeciloxi-1-etanol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg.
3. Un cebo según la reivindicación 1, **caracterizado porque** dichas cairomonas proceden del árbol hospedador del insecto o de escolítidos.
4. Un cebo según la reivindicación 3, **caracterizado porque** comprende al menos una cairomona procedente del árbol hospedador y al menos una cairomona procedente de escolítidos.
5. Un cebo según una de las reivindicaciones 3 o 4, **caracterizado porque** las cairomonas del árbol están presentes en el cebo en una cantidad comprendida entre 1 g y 400 g, y las cairomonas de escolítidos están presentes cada una en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 20 g.
6. Un cebo según una de las reivindicaciones 3 a 5, **caracterizado porque** dicha cairomona del árbol es un monoterpeno.
7. Un cebo según la reivindicación 6, **caracterizado porque** dicho monoterpeno es α -pineno.
8. Un cebo según la reivindicación 7, **caracterizado porque** el α -pineno está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 1 g y 400 g.
9. Un cebo según la reivindicación 1 o 3, **caracterizado porque** comprende dos cairomonas procedentes de escolítidos.
10. Un cebo según la reivindicación 3 o 9, **caracterizado porque** dichas cairomonas de escolítidos están seleccionadas de ipsenol, 2-metil-3-butanol e ipsdienol.
11. Un cebo según la reivindicación 1, **caracterizado porque** comprende 2-undeciloxi-1-etanol, alfa-pineno, ipsenol y 2-metil-3-butanol.
12. Un cebo según la reivindicación 1, **caracterizado porque** comprende 2-undeciloxi-1-etanol, ipsenol y 2-metil-3-butanol.
13. Un cebo según una de las reivindicaciones 10 a 12, **caracterizado porque** el ipsenol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 3000 mg.
14. Un cebo según la reivindicación 10, **caracterizado porque** el ipsdienol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 10 mg y 3000 mg.
15. Un cebo según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes 10 a 12, **caracterizado porque** el 2-metil-3-butanol está presente en el cebo en una cantidad comprendida entre 100 mg y 20000 mg.
16. Un cebo según la reivindicación 12, **caracterizado porque** comprende:
- 2-undeciloxi-1-etanol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg;
 - ipsenol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 3000 mg; y
 - 2-metil-3-butanol en una cantidad comprendida entre 100 mg y 20000 mg.
17. Un cebo según la reivindicación 11, **caracterizado porque** comprende:
- 2-undeciloxi-1-etanol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 1000 mg;
 - α -pineno en una cantidad comprendida entre 1 g y 400 g;
 - ipsenol en una cantidad comprendida entre 10 mg y 3000 mg;
 - 2-metil-3-butanol en una cantidad comprendida entre 100 mg y 20000 mg.
18. Un cebo según la reivindicación 1 **caracterizado porque** la feromona y cada una de las cairomonas están presentes en el cebo en el mismo dosificador o en dosificadores independientes.
19. Una trampa **caracterizada porque** comprende el cebo definido en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes 1 a 18.

20. Un uso combinado de la feromona de *M. galloprovincialis* 2-undeciloxi-1-etanol con al menos dos cairomonas que atraen a dicha especie para preparar un cebo para capturar el insecto *M. galloprovincialis*.

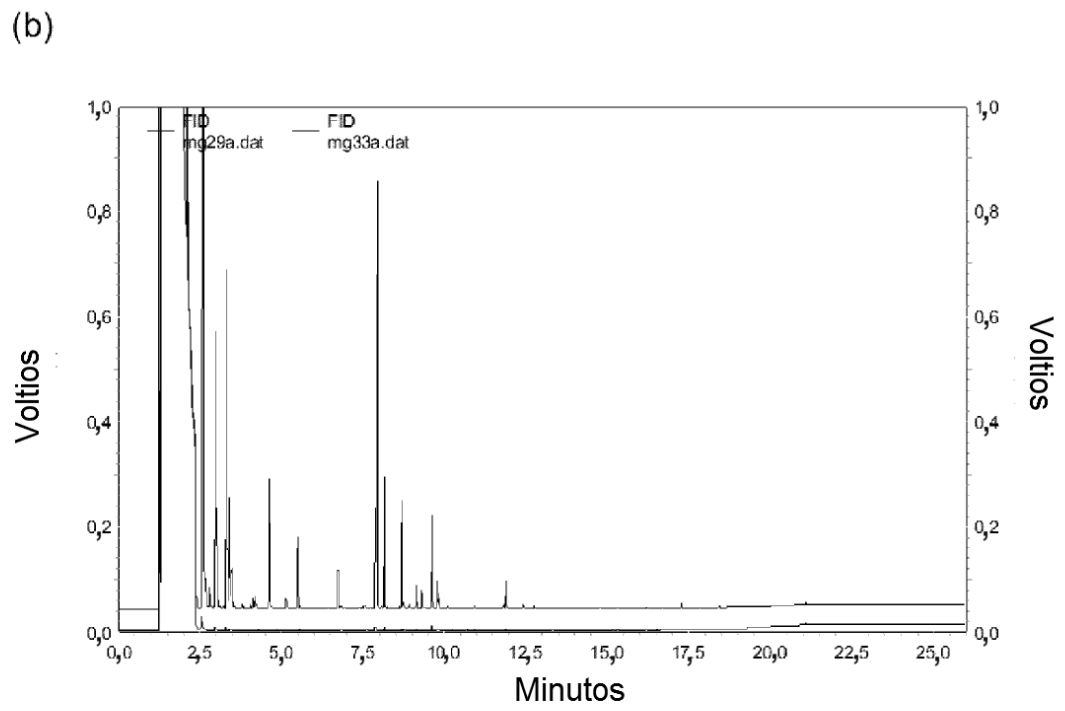
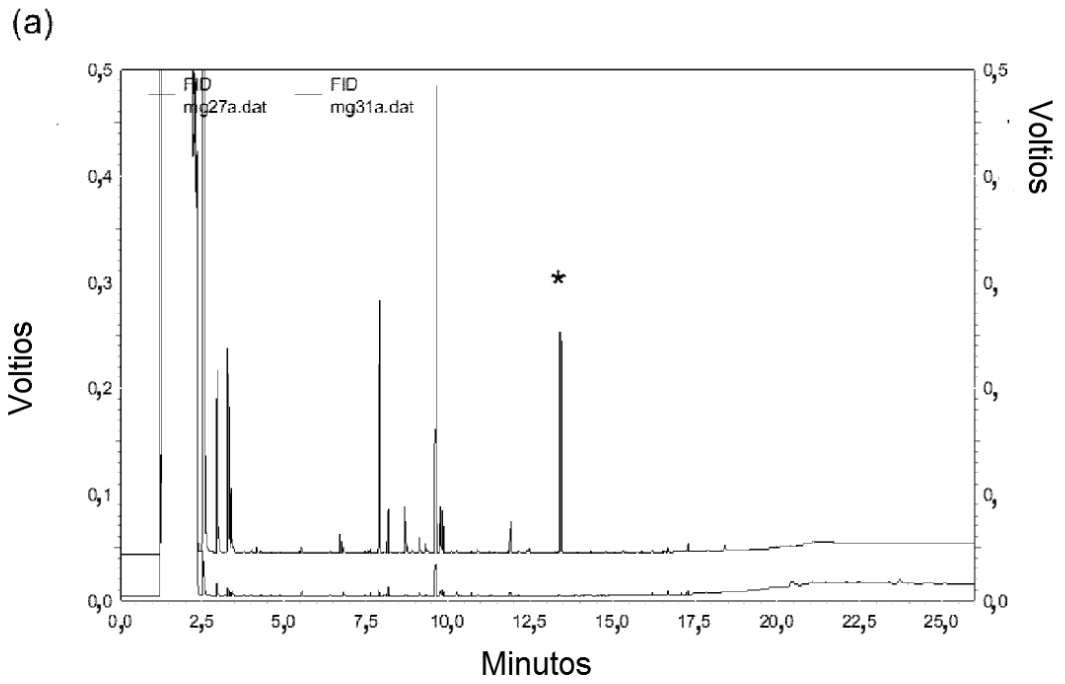
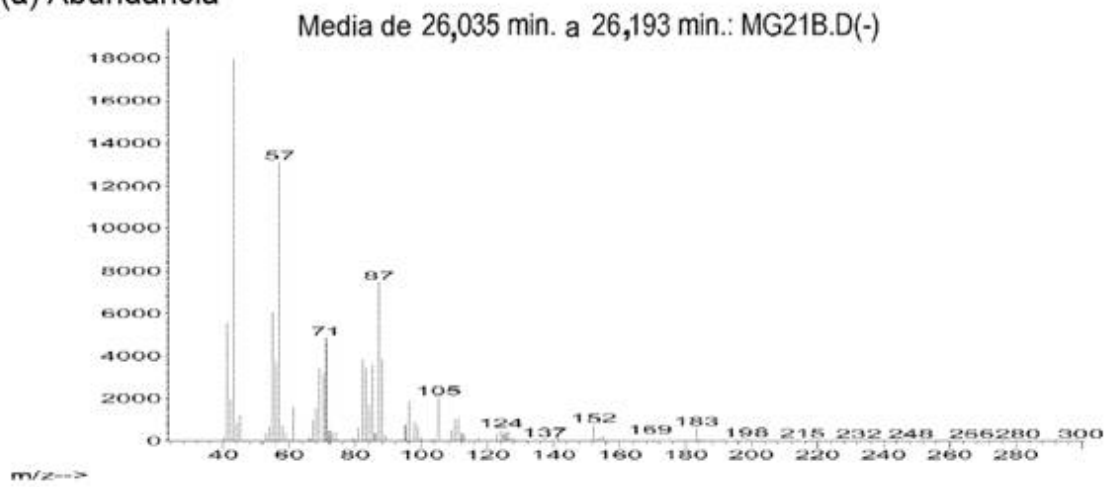
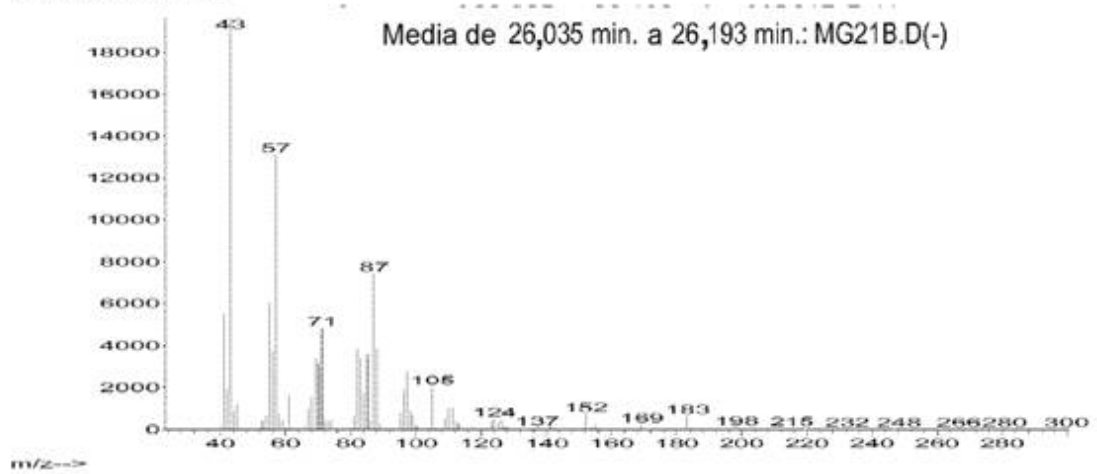


Figura 1

(a) Abundancia



(b) Abundancia



(c) Abundancia

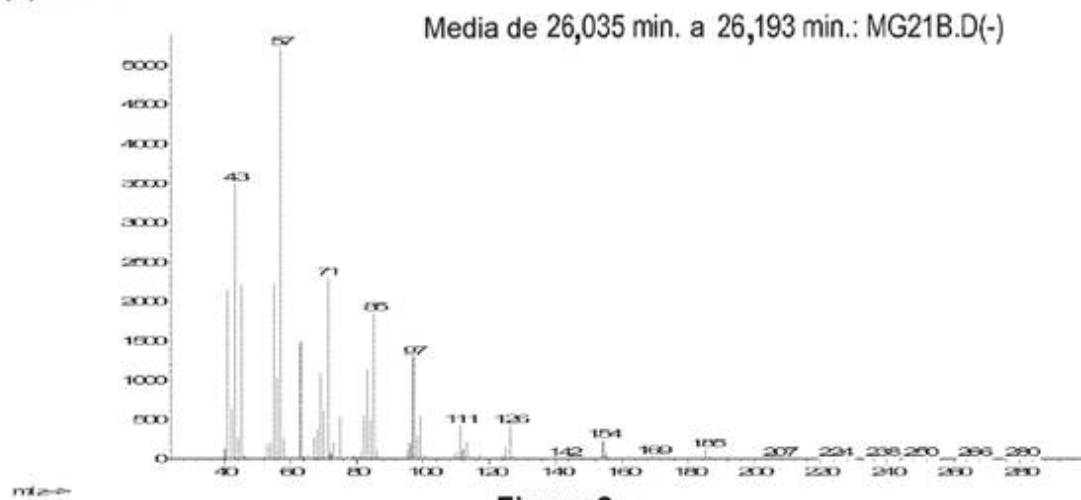


Figura 2

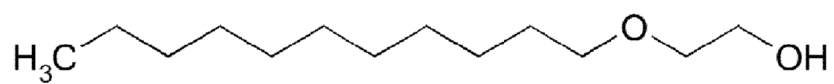
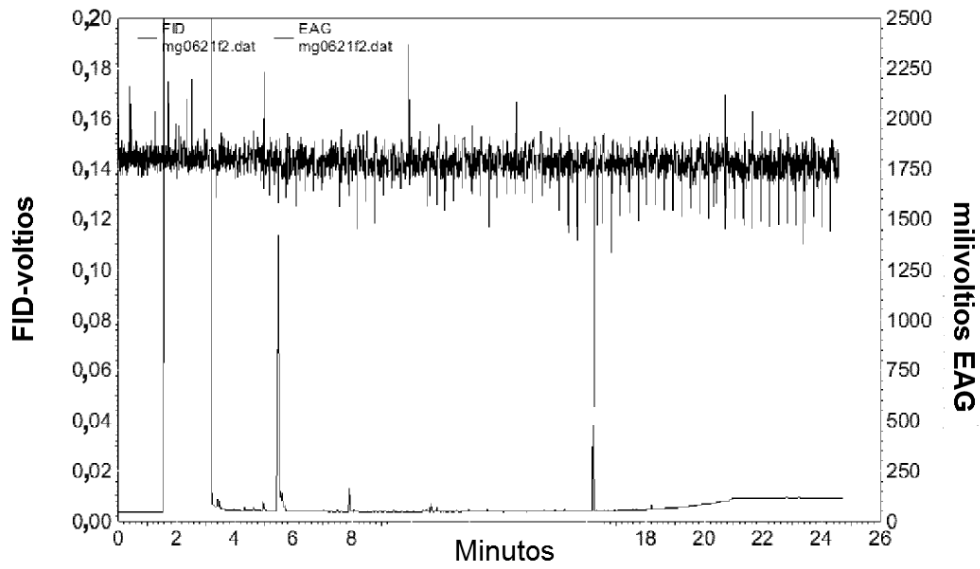


Figura 3

(a)



(b)

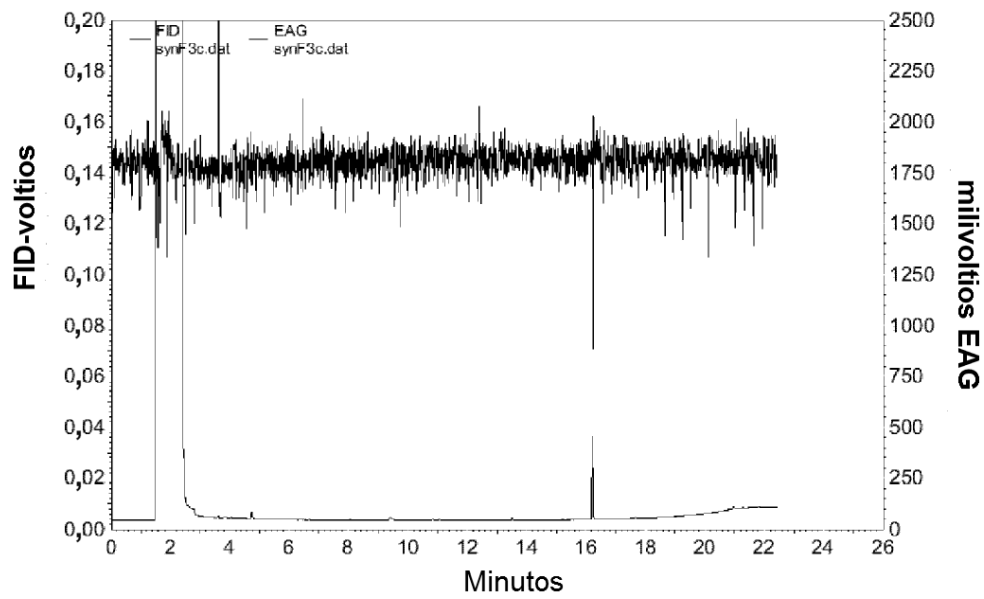


Figura 4

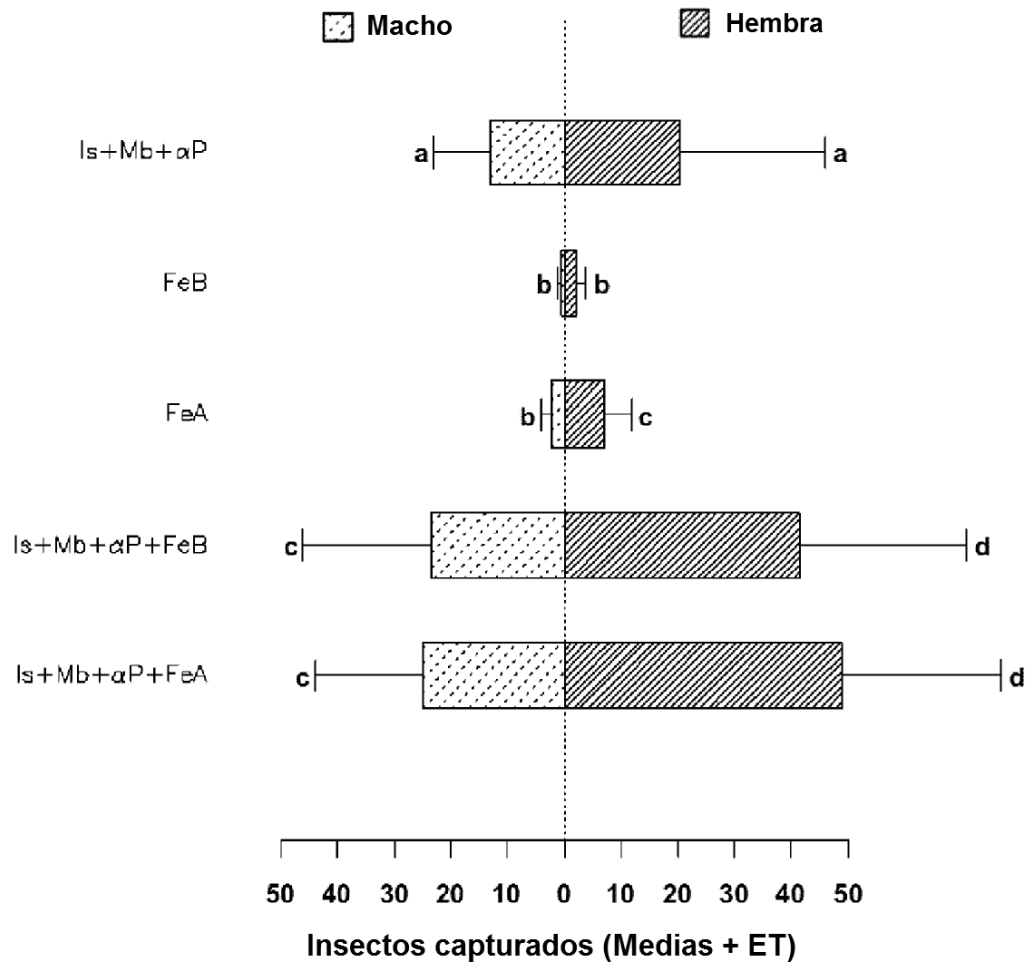
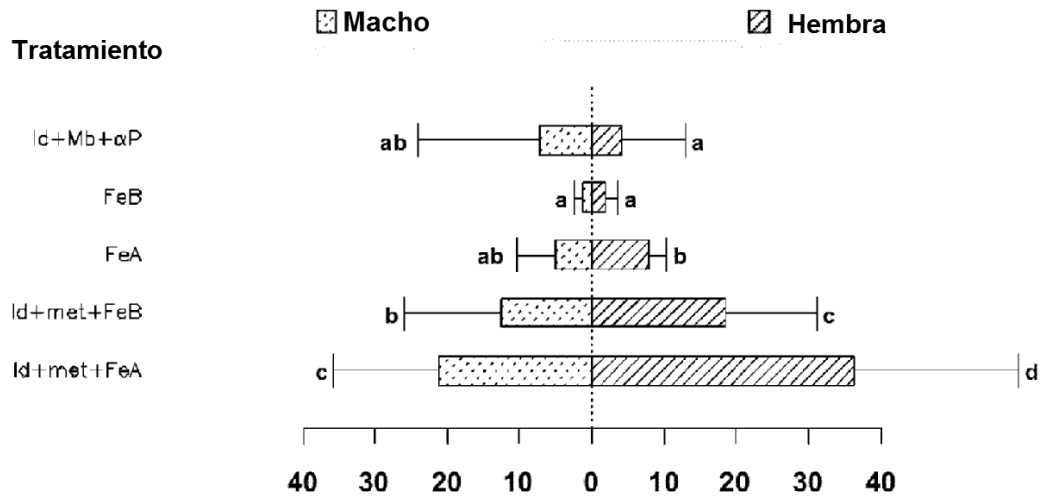


Figura 5



Insectos capturados (Medias + ET)

