



#### OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

**ESPAÑA** 



①Número de publicación: 2 638 713

(21) Número de solicitud: 201630512

(51) Int. Cl.:

A01N 43/90 (2006.01)

(12)

#### PATENTE DE INVENCIÓN

B1

(22) Fecha de presentación:

22.04.2016

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

23.10.2017

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

15.06.2018

Fecha de concesión:

15.06.2018

(45) Fecha de publicación de la concesión:

22.06.2018

(73) Titular/es:

ECOLOGIA Y PROTECCIÓN AGRÍCOLA, S.L. (100.0%) GREGAL, 11 Polg.Indal. "Ciutat de Carlet" Apartado 50 46240 CARLET (Valencia) ES

(72) Inventor/es:

NAVARRO FUERTES, Ismael; VACAS GONZÁLEZ, Sandra; **NAVARRO LLOPIS, Vicente;** LOPEZ MORENO, Rosario; PRIMO MILLO, Jaime; HERNANDEZ SUAREZ, Estrella y SERIS BARRALLO, Elena

(74) Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier** 

(54) Título: COMPOSICIÓN ATRAYENTE DE LA ESPECIE DIOCALANDRA FRUMENTI, MÉTODOS PARA EL SEGUIMIENTO, Y/O CONTROL DE PLAGA, Y/O LA PREVENCIÓN DE DAÑOS EN **PALMERAS** 

(57) Resumen:

Composición atrayente de la especie Diocalandra frumenti, métodos para el seguimiento, y/o control de la plaga, y/o la prevención de daños en palmeras. La presente invención describe una composición para atraer insectos de la especie Diocalandra frumenti, y que comprende una cantidad eficaz de multistriatin (5etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabiciclo[3.2.1]octano) y que se puede formular sólo o en combinación con otros ingredientes adicionales que se detallan en la presente solicitud; el método para realizar el seguimiento de las poblaciones de insectos de la especie Diocalandra frumenti; el método para controlar las plagas de insectos de la especie Diocalandra frumenti; y el método para prevenir el daño en palmeras producido por esta especie.

## COMPOSICIÓN ATRAYENTE DE LA ESPECIE DIOCALANDRA FRUMENTI, MÉTODOS PARA EL SEGUIMIENTO, Y/O EL CONTROL DE PLAGA, Y/O LA PREVENCIÓN DE DAÑOS EN PALMERAS

#### DESCRIPCION

#### Campo de la técnica

5

15

25

30

35

La presente invención se encuadra en el sector técnico del control de plagas, en particular de la especie *Diocalandra frumenti*.

La presente invención describe una composición que comprende multistriatin, así como su uso como atrayente para la especie *Diocalandra frumenti*, y el método de seguimiento y/o el método de control de la población de *Diocalandra frumenti*, así como el método de prevención de daños en las palmeras por plagas de dicha especie.

#### Estado de la técnica anterior a la invención

20 El picudo de las cuatro manchas, *Diocalandra frumenti* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae), también conocido como "picudín", constituye una plaga letal que ataca a las palmeras y representa una importante amenaza para países palmicultores.

Diocalandra frumenti es nativa de las zonas costeras de Asia en el Océano Índico (Bangladesh, India, Indonesia, Japón, Malasia, Myanmar, Filipinas, Singapur, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia, etc.). También esta descrita en Madagascar, Seychelles, Somalia, Tanzania, Australia, Guam, Palau, Papua Nueva Guinea, Samoa, las Islas Salomón, Ecuador y España (Islas Canarias) (European Plant Protection Organisation (EPPO). Diocalandra frumenti (Coleoptera, Curculionidae). Four-spotted coconut weevil. 2008; Centre for Agricultural Bioscience International (CABI). Distribution maps of pests, Diocalandra frumenti, MAP no. 249. 2009).

Actualmente *Diocalandra frumenti* es plaga de al menos 17 géneros de Arecaceae. La mayoría de estas especies de palmas económicamente importantes se cultivan con fines alimentarios u ornamentales, como *Cocos nucifera* L., *Phoenix dactylifera* L., *Phoenix canariensis* Hort. ex Chabaud o *Elaeis guineensis* Jacq. (Kalshoven, LE. Pests of crops in Indonesia. 2nd Edit., Van Hoeve Jakarta 1981. 701 pp.; Salomone

Suárez, F; Carnero Hernández, A; Marrero Ferrer, M; González Hernández, A. Presence in the palearctic zone of Diocalandra frumenti Fabricius, (Coleoptera, Curculionidae). Boletín de la asociación Espaňola de Entomología. 2000, 24, 263-264). También se ha detectado en *Archontophoenix alexandrea*, *Chrysalidocarpus lutescens*, *Dypsis lucebencis*, *Howea belmoreana*, *Mascarena verchaffeltii*, *Phoenix loureirii*, *Phoenix roebelenii* y *Roystonea regia* (AgriFood and Veterinary Authority (AVA) of Singapore. p.40 of Annual Report 2005/06. The coconut palm weevil, Diocalandra frumenti Fabricius was found in a first report on Metroxylon sagu in Singapore. 2006; Nursery and Garden Industry Australia (NGIA). The nursery Papers, Issue no 1998/02. Getting control of weevil borers and leaf beetles in palms.1998; Salomone, F; Cabellero Ruano, M. New pest for Phoenix canariensis Hort. Ex. Chab. in its original habitat, the Canary Islands. Situation report. 2 pp. 2008).

5

10

15

20

35

Diocalandra frumenti según el NCBI (National Center for Biotechnology Information) pertenece al orden Coleoptera, familia Curculionidae, subfamilia Dryophthorinae y género Diocalandra. Es un escarabajo de pequeñas dimensiones (6-8 mm de largo) con cuatro grandes manchas rojizas en los élitros (Hill, DS. Diocalandra frumenti. In: Agricultural insect pests of the tropics and their control. 1983. 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 478-479). Su biología todavía es poco conocida pero en las condiciones del archipiélago canario las generaciones se suceden ininterrumpidamente a lo largo de todo el año y la duración del ciclo completo (huevo-adulto) es de 2,5 a 3 meses (Gobierno de Canarias. Diocalandra frumenti. 2009. Boletín 4: 1-2).

Esta especie de plaga ataca taladrando a las palmeras. La hembra pone los huevos en varios puntos de la planta: inflorescencias, base de pecíolos o pedúnculos, en las grietas cerca de raíces adventicias y en la base del tallo. Cuando eclosiona el huevo, la larva (responsable del daño) se desarrolla dentro de la palmera, va haciendo galerías en las raíces, pecíolos, inflorescencias y frutos de la palmera, alimentándose del tejido tierno por donde circula la savia que va a los foliolos de la palmera, donde se desarrolla la fotosíntesis.

Los daños comienzan con la seca de las hojas inferiores y la formación de pequeñas galerías en el raquis que pueden afectar a los haces vasculares, provocando el deterioro de la palmera (amarilleamiento, marchitamiento, desprendimiento de frutos, etc.). Es más, al realizar labores de poda se aprecia un cribado o punteado de la superficie de corte de las hojas y los orificios de las galerías. También, exudaciones

gomosas en las aperturas de las galerías (González Núñez, M; Jiménez Álvarez, A; Salomones, F; Carnero, A; Del Estal, P; Esteban Durán, JR. *Diocalandra frumenti* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae), nueva plaga de palmeras introducida en Gran Canaria. Primeros estudios de su biología y cría en laboratorio. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas. 2002, *28*(3), 347-355). Se ha estimado en centenares el número de individuos que pueden encontrarse en una palmera, mostrando evidencias de una típica conducta de agregación.

5

10

15

30

35

Los daños ocasionados por las larvas son visibles muy tarde, debido al carácter críptico de la especie y, cuando aparecen los síntomas de la infección, la situación es tan grave que en algunos casos la palmera es irrecuperable. En el caso de Phoenix spp. se aprecian zonas necrosadas en la base de las hojas que producen unas deformaciones características, y si la necrosis es importante, las hojas llegan a caer incluso en verde. De hecho, ataques fuertes en un plazo de seis a ocho meses causan que la palmera se seque y muera. De lo anterior se concluye que es necesario establecer un método efectivo para realizar el seguimiento y/o control de esta plaga de la especie *Diocalandra frumenti*. Adicionalmente, se requiere un método para prevenir los daños a las palmeras.

Diocalandra frumenti además, actúa como vector en la propagación de enfermedades fúngicas como Gliocladium vermoesenii, Thielaviopsis paradoxa y Fusarium spp., Aspergillum spp., Cladosporium spp., y Pennicillium spp.que también resultan letales para las palmeras (Salomone, F; Cabellero Ruano, M.New pest for Phoenix canariensis Hort. Ex. Chab. in its original habitat, the Canary Islands. Situation report. 2 pp. 2008).

La palmera canaria (*Phoenix canariensis*), símbolo vegetal del archipiélago canario (Ley 7/1991 de Símbolos de la Naturaleza para las Islas Canarias), considerada por científicos y expertos de todo el mundo como la más bella y sin ninguna duda, como elemento vegetal ornamental, es la que prevalece sobre el resto de especies de palmera que existen, está fuertemente amenazada por *Diocalandra frumenti* por culpa de la importación sin control de otras especies de palmera con fines paisajísticos. Desde que se encontró por primera vez en 1998 en la zona turística de Maspalomas (Gran Canaria) (Salomone Suárez, F.; Carnero Hernández, A.; González Hernández, A., Marrero Ferrer, M. Presencia en la zona palearctica de Diocalandra frumentii Fabricius, (Coleóptera, Curculionidae). Boletín de la Asociación Española de Entomología. 2000, 24(1-2), 263-264), importada con la palmera *Phoenix dactylifera*.

este gorgojo se ha extendido por todo el cinturón urbano costero de la isla de Gran Canaria y también, por las islas de Fuerteventura, Lanzarote y Tenerife de manera mucho más importante, perniciosa y extensa que el picudo rojo *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier). Se calcula que en la isla de Gran Canaria esta plaga es responsable de la muerte de más de 20.000 palmeras de la especie *Phoenix canariensis* y se encuentra a las puertas de ocupar los palmerales naturales.

La forma de actuar frente a la plaga de la especie de *Diocalandra frumenti* es diferente a la de otros curculiónidos como el picudo rojo de las palmeras (*Rhyncophorus ferrugineus*). El picudo rojo vuela y elige la especie y el ejemplar de palmera que va a colonizar. Por el contrario, *Diocalandra frumenti* avanza como un frente que va arrasando con todas las palmeras que se encuentra a su paso. Además al tratarse de una plaga importada coloniza otras palmeras en las que no encuentra enemigos naturales representando por lo tanto una clara amenaza para las palmas.

15

20

25

30

35

10

5

Para intentar evitar la dispersión de la plaga de la especie *Diocalandra frumenti*, la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias publicó la Orden 29 de Octubre de 2007 (BOC num.222 de 6 de noviembre de 2007), en la que se establecen las medidas fitosanitarias para su erradicación y control. Sin embargo, en dicha Orden no se define ningún insecticida para el control químico y, además, no hay ninguna sustancia química autorizada por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). Actualmente, para intentar controlar *Diocalandra frumenti*, se realizan aplicaciones foliares de clorpirifos, imidacloprid y tiametoxam o inyecciones directas al tronco de insecticidas neonicotinoides, sin ser totalmente efectivas.

Como una alternativa a estas formas de evitar la dispersión de la plaga de la especie *Diocalandra frumenti*, se eliminan y destruyen las hojas viejas y muertas para reducir los criaderos, pero evitando la poda en la temporada más cálida para no inducir la emisión de kairomonas de esta especie.

Otro mátodo do control do la place

Otro método de control de la plaga de la especie *Diocalandra frumenti*, se realiza mediante la instalación de trampas cebadas con kairomonas, semioquímicos no específicos para esta especie tales como el uso de trampas de tipo cubo cebadas con trozos de palmera o caña de azúcar y agua. Sin embargo, el material vegetal tiene bajo poder atrayente por sí mismo para estos gorgojos y muy poca duración, ya que la rápida putrefacción de este material provoca una disminución importante de las

capturas, por lo que actualmente no se cuenta con un método de control de la plaga de la especie *Diocalandra frumenti* efectivo y de larga duración.

Por lo tanto, dada la escasez de herramientas para el tratamiento efectivo de esta plaga, sería deseable disponer de métodos eficaces para atraer específicamente y así poder controlar la plaga de la especie *Diocalandra frumenti*.

Para ello, la presente invención proporciona composiciones atrayentes específicas como herramientas esenciales que permiten desarrollar un método eficaz de atracción, captura y control, y preferentemente la eliminación de la plaga de *Diocalandra frumenti* de forma limpia y longeva.

#### **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

#### 15 Breve descripción de la invención

5

10

20

25

La presente invención describe una composición atrayente de insectos de la especie *Diocalandra frumenti*, que comprende, multistriatin (5-etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabiciclo[3.2.1]octano), sólo o en combinación con otros semioquímicos tal como se describe en la presente solicitud. Preferentemente, el multistriatin se encuentra en una cantidad efectiva para atraer insectos de una plaga de la especie *Diocalandra frumenti*. Otro objeto de la presente invención es un método para el seguimiento de la población de insectos de la especie *Diocalandra frumenti*. Otro objeto de la presente invención es un método para controlar la plaga de insectos de la especie *Diocalandra frumenti*. Otro objeto de la presente invención es el método para prevenir el daño en palmeras producido por esta especie.

#### Descripción detallada

La composición atrayente de insectos de la especie de *Diocalandra frumenti* de la presente invención puede comprender el multistriatin como una mezcla de varias formas diastereoméricas de acuerdo con la siguiente fórmula (I):

$$R_1$$
  $R_3$   $R_4$ 

en la que los sustituyentes  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  pueden corresponder a átomos de hidrógeno o grupos metilo. Cuando  $R_1$  y  $R_3$  son hidrógenos y  $R_2$  y  $R_4$  metilos se describe el par estereoisomérico  $\alpha$ . Si  $R_1$  y  $R_3$  son metilos y  $R_2$  y  $R_4$  hidrógenos se describe el par estereoisomérico  $\beta$ . Con  $R_1$  y  $R_4$  hidrógenos y  $R_2$  y  $R_3$  metilos se describe el par estereoisomérico  $\gamma$  y, sí  $R_1$  y  $R_4$  son metilos y  $R_2$  y  $R_3$  son hidrógenos se describe el par estereoisomérico  $\delta$ .

5

10

15

25

30

35

En particular, el multistriatin comprendido en la composición de la invención es una mezcla de cuatro pares de enantiómeros ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ), preferentemente, en una cantidad eficaz para atraer insectos de la especie *Diocalandra frumenti*.

El término "cantidad eficaz", en el contexto de la presente invención, se refiere a la cantidad mínima de multistriatin necesaria para provocar la atracción de individuos de la especie *Diocalandra frumenti* a un área, zona u objeto concreto. En esta solicitud, la cantidad mínima de multistriatin se corresponde con un valor de 0.01 mg. Por supuesto, la cantidad exacta necesaria es variable en función del tipo de área, zona u objeto a tratar, de las condiciones ambientales y del número de días de atracción necesarios.

En la presente solicitud, la cantidad de multistriatin está comprendida preferentemente, en un rango de 0.01 a 1000 mg.

En el contexto de esta invención, el término "objeto" se refiere a un artificio que atrapa a un insecto y lo retiene. En esta solicitud también se hace referencia a este objeto como trampa. Así mismo, en la presente invención se entiende por "área o zona" el espacio donde se aplica la composición objeto de la invención para poder atraer los insectos de *Diocalandra frumenti* a ese punto concreto.

Adicionalmente, la composición atrayente de la presente invención también puede comprender cualquier combinación de isómeros de multistriatin, siempre que comprenda al menos el isómero activo.

El multistriatin ha sido descrito como uno de los tres componentes esenciales de la feromona de agregación del escarabajo de la corteza del olmo, *Scolytus multistriatus* Marsham (Coleóptero:Scolytidae), vector de la grafiosis (Sum, P-E; Weiler, L. Stereoselective synthesis of (-)-a-multistriatin from D-glucose. Can. J. Chem. 1982, 60(3), 327-334). Sin embargo, también se ha confirmado que no todas las poblaciones

de estos escarabajos responden por igual a los diferentes diastereoisómeros que forman parte del atrayente multistriatin. Por ejemplo, se ha encontrado que mientras el estereoisómero (-)- $\alpha$ -multistriatin es biológicamente activo para la población de escarabajos estadounidense (Gerken, B.; Grüne, S.; Vité, J. P.; Mori, K. Response of european populations of Scolytus multistriatus to isomers of multistriatin. Naturwissenschaften. 1978, 65 (2), 110-111), el (-)- $\delta$ -isómero es activo para la población europea (Izquierdo, I.; Rodríguez, M.; Plaza, M. T.; Vallejo, I. Stereoselective synthesis from D-glucose of (-)- $\partial$ -multistriatin (component of the European elm bark beetle, Scolytus multistriatus, aggregation pheromone). Tetrahedron: Asymmetry.1993, 4 (12), 2535–2540). Es más, se ha observado que la adición o el aumento de la proporción de (-)- $\alpha$ -multistriatin en el atrayente sintético provoca repelencia en las poblaciones de escarabajos europeos (Gerken, B.; Grüne, S.; Vité, J. P.; Mori, K. Response of european populations of Scolytus multistriatus to isomers of multistriatin. Naturwissenschaften. 1978, 65 (2), 110-111).

En el desarrollo de la presente invención se han observado evidencias de la existencia de feromona de agregación en *Diocalandra frumenti* mediante estudios llevados a cabo por comparación con una muestra sintética de multistriatin. Hasta entonces no existían estudios sobre las evidencias, detección y/o identificación de una feromona de agregación para *Diocalandra frumenti*. Investigadores del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA), del Centro de Ecología Química Agrícola de la Universidad Politécnica de Valencia (CEQA), y la empresa valenciana Ecología y Protección Agrícola (EPA) han identificado mediante los análisis cromatográficos correspondientes que uno de los enantiómeros de multistriatin es un componente clave que forma parte del complejo feromonal de la especie *Diocalandra frumenti*. Dicho compuesto ha sido aislado como un volátil emitido exclusivamente por los machos de esta especie (Figura 1).

La composición descrita en la presente solicitud permite ejercer una acción de atracción óptima sobre los individuos de la especie *Diocalandra frumenti* lo que permite su uso para seguir y controlar dicha plaga a bajo coste.

En una realización preferente de la presente invención, multistriatin se puede sintetizar como una mezcla de cuatro pares de enantiómeros siguiendo, por ejemplo, el procedimiento descrito por Pearce *et al.* en 1976 (Pearce, GT; Gore, W.E.; Silverstein, R. M. Synthesis and absolute configuration of multistriatin. J. Org. Chem. 1976, 41 (17), 2797–2803). Experimentos realizados en laboratorio y posteriormente en campo

han demostrado que la mezcla diasteroisomérica anterior muestra un gran efecto de atracción para la especie *Diocalandra frumenti*. Este resultado es sorprendente para cualquier experto en la materia, dado el número de formas esteroisoméricas obtenidas en la síntesis realizada. Es más, en la presente invención la propia mezcla de esteroisómeros resulta atrayente, lo cual no es evidente para el experto en la materia, y sí supone una gran ventaja económica tanto desde el punto de vista industrial (síntesis química) como comercial.

En otra realización preferida de esta invención, la composición atrayente puede comprender el semioquímico multistriatin, preferentemente una cantidad efectiva de una mezcla de cuatro pares de enantiómeros ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ), como atrayente de insectos de la especie *Diocalandra frumenti*, en combinación con otros componentes adicionales capaces de modificar las propiedades físicas de la composición atrayente y/o proteger la composición de las condiciones climáticas. Ejemplo de componentes adicionales que pueden incorporarse a la composición atrayente encontramos, entre otros, agentes antioxidantes, protectores de radiación ultravioleta (UV), y una combinación cualquiera de los componentes anteriores, siempre que ninguno de los compuestos adicionales incluidos en la composición atrayente cause repelencia de la especie *Diocalandra frumenti*.

20

25

30

35

5

10

15

La composición atrayente puede incorporar adicionalmente uno o varios agentes antioxidantes para retardar o prevenir la oxidación de la composición atrayente y/o uno o más de sus componentes. Preferentemente, agentes antioxidantes que pueden estar incluidos en la composición se seleccionan entre el ácido ascórbico, ácido eritórbico, ascorbato sódico, ascorbato cálcico, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), dióxido de azufre, eritorbato de sodio, estearato de ascorbilo, galato de propilo, galato de octilo, galato de dodecilo, hidrosulfito de sodio, lecticina, palmitato de ascorbilo, tertbutilhidroquinona (TBHQ) y tocoferoles naturales y/o sintéticos y una combinación cualquiera de los antioxidantes anteriores. Incluso más preferentemente ácido ascórbico, BHT y TBHQ y una combinación cualquiera de los anteriores.

En la composición atrayente el agente antioxidante puede estar comprendido entre una proporción 1:1000 y 1:20 en peso con respecto al contenido en peso de multistriatin. Preferentemente el agente antioxidante se encuentra en una proporción

1:100 en peso con respecto al contenido en peso de multistriatin.

La composición atrayente también puede comprender uno o varios protectores de radiación UV. Estos protectores de la radiación UV tienen la finalidad de proteger y preservar la composición atrayente y/o uno o más de sus componentes de la degradación solar. Protectores de radiación UV pueden ser derivados del PABA, cinamatos, benzofenonas, bencimidazoles, antralinatos, terpénicos, óxidos inorgánicos y una combinación cualquiera de los protectores UV anteriores. Preferentemente se incluyen los siguientes protectores UV como ejemplos no limitantes: ácido 4-aminobenzoico, 4-hidroxibenzofenona, 2-etilhexil salicilato, 2ethylhexil trans-4-metoxicinamato, etilhexil 2-ciano-3,3-difenilacrilato, óxido de titanio y/o óxido de zinc y una combinación cualquiera de los protectores UV anteriores. Más preferentemente la composición atrayente de la presente invención comprende 2etilhexil salicilato, basado en estudios experimentales de envejecimiento acelerado mediante irradiación UV, que demuestran que la composición atrayente tiene más durabilidad si contienen este compuesto en comparación con otros fotoprotectores en un mismo periodo de tiempo.

En la composición atrayente el protector de la radiación UV puede estar comprendido entre una proporción 1:200 y 1:20 en peso con respecto al contenido en peso de multistriatin. Preferentemente el protector de la radiación UV se encuentra en una proporción 1:50 en peso con respecto al contenido en peso de multistriatin.

En otra realización de esta invención, la composición comprende multistriatin y un agente de control de insectos.

Por "agente de control de insectos", la presente invención se refiere a un dispositivo físico o a una o varias sustancias químicas que provoquen la muerte del insecto. Las sustancias químicas se refieren preferentemente a insecticidas, más preferentemente seleccionados del grupo de los organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, neonicotinoides, ácidos tetrámicos, biorracionales y una combinación cualquiera de los insecticidas anteriores.

Adicionalmente, la presente invención se refiere a la combinación de multistriatin con un agente de control de insectos, donde ambos compuestos se sitúan en un mismo objeto, zona o área de atracción.

35

5

10

15

20

En otra realización preferida de la presente invención, la composición atrayente para *Diocalandra frumenti* se puede formular como un sólido tal como polvos, gránulos, pasta, etc., o como un líquido, incluyendo aerosoles.

5 En otra realización de la presente invención, la composición atrayente descrita en la presente solicitud comprende un vehículo, también llamado portador en la presente solicitud. Dicho vehículo puede ser una matriz capaz de contener en su interior el multistriatin y, opcionalmente, uno o más ingredientes adicionales que se han mencionado anteriormente o puede ser un sustrato en forma de una capa sobre la que el multistriatin y, opcionalmente, uno o más ingredientes adicionales de esta invención se encuentran depositados, absorbidos, adsorbidos, pulverizados, revestidos, y/o similares.

En una realización preferida de la presente invención, el portador puede estar fabricado de madera, celulosa, plástico, cerámica, metal, cuero, nailon, caucho, parafina, cera, algodón, espuma, material textil, gránulos, polímeros, sílices y cintas adhesivas, entre otros.

15

20

25

30

35

Adicionalmente, la presente invención se refiere a la combinación de multistriatín con uno o más compuestos orgánicos volátiles (COVs). Esta combinación resulta particularmente útil en el seguimiento y/o control de la plaga de la especie de *Diocalandra frumenti*; así como en la prevención de los daños ocasionados por esta plaga en palmeras.

La composición atravente multistriatin puede utilizarse en combinación con uno o más compuestos orgánicos volátiles (COVs) de plantas para incrementar la atracción de insectos de la especie Diocalandra frumenti, tales como ésteres, alcoholes, ácidos, cetonas, aldehídos, benzoatos, fenoles, terpenos y una combinación cualquiera de los COVs anteriores. Preferentemente como COVs la composición atrayente comprende butirato de propilo, propionato de etilo, butirato de etilo, 2-metilbutirato de etilo, valerato de etilo, isobutirato de etilo, laurato de etilo, lactato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo, hexanoato de etilo, acetato de etilo, acetato de propionato, acetato de 2-metilbutirato, acetato (E)-4-decenoate, acetato de dodecanoato, etanol, butanol, pentanol, 2-feniletanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, ácido acético, ácido butírico, isovalérico, 3-hidroxi-2-butanona ácido (acetoína), 6-metil-5-hepten-2-ona, acetofenona, 2-pentanona, 2-hexanona, 2-butanona, nonanal, hexanal, decanal, benzoato de metilo, salicilato de metilo, benzoato de propilo, fenol, p-cresol, petilguaiacol, limoneno, pineno, copaeno, anisol y una combinación cualquiera de los compuestos orgánicos volátiles anteriores. Más preferentemente la composición atrayente se combina con butirato de propilo, propionato de etilo, butirato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo, acetato de dodecanilo, acetato de etilo, etanol, 2-feniletanol, 3-metilbutanol, 3-hidroxi-2-butanona y una combinación cualquiera de los compuestos orgánicos volátiles anteriores. Estos compuestos están presentes en el perfil de COVs del material vegetal estudiado en el laboratorio y han demostrado una actividad atrayente de insectos de la especie *Diocalandra frumenti* tanto en ensayos de laboratorio como en ensayos de campo.

10

15

20

5

Preferentemente, los COVs que se combinan con multistriatin son kairomonas.

Por el término "kairomona" en el contexto de la presente invención, se entiende toda aquella sustancia implicada en la comunicación química entre diferentes especies y que beneficia al receptor de la señal química. En el caso que nos ocupa, serían kairomonas los volátiles emitidos por la planta hospedadora que son detectados por la especie plaga, de forma que les permite encontrar la fuente de alimento y/o el lugar para su reproducción. Preferentemente, en esta solicitud, se utilizan kairomomas naturales, entendiéndose como las sustancias volátiles emitidas por pedazos de material vegetal. Preferentemente, las kairomonas procedentes de caña de azúcar, palmera, frutos de palmera y una combinación cualquiera de las anteriores actúan sinérgicamente con la composición atrayente de *Diocalandra frumenti*, consiguiendo atraer más gorgojos hacía un área, zona u objeto concreto. En una realización aún más preferida, las kairomonas que se pueden combinar con la composición atrayente proceden de los tallos de la caña de azúcar.

30

25

La presente invención también se refiere a un método para el seguimiento de la plaga de insectos de la especie *Diocalandra frumenti* que comprende utilizar multistriatin, preferentemente la composición atrayente que se describe en esta solicitud.

En particular, este método comprende colocar el multistriatin y, opcionalmente, uno o más de los ingredientes adicionales mencionados anteriormente en un portador para obtener la composición atrayente de la invención, y colocar dicha composición en un área, zona u objeto hacia donde se quieren atraer los insectos de la especie

35 Diocalandra frumenti.

En este método el portador puede ser una matriz capaz de contener en su interior el multistriatin y, opcionalmente, uno o más ingredientes adicionales que se han mencionado anteriormente o puede ser un sustrato en forma de una capa sobre la que el multistriatin y, opcionalmente, uno o más ingredientes adicionales de esta invención se encuentran depositados, absorbidos, adsorbidos, pulverizados, revestidos, y/o similares.

5

10

15

20

25

30

35

Por lo tanto, la presente invención también se refiere al uso de la composición que se describe en la presente solicitud para el seguimiento de poblaciones de la especie *Diocalandra frumenti*.

Este método comprende utilizar multistriatin, preferentemente la composición atrayente descrita en la presente solicitud, para la atracción y detección de los machos y hembras de la especie de *Diocalandra frumenti* en un área, zona u objeto, por lo que este método permite hacer un seguimiento poblacional de dicha especie.

Adicionalmente, la presente invención también se refiere a un método para controlar y, preferiblemente, eliminar la plaga de insectos de la especie *Diocalandra frumenti* que comprende utilizar multistriatin, preferentemente la composición atrayente de la invención, en combinación con un agente de control de insectos. Éste puede encontrarse en la propia composición atrayente o puede aplicarse por separado, siempre que se encuentren en una misma área, zona u objeto hacia donde se pretende atraer la plaga. Este método para el control de la plaga de dicha especie puede comprender la atracción, inmovilización, captura y eliminación de los insectos de *Diocalandra frumenti* en un área, zona u objeto. Por lo tanto, la presente invención también se refiere al uso de la composición que se describe en la presente solicitud para el control de plagas de la especie *Diocalandra frumenti*.

En otro aspecto, la presente invención también se refiere a un método para prevenir los daños producidos en las palmeras por las poblaciones de *Diocalandra frumenti*, caracterizado porque el método comprende utilizar multistriatin, preferentemente la composición atrayente descrita en la presente solicitud. Esta prevención se puede conseguir al utilizar multistriatin para la atracción y detección de *Diocalandra frumenti*. Este método permite hacer un seguimiento de dicha especie y, si es necesario, tomar las medidas necesarias para eliminar la plaga antes de que se detecten los efectos de estos insectos en las palmeras, y evitar los consiguientes daños irreparables.

En otra realización preferida, la presente invención además se refiere a un método para prevenir los daños producidos en las palmeras por las poblaciones de Diocalandra frumenti, donde el método comprende utilizar preferentemente la composición atrayente descrita en la invención, en combinación con un agente de control de insectos. En este caso, el método de prevención comprende atraer y matar a los insectos de esta especie mediante la utilización de multistriatin en combinación con un agente de control de insectos, que de utilizarse la composición atrayente de la invención, puede encontrarse contenido en la propia composición o puede aplicarse por separado, siempre que se encuentren en una misma área, zona u objeto hacia donde se pretende atraer la plaga.

5

10

15

20

25

En los métodos de seguimiento, control o prevención de daños que se describen en la presente solicitud de patente, multistriatin, preferentemente la composición atrayente que comprende multistriatin, puede utilizarse en combinación con uno o más COVs, preferentemente del listado mencionado anteriormente.

Preferentemente, estos métodos comprenden la utilización de multistriatin, preferentemente la composición que comprende multistriatin, con una kairomona de forma que el multistriatin y la kairomona aunque no están presentes en una misma composición, si se encuentran en una misma área, zona u objeto donde se pretende atraer a las hembras y machos de la especie de *Diocalandra frumenti*.

En los métodos de seguimiento, control o prevención de daños que se describe en la presente solicitud de patente, la composición atrayente que comprende multistriatin se puede utilizar, preferentemente, en combinación con una o más kairomonas, ya que se ha observado un efecto sorprendente en la capacidad de atracción de los gorgojos con respecto a la mera utilización de kairomonas tal y como se ilustra en el ejemplo 3 de la presente solicitud.

#### Breve descripción de las Figuras

Figura 1: En la figura 1 se representan Detección de multistriatin en muestras de volátiles de individuos de *Diocalandra frumenti* recolectados en campo. Se muestran: (A) multistriatin sintético mezcla de isómeros, (B) muestra de volátiles de machos, (C) muestra de volátiles de hembras. Se observa que el pico con tiempo de retención 18.98 min detectado en las muestras de machos (B), no aparece en las muestras de hembras (C), y que coincide con la muestra sintética de multistriatin (A).

Figura 2: En la figura 2 se representan la respuesta de *Diocalandra frumenti* a multistriatin en olfatómetro Y de doble elección en condiciones de laboratorio: (A) hembras y (B) machos. Porcentajes respecto al total de individuos que mostraron actividad. El control negativo fue el disolvente pentano en todos los casos. Para cada dosis, la presencia de asterisco indica la existencia de diferencias significativas (test χ2, P < 0.05).</p>

**Figura 3:** En la figura 3 se representa la Media (± error estándar) del número de individuos de *Diocalandra frumenti* (machos, hembras e individuos totales) capturados por trampa y día en el ensayo de respuesta de atracción en campo a multistriatin. Barras con la misma letra para cada sexo no difieren significativamente (ANOVA, LSD test at P > 0.05).

#### **Ejemplos**

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, los cuales no pretenden ser limitativos en su alcance.

#### Ejemplo 1: Detección del multistriatin en muestras procedentes de machos de Diocalandra frumenti mediante técnicas de captación de volátiles

30

35

20

5

#### Metodología

Para la captación de volátiles procedentes de *Diocalandra frumenti* se emplearon individuos salvajes procedentes de ejemplares infestados de palmeras canarias (Phoenix canariensis). Para ello, se instalaron en Gran Canaria diversas trampas cebadas con caña de azúcar y los individuos capturados se llevaron al laboratorio de la Unidad de Entomología del Departamento de protección Vegetal en el Instituto

Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Este laboratorio ha sido habilitado para trabajar únicamente con D. frumenti para evitar contaminaciones con aromas externos, así como permitir la regulación de condiciones de oscuridad y temperatura requeridas en los ensayos. El laboratorio se mantiene en oscuridad, a 23  $\pm$  2°C y 70-80 % de humedad relativa.

Una vez recibidos en el ICIA, los insectos son mantenidos hasta su uso en la cámara de cría habilitada para *D. frumenti* en el interior de contenedores de plástico sobre la misma caña con la cual fueron capturados, a 22 ± 2 °C de temperatura, con una humedad del 80 % y en oscuridad total.

La toma de muestra de los volátiles emitidos por los insectos se realizó mediante la aireación de los individuos y captación de los efluvios en cartuchos de vidrio rellenos con matrices adsorbentes, tales como polidimetilsiloxano/divinilbenceno y Porapak-Q. Se colocaron grupos de individuos de cada sexo en recipientes de vidrio, por los que se hizo pasar una corriente de aire filtrado de 0.2 l/min. Los cartuchos con los volátiles captados en cada sesión se enviaban al laboratorio del Centro de Ecología Química de la Universitat Politècnica de València (UPV). Los volátiles se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). El análisis cromatográfico se realizó en un equipo Clarus 600 GC-MS (PerkinElmer), equipado con una columna capilar ZB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm; Phenomenex) y el siguiente programa de temperaturas: 40 °C durante 2 min; 5 °C/min hasta 180 °C y después aumentar hasta 280 °C a 10 °C/min, manteniendo a 280 °C durante 1 min. Se empleó helio como gas portador con un flujo de 1 mL/min. La detección se realizó en modo de impacto electrónico (70 eV) y la temperatura de la fuente de ionización fue de 180°C. El multistriatin se identificó en primer lugar mediante la comparación de su espectro con el disponible en la base de datos de espectros de masas NIST\EPA\NIH mass Spectral Library (version 2.0, build 4/2005) y, posteriormente, con el de una muestra real sintetizada por Ecología y Protección Agrícola (EPA).

30

35

5

10

15

20

25

#### Resultado

El análisis cromatográfico reveló un pico que aparecía en las muestras de volátiles emitidos por los machos y no en las de las hembras, como se puede observar en la Figura 1. Este pico correspondía con el multistriatin, identificado tentativamente a partir de la coincidencia con la biblioteca de espectros y confirmado posteriormente mediante muestra sintética.

### Ejemplo 2: Ensayos biológicos de actividad del multistriatin en condiciones de laboratorio

#### Metodología

5

10

15

20

25

30

35

La respuesta de los individuos de *Diocalandra frumenti* al multistriatin se evaluó en el laboratorio del ICIA mediante un olfatómetro de vidrio tipo "Y" de doble elección (ARS Inc.) cedido por la UPV. Las sesiones de olfatometría han sido realizadas en condiciones de oscuridad, a 23 ± 2°C y 70-80 % de humedad relativa. La única fuente de luz fue un tubo fluorescente rojo que permite registrar el movimiento de los insectos sin afectar a los mismos. El olfatómetro utilizado se trata de una pieza en forma de "Y" fabricada totalmente en vidrio para evitar al máximo la absorción de aromas en sus paredes y a su vez facilitar la visualización de los insectos durante el ensayo. En los tres extremos distales posee unas piezas extraíbles que permiten la introducción y extracción de los insectos. Dichas piezas poseen una malla soldada para evitar el escape de los mismos durante el ensayo.

Para estos ensayos se emplearon también individuos salvajes obtenidos del mismo modo que se detalla en el Ejemplo 1. El día previo a cada ensayo se sexó y seleccionó el número de insectos requerido, atendiendo a su estado físico. Una vez seleccionados los insectos fueron introducidos en el laboratorio en el que posteriormente se realizaron los ensayos donde permanecieron 24 horas en oscuridad, en periodo de aclimatación. Durante estas 24 horas los insectos permanecieron privados de alimento, aunque si se les proporcionó agua destilada embebida en un algodón. Los insectos fueron cuidadosamente seleccionados de tal forma que todos tuvieran en perfecto estado todas sus extremidades. La falta no solo de alguna extremidad sino de algunos tarsos, aunque permite la locomoción del insecto, en caso de caída en posición dorsal durante el ensayo, dificulta la adquisición de la posición ventral de nuevo para continuar la marcha. Por tanto todos los insectos son observados bajo el binocular para confirmar su estado antes de ser seleccionados. El procedimiento utilizado se describe a continuación: durante cada ensayo, en uno de los brazos del olfatómetro "Y" se colocó una muestra de multistriatin y en el otro un control negativo (disolvente pentano sin actividad). Las dosis a ensayar de multistriatin y los respectivos controles se disponían sobre papel de filtro de 1 cm<sup>2</sup> en una cantidad de 20 µl y para evitar el contacto directo con las paredes del olfatómetro se depositaban sobre un cubreobjetos de vidrio de 20 x 20 mm, evitando así al máximo las contaminaciones. De forma paralela, se introduce un único insecto en el extremo

opuesto del olfatómetro y se pone en funcionamiento una bomba, de tal forma que el insecto comienza a recibir el flujo de aire filtrado procedente de ambos brazos (0.8 l/min) que arrastra los estímulos ensayados. Entonces, se registra el comportamiento de los individuos hacia las fuentes de estímulo durante 10 min. Una vez finalizado el ensayo el insecto es desechado, de tal forma que cada insecto sea expuesto a los estímulos olfativos una única vez. Cada 5 insectos el olfatómetro es rotado de posición para evitar posibles estímulos dejados por los insectos en su interior. Los ensayos se realizaron con al menos 20 individuos de cada sexo para cada una de las dosis de multistriatin evaluadas (0,001 - 0,1 – 10 – 100  $\mu$ g). Los datos obtenidos se analizaron mediante prueba de Chi cuadrado ( $\chi$ 2 test, P < 0.05).

#### Resultado

Los resultados que se muestran en la Tabla 1 indican que existe una respuesta significativa tanto de las hembras como de los machos al multistriatin, aunque esta respuesta fue dependiente de la dosis como se muestra en la Figura 2. Las hembras mostraron significativamente preferencia por el multistriatin con las dosis ensayadas de 10 y 0.1 µg (Figura 2A). Sin embargo, los machos tuvieron una respuesta más restringida y solo respondieron significativamente cuando la dosis de multistriatin fue de 10 µg (Figura 2B).

20

5

10

15

Tabla 1. Significación estadística de los resultados obtenidos en los bioensayos

	hembras			machos		
Dosis (µg)	respuesta <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	Р	respuesta1	χ <sup>2</sup>	Р
100	*	2.29	0.131	-	18.00	< 0.001
10	++	34.00	< 0.001	+	16.00	< 0.001
0.1	+	24.63	< 0.001	ns	1.20	0.273
0.001	ns	0.15	0.695	ns	0.13	0.715

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> tipo de respuesta: (-) negativa, (+) positiva, (++) muy positiva, (ns) no significativa, (\*) marginalmente significativa ( $\alpha = 0.90$ )

#### Ejemplo 3: Ensayos de respuesta de atracción en campo

#### 25

30

#### Metodología

La respuesta de los individuos de *Diocalandra frumenti* al multistriatin se evaluó en un ensayo de campo realizado en la zona de Campo Internacional Mas Palomas, situado en la localidad de San Bartolomé de Tirajana (Gran Canaria), durante el mes de Febrero de 2016. Se instalaron 3 bloques de 3 trampas en alineaciones de palmeras *Phoenix canariensis*, siguiendo un sistema de bloques al azar. Cada uno de los

bloques incluía: (A) una trampa cebada sólo con caña de azúcar, (B) una trampa cebada con caña de azúcar y un difusor cargado con 1 mg de multistriatin, y (C) una trampa cebada con caña de azúcar y un difusor cargado con 5 mg de multistriatin. Dentro de cada bloque las trampas se situaron a una distancia de 20 m entre sí, mientras que la distancia entre bloques fue de al menos 30 m. Todas las trampas se colocaron encajadas entre el primer y el segundo anillo de hojas, a unos 4 m de altura. Las trampas utilizadas fueron tipo "Funnel" modificada con agujeros laterales. Todas las trampas contenían 500 ml de agua y 4 trozos de caña de azúcar resultantes del corte transversal y longitudinal de una pieza de caña de 30 cm. Los difusores cargados con multistriatin fueron de tipo rubber septa y se colocaron colgados de la invaginación superior en el interior de la trampa.

Las capturas obtenidas en cada una de las trampas se revisaron semanalmente y los individuos capturados se llevaron a laboratorio para ser sexados y contados. Cada semana se realizó la rotación de trampas intrabloque y se repuso el agua y la caña de azúcar en todas las trampas para mantener el nivel atrayente.

El número de individuos (machos, hembras y totales) capturados por trampa y día con cada uno los atrayentes se comparó mediante un análisis de la varianza (ANOVA; test LSD de comparación de medias, P < 0.05), previa transformación (ln(x+1)) de los datos con el fin de homogeneizar la varianza.

#### Resultado

5

10

15

20

25

30

Los resultados muestran que las trampas cebadas con multistriatin y caña de azúcar tienen un poder de atracción significativamente mayor que aquellas cebadas solo con caña, tanto para los machos como para las hembras de *D. frumenti*, como se muestra en la Figura 3. La carga de multistriatin ensayada no tuvo influencia sobre los resultados y ambas dosis capturaron 6-7 veces más individuos que la caña de azúcar (una media de 23 frente a 3.7 individuos totales capturados por trampa y día, respectivamente). Por lo tanto, los resultados demuestran que el poder atrayente de la caña de azúcar por sí sola es muy bajo y que la adición de multistriatin a las trampas mejora significativamente el sistema de trampeo para *D. frumenti*.

#### **REIVINDICACIONES**

1.- Composición atrayente de la especie *Diocalandra frumenti* caracterizado porque comprende multistriatin (5-etil-2,4-dimetil-6,8-dioxabiciclo[3.2.1]octano).

5

25

2.- Composición atrayente según la reivindicación 1 que comprende una cantidad de multistriatin eficaz para atraer insectos de la especie *Diocalandra frumenti*.

3.- Composición atrayente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende al menos un componente adicional seleccionado del grupo que consiste en antioxidantes, protectores de radiación UV, agentes de control de insectos y una combinación cualquiera de los anteriores.

- 4.- Composición atrayente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde
  dicha composición se encuentra en forma sólida o líquida.
  - 5.- Composición atrayente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde dicha composición comprende un vehículo.
- 20 6.- Combinación de una composición atrayente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, con al menos un compuesto orgánico volátil de plantas.
  - 7.- Combinación según la reivindicación 6 donde el compuesto volátil de plantas son kairomonas de caña de azúcar, palmera, frutos de palmera o una combinación de los anteriores.
  - 8.- Método para realizar el seguimiento de poblaciones de los insectos de la especie *Diocalandra frumenti* caracterizado porque comprende utilizar multistriatin.
- 30 9.- Método para controlar plagas de los insectos de la especie *Diocalandra frumenti* caracterizado porque comprende utilizar la combinación de multistriatin y un agente de control de insectos.
- 10.- Método para prevenir los daños producidos en las palmeras por los insectos de la
   especie *Diocalandra frumenti* caracterizado porque comprende utilizar multistriatin.

- 11.- Método para prevenir los daños producidos en las palmeras por los insectos de la especie *Diocalandra frumenti* según la reivindicación 10, que comprende utilizar la combinación de multistriatin y un agente de control de insectos.
- 5 12.- Método según las reivindicaciones 9 u 11, donde el agente del control de insectos es un insecticida.
  - 13.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, donde multistriatin está comprendido en la composición atrayente que se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

10

- 14.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, donde multistriatin se utiliza en combinación con al menos un compuesto orgánico volátil de plantas.
- 15. Método según la reivindicación 12, donde el compuesto volátil de plantas es una kairomona seleccionada del grupo procedente de caña de azúcar, palmera, frutos de palmera y una combinación cualquiera de las anteriores.

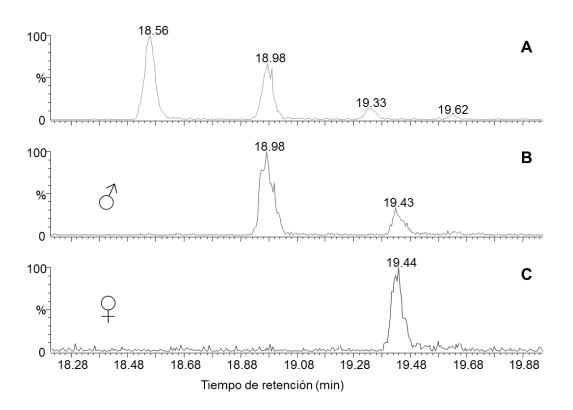
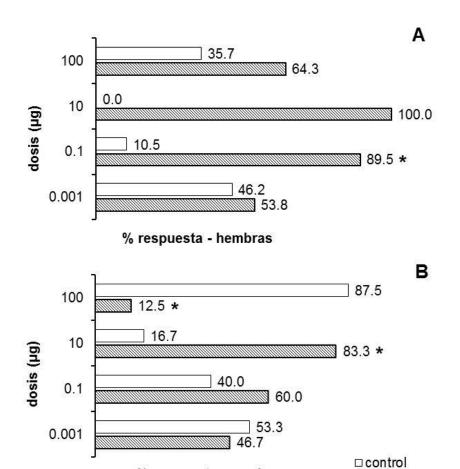


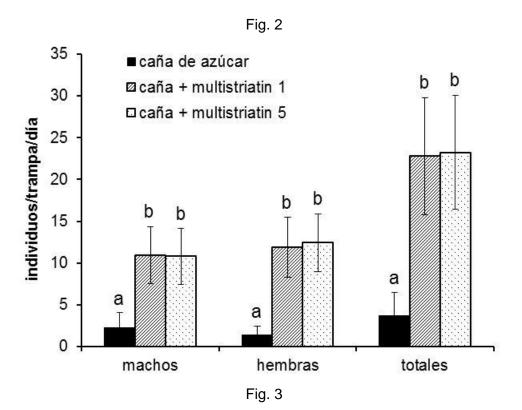
Fig.1



% respuesta - machos

multistriatin

multistriatin





(21) N.º solicitud: 201630512

2 Fecha de presentación de la solicitud: 22.04.2016

32 Fecha de prioridad:

#### INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.:	<b>A01N43/90</b> (2006.01)

#### **DOCUMENTOS RELEVANTES**

Categoría	<b>66</b>	Reivindicaciones afectadas	
Х	US 6413508 B1 (DICKENS JOSEF resumen; columna 1, lin. 65 a colur 7, lin. 49-51; reivindicaciones 1 a 3	1-8	
Α	US 4108870 A (FRIED JOSEF et a Todo el documento	al.) 22/08/1978,	1-16
A	ES 2126535 A1 (INIA) 16/03/1999, todo el documento		1-16
X: d Y: d r A: re	egoría de los documentos citados e particular relevancia e particular relevancia combinado con ot nisma categoría efleja el estado de la técnica	de la solicitud E: documento anterior, pero publicado después o de presentación de la solicitud	
	presente informe ha sido realizado para todas las reivindicaciones	para las reivindicaciones nº:	
Fecha	de realización del informe 25.10.2016	<b>Examinador</b> M. Ojanguren Fernández	Página 1/4

# INFORME DEL ESTADO DE LA TÉCNICA Nº de solicitud: 201630512 Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación) A01N Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados) INVENES, EPODOC, WPI

**OPINIÓN ESCRITA** 

Nº de solicitud: 201630512

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 25.10.2016

#### Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)

Reivindicaciones 9-16

Reivindicaciones 1-8

NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones 9-16

Reivindicaciones 1-8

NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

#### Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

Nº de solicitud: 201630512

#### 1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 6413508 B1 (DICKENS JOSEPH C)	02.07.2002

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la presente invención según las reivindicaciones 1 a 8 es una composición que comprende multistriatin.

El documento D1 divulga una composición que comprende multistriatin junto con compuestos volátiles provenientes de las hojas verdes de ciertas plantas. Dicha composición tiene un efecto atrayente sobre determinados coleópteros de la familia *Curculionidae* como el gorgojo del algodón y el escolitino que ataca a diferentes tipos de árboles perforando la corteza. Por lo tanto, a la vista de este documento, las reivindicaciones 1 a 8 de la presente solicitud carecen de novedad y de actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP).

Las reivindicaciones 9-16 de la presente invención, relativas a un método para el control de la especie *Diocalndra frumenti*, tienen novedad y actividad inventiva dado que si bien ya se ha encontrado en el estado de la técnica una composición con mulltistriatin como feromona atrayente para otras especies, la eficacia este compuesto como atrayente de la especie *Diocalandra frumenti* no se vería efectivamente probada sin la necesaria experimentación. (Art. 6.1 y 8.1 LP).