

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 464 642**

21 Número de solicitud: 201390043

51 Int. Cl.:

A01N 65/08 (2009.01)

A01N 65/32 (2009.01)

A01N 65/12 (2009.01)

A01N 43/16 (2006.01)

A01N 43/42 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

21.03.2012

30 Prioridad:

23.09.2011 MX MX/a/2011/010032

43 Fecha de publicación de la solicitud:

03.06.2014

71 Solicitantes:

**PROMOTORA TECNICA INDUSTRIAL, S.A. DE
C.V. (100.0%)
Calle 56 Sur, Manzana 1, Lote 13, Colonia CIVAC
62578 - Jiutepec, Morelos MX**

72 Inventor/es:

**HERNANDEZ ROMERO, Yanet Micahela;
RODRIGUEZ NARVAEZ, Cristina Margarita y
SAAVEDRA AGUILAR, Mario**

74 Agente/Representante:

VÁZQUEZ FERNÁNDEZ-VILLA, Concepción

54 Título: **PLAGUICIDA CON ACCIÓN INSECTICIDA, ACARICIDA Y NEMATICIDA A BASE DE
ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS Y FLAVONOIDES**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a un plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematicida, obtenido a partir de extractos vegetales que presentan importantes interacciones sinérgicas en su actividad plaguicida, cuyas características principales son: un control eficiente para insectos, ácaros y nemátodos; baja toxicidad para los mamíferos y baja persistencia en el medio ambiente.

Este plaguicida consiste en una composición a base de extractos vegetales, la cual se caracteriza por estar constituida por:

Alcaloides isoquinolínicos y sus derivados 0.1 - 20%

Flavonoides y sus derivados glicosilados 0.001 - 10%

Por tanto el alcance de la invención se ciñe de manera general a los plaguicidas orgánicos y en particular a la obtención de un plaguicida orgánico que contiene como ingredientes activos una mezcla de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides para el uso de los mismos para el control de plagas agrícolas.

ES 2 464 642 A2

**PLAGUICIDA CON ACCION INSECTICIDA, ACARICIDA Y NEMATICIDA A BASE DE
ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS Y FLAVONOIDES**

DESCRIPCIÓN

5

ALCANCE DE LA DE LA INVENCION

Se presenta una invención consistente en un plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematicida que contiene al menos un alcaloide isoquinolínico y al menos un flavonoide, y que presentan importantes interacciones sinérgicas en su actividad biológica,
10 eficiente para el control de plagas y cuyas características principales son: alta especificidad sobre los plagas blanco, baja toxicidad para los mamíferos, baja persistencia en el medio ambiente y donde los ingredientes activos pudieran provenir, aunque no exclusivamente, de extractos vegetales.

Asimismo, se describe un procedimiento de fabricación, consistente en dos etapas,
15 donde la primera etapa se refiere a la obtención y estandarización de los principios activos del plaguicida: alcaloides isoquinolínicos y flavonoides, así como de una segunda etapa relacionada a su formulación comercial.

20 **OBJETIVOS DE LA INVENCION**

La presente invención está relacionada de manera general al uso bioracional de plaguicidas de origen botánico para el manejo integrado de plagas y en particular al uso de extractos vegetales, los cuales contienen principalmente alcaloides isoquinolínicos y flavonoides como metabolitos secundarios activos.

25 Por ello, el objetivo principal de la presente invención es el uso de extractos vegetales para el manejo integrado de plagas, por lo que no implica riesgos para el medio ambiente, dado que son sustancias biodegradables que, por lo general persisten poco tiempo en el ambiente y por lo tanto no contaminan y proporcionan una alternativa bioracional al uso de los plaguicidas químicos convencionales.

30 Es un objetivo de la presente invención que la mezcla de extractos vegetales y su composición química permita que éste pueda ejercer su actividad plaguicida sobre insectos, ácaros y nemátodos, vía diferentes mecanismos de acción.

Es otro propósito de la presente invención que los extractos vegetales empleados en su formulación, estén constituidos por un conjunto de principios activos, químicamente distintos entre sí. Esto disminuye la probabilidad del desarrollo de la resistencia por parte de los organismos blanco.

5 Es otro objetivo de la presente invención proporcionar un plaguicida con una combinación de ingredientes con propiedades sinérgicas, lo cual permite reducir la cantidad de ingredientes activos sin afectar la efectividad biológica contra los organismos plaga, permitiéndole presentar una baja toxicidad para mamíferos.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Históricamente, la primera generación de moléculas vegetales plaguicidas data del siglo XIX, donde se identificaron algunos compuestos de origen vegetal como los alcaloides, la rotenona y compuestos rotenoides, las piretrinas y los aceites esenciales.

15 Los alcaloides son metabolitos secundarios nitrogenados, generalmente de carácter básico y la mayoría de estos compuestos son biosintetizados a partir de los aminoácidos. La nicotina es un alcaloide aislado de la planta del tabaco, principalmente de *Nicotiana tabacum* y *Nicotiana rustica* (Solanaceae), y se considera como un plaguicida tóxico y peligroso para humanos. Es una neurotoxina que actúa específicamente sobre los receptores colinérgicos
20 nicotínicos, retardando el cierre de los canales de sodio, provoca parálisis antes de la muerte.

La sabadilla es un plaguicida obtenido de las semillas de *Schoenocaulon officinale*. Sus principios activos son principalmente los alcaloides cevadina y veratridina los cuales son ésteres de un alcaloide esteroideal llamado veracevina y son tóxicos para los mamíferos (DL₅₀ 13 mg/kg), pero en las preparaciones comerciales que lo contienen como ingrediente activo
25 su concentración es menor al 1%. El mecanismo de acción plaguicida este tipo de alcaloides es similar al de las piretrinas.

La ryania es un polvo de la madera de *Ryania speciosa* y su actividad se le atribuye a la ryanodina (<1%), un éster pirrol-2-carboxílico de un diterpeno complejo (el ryanodol). La ryanodina ejerce su actividad plaguicida interfiriendo con la liberación de calcio en el tejido
30 muscular provocando una contracción muscular sostenida que puede ir acompañada de parálisis.

La rotenona es un isoflavonoide y el componente plaguicida principal de las raíces o rizomas de las leguminosas tropicales *Derris*, *Lonchocarpus* y *Tephrosia*. La mayoría de la rotenona usada actualmente proviene de *Lonchocarpus*, también conocido como raíz del cubé. De esta raíz se extrae aproximadamente el 44% de rotenona y el 22% de deguelina, otro rotenoide. La rotenona es un veneno mitocondrial, el cual bloquea el transporte de electrones y previene la producción de energía. La rotenona es tóxica para los humanos (DL₅₀ 132 mg/kg) y aunque las formulaciones comerciales se usan en niveles menos tóxicos de las dosis letales, este plaguicida tiene uso limitado en la agricultura.

El piretro se extrae de las flores del crisantemo *Tanacetum cinerarifolium* (Asteraceae) y es una mezcla de 6 metabolitos secundarios: las piretrinas I y II, las cinerinas I y II y las jasmolinas I y II. El piretro es una neurotoxina que causa parálisis inmediata en los insectos ya que bloquea los canales de sodio voltaje dependientes en los axones, este mecanismo de acción es similar al del plaguicida organoclorado DDT, pero a diferencia de este, las piretrinas muestran moderada toxicidad hacia los mamíferos. A pesar de su acción inmediata, la mayoría de los insectos se recupera, a menos que el piretro esté formulado con un agente sinérgico. El piretro constituye aproximadamente el 80% del total de los bioplaguicidas botánicos comerciales a nivel mundial.

Los aceites esenciales son los principios aromáticos volátiles de las plantas, de naturaleza química compleja que incluyen principalmente los terpenoides, siendo los monoterpenos los compuestos mayoritarios y en menor proporción los sesquiterpenos (los cuales contienen 10 y 15 átomos de carbono, respectivamente) y más raramente los diterpenos (20 átomos de carbono). Los aceites esenciales, principalmente los monoterpenos son específicamente tóxicos contra plagas insectiles, debido a su mecanismo neurotóxico, que actúa sobre los receptores octopaminérgicos en el sistema de transmisión de impulsos nerviosos de los invertebrados. Los aceites esenciales debido su naturaleza volátil probablemente ingresan al insecto por su sistema respiratorio y en la actualidad se usan principalmente para proteger animales domésticos y ropa (contra polillas), además como agente preservador de la madera.

Los productos fitosanitarios de origen vegetal de esta primera generación fueron sustituidos por los plaguicidas producto de síntesis química como los compuestos organoclorados, los organofosforados y los carbamatos, que ocasionaron fuertes problemas de contaminación al medio ambiente y resistencia de los insectos, además de efectos nocivos a los organismos no blanco. Como respuesta a todos estos problemas surgió una

estrategia netamente química donde se buscó modificar las estructuras de los productos naturales para la obtención de compuestos con una mejor actividad plaguicida y menor toxicidad para los mamíferos, dando origen a los piretroides. Se renovó también de manera importante el interés por el desarrollo de productos de origen vegetal, y surgió la ecología química, donde químicos, bioquímicos, toxicólogos y especialistas en la protección vegetal unieron esfuerzos en la investigación de productos naturales de origen botánico para el control de plagas con un mínimo de problemas ambientales, lo que dio la pauta a la segunda generación de plaguicidas botánicos.

El estudio más detallado de las relaciones planta insecto, permitió conocer que la evolución ha dotado a las plantas de mediadores químicos implicados en las comunicación entre especies, conocidos como compuestos semioquímicos, que son considerados compuestos no nutritivos producidos por un organismo que afectan al comportamiento o la biología de individuos de la misma especie (feromonas) o de especies diferentes (moléculas aleloquímicas), estas últimas presentan una serie de efectos frente a los insectos perjudiciales, y se clasifican según su modo de acción en sustancias defensivas, tóxicas, repelentes o disuasorias, antifagoestimulantes o inhibidoras de la digestión, atrayentes, etc., y de acuerdo a su composición química e intensidad revelan información acerca del estatus fisiológico de la planta y del estrés en el que se encuentran y modifican el comportamiento o la biología de un organismo de otra especie; estas moléculas generalmente actúan en dosis bajas y tienen una acción específica y son poco tóxicos para los mamíferos.

Esta segunda generación de plaguicidas botánicos, permitió a los científicos occidentales redescubrir el neem, que fue utilizado en la India desde tiempos ancestrales. De las semillas del árbol del neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae) pueden obtenerse dos tipos de plaguicidas botánicos, el aceite del Neem (aceite esencial) y la azadiractina (10-25%), un limonoide del tipo meliacina. Los limonoides se han aislado principalmente de las familias Meliaceae (meliacinas) y Rutaceae (limonoides de cítricos), químicamente son triterpenos modificados o tetranortriterpenoides, altamente oxigenados, que derivan del precursor 4,4,8-trimetil-17-furanosilesteroide. Los limonoides del tipo meliacina son estructuralmente más complejos que los limonoides de los cítricos y tienen un mayor grado de oxidación. La azadiractina ejerce su acción plaguicida bloqueando la síntesis y la liberación de hormonas durante la muda (ecdisis) en los insectos inmaduros, que trae como consecuencia la inhibición de su crecimiento y desarrollo, y en los insectos adultos mediante un mecanismo similar, ocasiona la esterilidad. La azadiractina es además un potente antialimentario.

En los últimos años se ha visto una mayor aceptación en el mercado mundial de nuevas alternativas para el manejo integrado de plagas, debido a la resistencia desarrollada por los insectos y otros efectos colaterales indeseables ocasionados por el uso indiscriminado de los plaguicidas sintéticos convencionales. Pero, por otro lado existen también varios factores que limitan el uso de los plaguicidas botánicos debido a los resultados prácticos inconsistentes, ocasionados, probablemente porque no existe una estandarización química de los formulados; al precio no competitivo en comparación de los plaguicidas clásicos; a las formulaciones inapropiadas y a la aplicación contra un rango limitado de plagas.

Dentro de los trabajos previos de plaguicidas de origen vegetal relacionadas con la presente invención, se encontró la patente US2005/0244445 la cual hace referencia al efecto sinérgico en la actividad insecticida que presentan formulaciones a base aceites esenciales, jabones insecticidas y/o piretrinas, con detergentes como el laurilsulfato sódico (SLS), el dodecilsulfato sódico (SDS) o la lecitina.

Por otro lado, en las patentes americanas US6372239 y US2008/0300225 se describe el uso de los alcaloides tetracicloquinolizidínicos: matrine y oximatrine, aislados en las raíces de *Sophora*, solos o presentes en una mezcla de alcaloides para ejercer un efecto sinérgico sobre el control de plagas. La actividad plaguicida de estos alcaloides se atribuye a su efecto inhibitorio sobre la enzima acetilcolinesterasa, inhibiendo así la degradación del neurotransmisor acetilcolina. Al incrementarse la concentración de acetilcolina se produce una hiperexcitación del Sistema Nervioso Central (SNC), lo que provoca la muerte de los insectos.

Adicionalmente, Stermitz y colaboradores (2002), reportaron el efecto sinérgico de dos flavonas, la crisosplenetina y el crisosplenol D (aisladas del extracto de *Artemisia annua* L.) en la actividad antimicrobial mostrada por la berberina contra *Staphylococcus aureus*. Se determinó que estos flavonoides bloquean la extrusión de la berberina de la célula bacteriana, por inhibición de la bomba de eflujo de multifármacos (MDF), permitiéndole así ejercer su acción bactericida.

Y por último, en la patente china CN 2004-10022134 se describe el proceso de fabricación de un plaguicida para prevenir enfermedades en plantas causadas por microorganismos patógenos y para promover el crecimiento vegetal, que contiene como ingredientes activos una mezcla del 0.06 al 0.36% de clorhidrato de berberina, del 0.01-0.06% de matrine y de 0.23 al 1.38 % de flavonoides.

En este sentido, en la presente invención se refiere a la obtención y fabricación de plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida, novedoso y eficiente para el manejo integrado de plagas que atacan a plantas, frutos y/o animales, a base una mezcla novedosa de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides provenientes, aunque no exclusivamente, de extractos vegetales, que muestran importantes interacciones sinérgicas en su actividad plaguicida.

Los alcaloides isoquinolínicos de la presente invención pueden provenir, aunque no exclusivamente, de la familia de las Papaveraceas y los flavonoides de las Asteraceas. Ambos tipos de metabolitos secundarios, pueden también ser sintetizados químicamente.

De la familia Papaveracea, es bien conocida la presencia de alcaloides isoquinolínicos derivados de la protoberberina, tetrahydroberberina, protopina y benzofenantridina y de la espirobenzilisquinolina y cularina en Fumarioideae, así como de otros grupos que les dan conocidas propiedades farmacológicas: derivados de la aporfina, morfina, pavina, isopavina, narceína y roeodina. Se conocen al menos, otros 20 alcaloides en las plantas de esta familia: queilantifolina, quecleritina, N-norquecleritina, dihydroquecleritina, coptisina, criptopina, dihidrosanguinarina, norsanguinarina, esculerina, estilopina, muramina, talifolina, reframidina y oxihidrastrina. Estos metabolitos secundarios son responsables de las propiedades medicinales atribuidas a la familia.

De la familia de las Asteraceas, específicamente del género *Cirsium* se han aislado una serie de compuestos con actividad plaguicida de diferente naturaleza química que incluyen flavonoides, esteroides, triterpenos, alcaloides, poliacetilenos, acetilenos, sesquiterpenos, lactonas, ácidos fenólicos y lignanos. Dentro de los flavonoides aislados de *Cirsium* se encuentran, los derivados glicosilados de apigenina, cirsimaritina, camferol, linarina, luteolina, pectolinarina y quercetina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención comprende un procedimiento para la obtención de un plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de extractos vegetales, que contienen como principios activos: alcaloides isoquinolínicos y flavonoides, cuya eficiencia radica en presentar un efecto sinérgico en el manejo integrado de plagas.

Los alcaloides pueden ser obtenidos a partir de plantas tales como las de la familia Papaveraceae, que puede ser del género *Argemone*. Alternativamente los alcaloides de la

presente composición también pueden ser químicamente sintetizados a escala industrial. El nivel de extracción y el grado de pureza de los alcaloides puede variar, por ejemplo, los extractos de plantas íntegros, no purificados pueden emplearse en la presente invención. Dependiendo de la solubilidad de los alcaloides de las plantas, el proceso de extracción de cada alcaloide puede diferir, pudiendo emplearse agua o un solvente orgánico. Alternativamente los alcaloides pueden purificarse completa o parcialmente. La síntesis química de alcaloides obvia la necesidad de extracción y purificación.

La formulación puede contener uno o más alcaloides del tipo isoquinolínico y sus derivados, como: berberina, protopina, alocriptopina, criptopina, sanguinarina, dihidrosanguinarina, norsanguinarina, oxisanguinarina., 6-acetonildihidroqueleritina, dihidroqueleritina, queleritina, N-norqueleritina, queleritridimerina, queilantifolina, coptisina, criptopina, esculerina, estilopina, muramina, talifolina, reframidina y oxihidrastinina.

Los flavonoides, a los que hace referencia el plaguicida de la presente invención, pueden ser sintetizados u obtenidos de varias especies de plantas de la familia de las Asteraceas, específicamente del género *Cirsium*. Estos flavonoides pertenecen al grupo de los flavonoles, las flavonas y las isoflavonas, y comprenden también a sus derivados glicosilados, específicamente a los glicósidos de la apigenina, la cirsimarina, el canferol, la linarina, la luteolina, la pectolarina y la quercetina.

Todos los metabolitos anteriormente mencionados pueden obtenerse mediante el uso de procesos biotecnológicos.

La extracción del material vegetal de la presente invención se puede realizar, aunque no exclusivamente, empleando solventes aprobados en la lista 4 EPA o mediante extracción con fluidos supercríticos.

La obtención del plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida de la presente invención consta de dos etapas, en la primera etapa se obtienen los extractos botánicos y la segunda etapa consiste en el mezclado de los extractos con los coadyuvantes necesarios para mantener una formulación fisicoquímicamente estable.

De esta manera, la composición química de la presente invención, queda compuesta por la combinación o mezcla de los siguientes ingredientes:

Alcaloides isoquinolínicos y sus derivados	0.1 – 20 %
Flavonoides y sus derivados glicosilados	0.001 - 10 %

Como parte del desarrollo de la presente invención se presentan dos ejemplos de formulaciones plaguicidas, los cuales combinan los principios activos en diversas

proporciones y cuya eficacia quedó plenamente comprobada con evaluaciones contra diferentes organismos plaga, tanto en el laboratorio como en campo.

Ejemplo 1. Proceso de preparación del formulado 1

5 Paso 1. Obtención de los extractos vegetales.

a) Proceso de extracción de alcaloides a partir de *Argemone* spp.

Para obtener los alcaloides del material vegetal, se emplea el método de extracción con un disolvente orgánico.

Para este ejemplo, el material vegetal seco de la especie *Argemone* spp. (Papaveraceae), se carga dentro de un reactor y se le adiciona un disolvente orgánico. El proceso de extracción se realizó dentro de un rango de temperatura de 30 a 70°C preferentemente durante 1-6 h para posteriormente, descargar el extracto. El extracto se concentrar por destilación controlada hasta obtener una concentración del 0.01 al 30%. El extracto se descarga y se almacena en un lugar fresco y seco a temperatura de 25°C. El
10
15 rendimiento de alcaloides a partir del extracto vegetal es alrededor del 5 al 15 %.

b) Extracción de flavonoides a partir de *Cirsium* spp.

La extracción de flavonoides se realizó de manera análoga al proceso de obtención de alcaloides arriba descrito. El material vegetal seco, molido y pesado de *Cirsium* spp. se carga en un reactor provisto de calentamiento y agitación, y se le adiciona un solvente orgánico, y
20 la mezcla se agita durante un lapso de tiempo preferentemente de 1-6 h, manteniendo una temperatura de preferentemente de 40 a 70°C. El extracto obtenido mediante este proceso se filtra, se descarga y almacena en envases de polietileno en un lugar fresco y seco a temperatura de 25 °C. El rendimiento del flavonoide a partir del extracto vegetal es alrededor del 0.5% al 10%.

25

Paso 2. Proceso de la manufactura del formulado 1.

Para obtener el extracto base del formulado se realiza el mezclado de los extractos activos de *Argemone* spp. y de *Cirsium* spp. Para esto, se cargan los extractos en el reactor homogeneizador y se agitan preferentemente de 1-3 h. Se descarga y se procede a formular
30 el plaguicida.

Para realizar la formulación, se pesan los extractos, coadyuvantes y disolventes y se cargan al reactor homogeneizador de tal manera que queden en las siguientes proporciones: el 0.01 al 30% del extracto base, el 1-10 % de cuadyuvantes y el resto de agua. Se agita la

mezcla preferentemente de 1-3h, hasta lograr una solución homogénea estable. Se descarga el reactor y se procede a su envasado.

Ejemplo 2. Proceso de preparación del formulado 2

5 Paso 1. Preparación de los extractos vegetales.

a) Proceso de extracción de alcaloides a partir de mezcla de material vegetal.

La extracción de alcaloides isoquinolínicos se puede realizar a partir de varias especies de la familia de las Papaveraceas. Para este proceso, se pesa una cantidad apropiada de *Argemone* spp. y *Bocconia* sp., se colocan dentro de un reactor con temperatura controlada y se adiciona un solvente orgánico. La extracción se realiza a temperatura preferentemente de 40 a 70°C y se mantiene en vigorosa agitación durante 1-6 h. Se descarga el extracto, se filtra y se concentra por destilación hasta obtener una concentración del 0.01 al 30%. El extracto se descarga y se almacena en un lugar fresco y seco a temperatura de 25 °C. El rendimiento de alcaloides a partir del extracto vegetal es alrededor del 5 al 15%.

15

b) Extracción de flavonoides a partir de *Cirsium* spp.

El proceso de extracción de flavonoides es el mismo que el descrito para el formulado 1.

20

Paso 2. Proceso de la manufactura del formulado 2.

Se realiza la preparación del extracto base. Se mezclan los extractos de *Argemone* spp., *Bocconia* sp. y *Cirsium* spp. Posteriormente, se cargan los extractos en el reactor homogeneizador y se agitan durante 1-3 h. Se descarga y se procede a formular el producto plaguicida.

25

Para el formulado 2, se pesan los extractos activos, coadyuvantes y disolventes y se cargan al reactor homogeneizador de tal manera que queden en las siguientes proporciones: del 0.01 a 30 % del extracto base y del 1-10% de coadyuvantes y el resto de agua. Se agita durante 1-3h, hasta lograr una solución homogénea estable. El formulado se descarga y se

30

procede a su envasado.

Ejemplos de la evaluación de los formulados plaguicidas:

Se realizaron evaluaciones de dos formulados botánicos formulado 1 y formulado 2, en diferentes cultivos y contra diferentes especies de insectos plaga, se incluye los resultados de las evaluaciones realizadas en laboratorio.

- 5 La evaluación se realizó en el cultivo de *Cucurbita pepo* L., infestado con insectos del género *Bemisia*, los resultados de dos aplicaciones realizadas se muestran en la tabla I.

Tabla I. Evaluación de la efectividad contra insectos del género *Bemisia*.

Tratamiento	Dosis	% Efectividad
Formulado 1	5 mL/L	61.3
Formulado 2	5 mL/L	61.7
Agua	-	0

- 10 De acuerdo a los porcentajes de efectividad mencionados arriba, ambos productos desarrollados presentan efectividad significativa para el control de insectos del género *Bemisia*. La evaluación se realizó cuatro días después de la aplicación. Los formulados también se aplicaron para conocer su efectividad en el cultivo de *Citrus* sp., para el control de dos especies plaga, *Diaphorina* sp. (adulto y ninfa) y ácaros del género
- 15 *Polyphagotarsonemus*.

En la tabla II se describen los porcentajes de efectividad de los formulados bajo estudio, comparados con el insecticida organofosforado dimetoato y el testigo absoluto, para el control de adultos de *Diaphorina* sp. En la tabla III se describen los porcentajes de efectividad de los tratamientos mencionados para el control de ninfas de *Diaphorina* sp.

20

Tabla II. Evaluación de la efectividad en adultos de *Diaphorina* sp.

Tratamiento	Dosis	% de Efectividad
Formulado 1	5 mL/L	80.2
Formulado 2	5 mL/L	86
Dimetoato	5 mL/L	100
Agua	5 mL/L	0

Tabla III. Evaluación de la efectividad en ninfas de *Diaphorina* sp.

Tratamiento	Dosis	% Efectividad
-------------	-------	---------------

Formulado 1	5 mL/L	78.6
Formulado 2	5 mL/L	94.6
Dimetoato	5 mL/L	100
Agua	-	0

En ambos casos el porcentaje de efectividad de las muestras en estudio fue satisfactorio, se observa que el formulado 2 ocasiona un porcentaje mayor de mortalidad en ambos estados biológicos.

En la tabla IV se describen los porcentajes de control de los productos para ácaros del género *Polyphagotarsonemus*.

Tabla IV. Evaluación de la efectividad.

Tratamiento	Dosis	% Efectividad
Formulado 1	5 mL/L	86.2
Formulado 2	5 mL/L	87.9
Agua	-	0

10

En comparación con el testigo, el cual presentó un porcentaje de mortalidad del 0%, los productos evaluados presentaron un nivel significativo de control de ácaros del género *Polyphagotarsonemus* en *Citrus* sp.

En el cultivo de *Brassica oleracea* se realizaron evaluaciones para el control de larvas del género *Plutella*, los resultados de esta evaluación se describen en la tabla V. La evaluación se realizó a los cuatro días después de la aplicación.

Tabla V. Evaluación de la efectividad en larvas del género *Plutella*.

Tratamiento	Dosis	% Efectividad
Formulado 1	5 mL/L	29.6
Formulado 2	5 mL/L	47.2
Spinosad	100 mL/Ha	52.8
Agua	-	0

20

El formulado 2 presentó mejor efectividad biológica, aunque ésta fue menor a la presentada por el testigo comercial.

En todas las evaluaciones realizadas no se observó que los productos desarrollados ocasionaran algún daño a los cultivos en los cuales fueron aplicados.

5 En la evaluación de laboratorio ambos productos se diluyeron a la concentración de 5 mL del formulado en 1 L de agua destilada y se aplicó contra insectos del género *Bemisia*. Para comparar la efectividad del formulado se aplicaron también agua destilada como testigo absoluto y bifentrina ([1a,3a-(Z)]-(±)-(2metil[1,1'-bifenil]-3-il)metil-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoro-1-propenil-2,2-dimetil ciclopropanocarboxilato) como testigo comercial. La aplicación del
10 formulado se realizó en condiciones de laboratorio utilizando dispositivos para mantener a los especímenes bajo observación. La evaluación de la efectividad se realizó a las 24 horas después de realizada la aplicación.

La unidad experimental consistió en cuatro dispositivos, que se mantuvieron a 26 (±2°C), De cada evaluación se realizaron tres repeticiones.

15 En la tabla VI se detalla la efectividad observada para insectos del género *Bemisia* a las 24 horas de observación con cada uno de los tratamientos. La dosis del testigo comercial (bifentrina) fue la dosis recomendada por el fabricante.

Tabla VI. Evaluación de la efectividad *in vitro* contra insectos del género *Bemisia*.

Tratamiento	Dosis	% Efectividad
Formulado 1	5 mL/L	74.17
Formulado 2	5 mL/L	74.17
Bifentrina	2 mL/L	97.18
Agua	-	0

20

Se evaluó la capacidad nematocida del formulado 2, el cual obtuvo un porcentaje de efectividad satisfactorio a las 48 h. Como organismo blanco se emplearon nemátodos del género *Meloidogyne* y los resultados se muestran en la tabla VII.

25 Tabla VII. Evaluación de la efectividad *in vitro* contra nemátodos del género *Meloidogyne*.

Tratamiento	Dilución	% Efectividad
Formulado 2	1:10	84.29
Formulado 2	1:100	33.93

Carbofurano	1:200	100
Agua	-	0

Con base en la interpretación de los datos descritos arriba para las diferentes especies y cultivos mencionados, se concluye que los formulados 1 y 2 son aptos para el control de insectos chupadores (*Bemisia* spp.), ácaros fitófagos, insectos del género *Diaphorina*, y
5 nemátodos fitopatógenos del género *Meloidogyne* ya que los porcentajes de mortalidad observados son satisfactorios.

REIVINDICACIONES

1. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides caracterizado porque comprende como ingredientes activos por lo menos un alcaloide isoquinolínico, particularmente berberina y un compuesto sinérgico de origen vegetal que puede ser por lo menos un flavonoide glicosilado del grupo de los flavonoles, las flavonas y las isoflavonas, particularmente la pectolarina.

2. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides reivindicado conforme a la reivindicación uno, consistente en una composición de metabolitos secundarios obtenidos de extractos vegetales, **caracterizado** porque el alcaloide isoquinolínico sea otro diferente a la berberina como la: protopina, alocriptopina, criptopina, sanguinarina, dihidrosanguinarina, norsanguinarina, oxisanguinarina, 6-acetonildihidroqueleritina, dihidroqueleritina, queleritina, N-norqueleritina, queleritridimerina, queilantifolina, coptisina, criptopina, esculerina, estilopina, muramina, talifolina, reframidina y oxihidrastrina.

3. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides reivindicado conforme a la reivindicación uno, consistente en una composición de metabolitos secundarios obtenidos de extractos vegetales, **caracterizado** porque el flavonoide sea otro diferente de la pectolarina, como los flavonoles, las flavonas y las isoflavonas y sus derivados glicosilados, específicamente a los glicósidos de la apigenina, la cirsimarina, el caferol, la linarina, la luteolina y la quercetina.

4. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides, donde la composición del plaguicida **se caracteriza** por que contiene:

Alcaloides isoquinolínicos y sus derivados	0.1 - 20%
Flavonoides y sus derivados glicosilados	0.001 - 10 %

5. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado**

porque los alcaloides isoquinolínicos se obtienen de extractos vegetales como *Argemone* spp. y/o *Bocconia* spp., aunque no exclusivamente

5 **6. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado** porque los flavonoides del plaguicida se obtienen de plantas del género *Cirsium*, aunque no exclusivamente.

10 **7. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, caracterizado porque los alcaloides isoquinolínicos pueden ser producto de síntesis química y/o de cultivo celular.

15 **8. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, donde los flavonoides pueden ser producto de síntesis química y/o de cultivo celular.

20 **9. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado** porque su formulación contiene una composición del 0.01 al 30% del extracto base y como vehículo indistintamente agua, aceite o disolvente.

25 **10. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado** porque su formulación contiene uno o más surfactantes, humectantes, dispersantes y/o adherentes.

30 **11. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado** porque su formulación contenga además algún otro componente plaguicida.

12. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematocida a base de alcaloides isoquinolínicos y flavonoides reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado**

porque el plaguicida se usa en una dosis efectiva como componente de un sistema de control de plagas en plantas, frutas y/o animales.

13. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematicida a base de alcaloides

- 5 **isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado** porque el plaguicida se usa en una dosis efectiva como componente de un sistema de control de plagas urbanas y domesticas.

14. Plaguicida con acción insecticida, acaricida y nematicida a base de alcaloides

- 10 **isoquinolínicos y flavonoides** reivindicado conforme a la reivindicación uno, **caracterizado** porque su forma de aplicación se adecua a formulaciones de tipo sólido como: jabones, polvos, gránulos, cebos y encapsulados; tipo liquido como: emulsiones, dispersiones, concentrados y tipo gel.