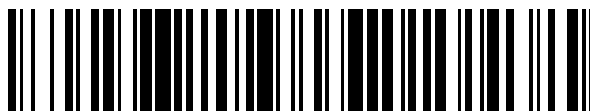


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 379**

51 Int. Cl.:

A01N 45/00 (2006.01)

A01N 25/34 (2006.01)

A01N 25/02 (2006.01)

A01N 25/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2005** **E 15183482 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018** **EP 2982246**

54 Título: **Uso de ecdisona y 20-hidroxiecdisona para controlar termitas**

30 Prioridad:

19.02.2004 US 546356 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.02.2019

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH
FOUNDATION, INC. (50.0%)
223 Grinter Hall
Gainesville, FL 32611-5575, US y
DOW AGROSCIENCES LLC (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SU, NAN-YAO;
KING, JAMES EDWARD y
NEESE, PAUL ALLEN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 698 379 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

Uso de ecdisona y 20-hidroxiecdisona para controlar termitas

Antecedentes de la invención

- 5 Las termitas subterráneas ingresan con mayor frecuencia en estructuras del suelo circundante para alimentarse de madera, u otro material celulósico, de la estructura y sus contenidos. Si no se controla, las termitas pueden causar un daño considerable. Como resultado, los esfuerzos para erigir barreras físicas o químicas para evitar la entrada de termitas en una estructura o para exterminar a las termitas después de que hayan invadido una estructura han demostrado ser un gasto considerable para el público.
- 10 Las termitas subterráneas construyen una extensa galería de forrajeo debajo de la superficie del suelo. Una sola colonia puede contener varios millones de termitas con territorio de forrajeo que se extiende a cientos de pies (Su, N.Y., R.H. Scheffrahn [1988] Sociobiol. 14 (2): 353-359). Debido a que las termitas subterráneas son criaturas crípticas, su presencia no se conoce normalmente hasta que se encuentran algunos daños, conductos de forrajeo o termitas vivas (como enjambres).
- 15 Actualmente, existen dos enfoques básicos para el control de las termitas subterráneas: el control preventivo y el control correctivo. En algunos estados de los Estados Unidos, es obligatorio que el suelo subyacente a los cimientos de los edificios de una nueva construcción se trate previamente con un pesticida (que se refiere también en el presente documento como termiticida) para prevenir la infestación de termitas. Sin embargo, la barrera pierde a menudo su continuidad, y los termiticidas del suelo disponibles actualmente tienden a perder su actividad biológica después de algunos años. Las colonias de termitas que se establecen en el suelo pueden invadir la estructura si no se aplican sustancias químicas adicionales debajo y alrededor de la estructura.
- 20 Cuando las termitas subterráneas infestan una casa u otro edificio, una opción es introducir termiticida alrededor de una cimentación del edificio mediante la inyección en los cimientos de hormigón del suelo subyacente, empapando el suelo que rodea el perímetro del edificio, o una combinación de ambos. Este tipo de tratamiento posterior a la construcción requiere mucha mano de obra y puede no producir adecuadamente una barrera continua. Otros tratamientos de remediación incluyen tratamientos puntuales como espolvorear o inyectar termiticidas (como el trióxido de arsénico) dentro de las paredes del edificio.
- 25 Se conocen algunos tóxicos que tienen menos efecto ambiental y que muestran actividad contra las termitas. Sin embargo, antes de 1995, estos tóxicos no se usaron junto con un procedimiento que administró de manera eficiente y eficaz el tóxico a una plaga en cuestión.
- 30 La introducción del primer sistema comercial de cebo para termitas, SENTRICON®, en 1995 cambió drásticamente las prácticas de control de termitas subterráneas. A diferencia de los tratamientos anteriores, un programa de monitorización y cebo como SENTRICON® es capaz de eliminar toda la colonia. Véase el documento WO 93/23998, la patente de los Estados Unidos N° 6,370,812 y la patente de los Estados Unidos N° 6,397,516. Debido al enfoque específico en cuestión, solo se necesitan unos pocos gramos de hexaflumurón para eliminar una colonia que puede
- 35 contener varios cientos de miles de termitas (Su 1994, J. Econ. Entomol. 87: 389-397). Debido a su bajo impacto ambiental, el hexaflumurón fue el primer compuesto que se registra en la Iniciativa de Pesticidas de Riesgo Reducido de la EPA. El sistema SENTRICON® recibió el Premio Presidencial de Química Verde de la EPA en 2000.
- 40 Sigue existiendo la necesidad de sustancias tóxicas adicionales para las termitas que tengan poco o ningún efecto ambiental adverso. Por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos N° 5,753,249; 6,214,364; y 5,558,862 se relacionan con procedimientos de control de insectos mediante la administración de enzimas que interrumpen las vías metabólicas ecdisteroideas.
- 45 Los insectos tienen un exoesqueleto (que se compone principalmente de quitina y proteínas) que los protege de elementos externos, como el clima y los enemigos naturales. La cutícula externa, sin embargo, se debe eliminar periódicamente para un crecimiento continuo. Se sabe que los productos endocrinos, en particular la hormona cerebral, la hormona juvenil y la ecdisona (Figura 1A), regulan la muda de los insectos (Chapman 1976). La ecdisona se convierte rápidamente en 20-hidroxiecdisona (o "20E", Figura 1B) después de su liberación en la hemolinfa del insecto (Nation 2002). La presencia de la hormona juvenil (JH), un sesquiterpenoide, asegura que los insectos retengan la forma juvenil (es decir, para mudar de una etapa larvaria más joven a la siguiente etapa larvaria). A medida que los insectos mudan progresivamente, la concentración de JH disminuye e incluso puede
- 50 estar totalmente ausente en el último estadio larvario. En ausencia de JH, una larva se transforma en pupa o etapa adulta.
- 55 Se han estudiado bien los efectos de JH, sus análogos (JHA) y los mimetismos (JHM) sobre las termitas (Su y Scheffrahn 1990). Se sabe que los JAI y los JHM (que se denominan juvenoides) producen termitas soldados excesivos cuya función es la defensa de la colonia. Debido a que las obreras tienen que alimentar la casta de soldados, las colonias de termitas contienen proporciones óptimas de la casta de soldados (Wilson 1971, Haverty 1977). Se ha propuesto que los juvenoides, que inducen una formación excesiva de soldados, se pueden usar para perturbar la integridad de una sociedad de termitas, lo que lleva a la destrucción de toda la colonia (Haverty 1977,

Hrды y Krecek 1972, Hrды 1973). Sin embargo, estudios adicionales revelaron que los juvenoides son efectivos solo contra especies de termitas con una menor proporción de soldados naturales, como las especies de *Reticulitermes* (Su y Scheffrahn 1990). Las especies de *Coptotermes*, que tienen una proporción relativamente alta de soldados, incluyen una proporción inusualmente grande de termitas económicamente importantes en el mundo (Su 2003).

Un desarrollo relativamente reciente en el control de termitas subterráneas es el uso de cebos de termitas que contienen inhibidores de la síntesis de quitina (CSI), como hexaflumurón o noviflumurón, para eliminar la vasta colonia de termitas subterráneas (Su 1994, Su 2003). Para eliminar una colonia completa de termitas, el ingrediente activo (IA) de un cebo no debe ser repelente, tiene una acción lenta, y su tiempo letal tiene que ser independiente de la dosis para que el IA se distribuya en toda la colonia por termitas antes del comienzo de la muerte (Su y Scheffrahn 1998). Los reguladores del crecimiento de insectos (IGR), como los juvenoides y los CSI, satisfacen estos tres requisitos. Sin embargo, muchos IGR son específicos de especie (Su 2003). Los CSI inhiben generalmente la biosíntesis de la quitina, pero su proceso completo sigue siendo poco conocido (Nation 2002).

La Patente de los Estados Unidos N° 6.093.415 se refiere a efectos sinérgicos entre insecticidas juvenoides y CSI en cebos de termitas. La ecdisona y sus análogos no se mencionan.

Si bien los juvenoides y los CSI se han investigado bien por sus potenciales para el control de las termitas, hay información limitada disponible incluso para la función normal de la ecdisona en las termitas. Luscher y Karson (1958) y Luscher (1960), mientras intentaban determinar el papel, si lo hubiera, que desempeña la ecdisona en la biología normal de las termitas (y no en los intentos de controlar las termitas), informaron que la inyección de ecdisona sola o en combinación con JH indujo una muda pseudoergada normal de las termitas inferiores, *Kaloterme flavicollis*. Desde sus estudios, no se ha conocido ninguna investigación sobre los efectos de la ecdisona en o sobre las termitas.

Se han usado versiones sintéticas de ecdisteroides para controlar algunas plagas de insectos de importancia agrícola, pero no las termitas. Estos análogos imitan típicamente la actividad de la 20E para causar la muda prematura (Wing et al. 1988). Hacia el final de la muda en condiciones normales, la 20E se degrada y se excreta, lo que permite que la hormona de eclosión complete el proceso (Nation 2002). Sin embargo, los análogos son más estables que la 20E y no se degradan ni excretan fácilmente (Wing et al. 1998). En consecuencia, su presencia continua en la hemolinfa de los insectos interfiere con la muda completa y causa hiperecdononismo (muda prematura sin una terminación exitosa). Por lo tanto, estos análogos se pueden denominar agonistas ecdisteroides (Dhadialla et al. 1998).

Las patentes de los Estados Unidos N° 6,123,756 y 6,248,159 se refieren a conservantes de madera para proteger la madera contra insectos que se alimentan de la madera seca, tales como la carcoma grande (*Hyloterpes bajulus*), la carcoma de los muebles (*Anobiun punctatum*) y la carcoma de la madera (*Lyctus brunneus*). Esas patentes se relacionan con la madera (no con el cebo para insectos) que se trata con una combinación de una hormona juvenil y un agonista de ecdisona. Las termitas subterráneas son diferentes de las termitas de madera seca, no son insectos que destruyen la madera seca y no se mencionan ni se sugieren en esas patentes. Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos N° 5,027,546, que describe un sistema diseñado para su uso en las termitas del suelo, es decir, las termitas de madera seca, al congelarlas con nitrógeno líquido.

Se obtuvieron resultados positivos cuando se probó el agonista ecdisteroide RH-5849 contra algunas especies de insectos (Darvas et al. 1992), pero hay información limitada disponible sobre los efectos potenciales de los agonistas ecdisteroides contra las termitas. Raina et al. (2003) informaron que uno de estos agonistas, el halofenozide, puede afectar la fisiología reproductiva de las ninfas aladas de *C. formosanus*. Sin embargo, para su uso en cebos para eliminar una colonia de termitas subterránea, el ingrediente activo en el cebo debe ser letal para la casta de obreras, que constituye la mayoría de la población de la colonia. Las ninfas aladas, que constituyen solo una pequeña parte de una colonia, dejan eventualmente el nido para comenzar una nueva colonia en otro lugar. Sin embargo, no forrajea como las obreras. Por lo tanto, eliminar a las ninfas jóvenes y aladas no afectaría a la población de la colonia en general y su potencial perjudicial.

El documento US 6,123,756 divulga agentes protectores de madera contra insectos que destruyen madera seca que comprenden una hormona juvenil, o su análogo, o mimético y un agonista de ecdisona, como halofenozida (= RH-0345) o tebufenozida (RH5849). No se propone el uso de ecdisona o 20-hidroxiecdisona y los insectos mencionados que destruyen la madera seca son todos coleópteros.

No ha habido otros informes con respecto a las pruebas de ecdisteroides o análogos de los mismos, excepto la halofenozida, para el control de las termitas.

Breve resumen de la invención

La invención se refiere a un procedimiento para controlar las termitas en el que dicho procedimiento comprende proporcionar, para su ingestión, un compuesto acelerador de la muda a las termitas, en el que dicho compuesto acelerador de la muda se selecciona de ecdisona y 20-hidroxiecdisona, y en el que dichas termitas se seleccionan de *Rhinotermitidae*. Después de comer los ecdisteroides de la presente invención, las termitas se indujeron a la muda. Sin embargo, no pudieron completar la muda y finalmente murieron. Esta es la primera vez que se demuestran los

efectos fatales de la ecdisona contra las termitas. La presente invención incluye también cualquiera de los diversos tipos de formulaciones y sistemas de administración (por ejemplo, cebos, polvos y formulaciones líquidas).

Breve descripción de las figuras

La Figura 1A muestra la estructura química de la ecdisona. La Figura 1B muestra su hormona activa 20-hidroxiecdisona.

Descripción detallada de la invención

La presente invención incluye también cualquiera de los diversos tipos de formulaciones y sistemas de administración (por ejemplo, cebos, polvos y formulaciones líquidas).

La presente invención se refiere también a un procedimiento para controlar las termitas en el que dicho procedimiento comprende proporcionar un compuesto que acelera la muda a las termitas, para su ingestión, en el que dicho compuesto que acelera la muda se selecciona de ecdisona y 20-hidroxiecdisona, y en el que dichas termitas se seleccionan de *Rhinotermitidae*. Cuando se expusieron (después de comer o ingerir) los ecdisteroides de la presente invención, las termitas se indujeron a la muda. Sin embargo, no pudieron completar la muda y finalmente murieron. Este es el primer informe que se conoce de los efectos fatales de los ecdisteroides contra las termitas.

Fue bastante sorprendente encontrar que la ecdisona y otros análogos de la misma proporcionaron un excelente control de las termitas. Este descubrimiento fue completamente inesperado y sorprendente, especialmente en estudios previos en los que la inyección de ecdisona en las termitas causó simplemente una muda exitosa sin ningún efecto perjudicial. (Luscher y Karson 1958; Luscher 1960) Por lo tanto, el componente ecdisteroide que se selecciona de ecdisona y 20-hidroxiecdisona se usa sin un componente CSI.

Se pretende que las plagas que entren en contacto directo o ingieran los tóxicos en cuestión no se eliminen de inmediato, sino que viajen hacia y/o a través de su colonia para atraer el tóxico a otros compañeros, dando como resultado el control de un gran número de miembros de la colonia. Es preferible que la plaga muera días, semanas o incluso meses después de encontrarse con el tóxico de la presente invención.

Los compuestos para su uso de acuerdo con la presente invención se pueden usar en la matriz de cebo de alojamientos de estaciones similares a SENTRICON, estaciones sobre tierra y cebos herméticamente sellados. Los compuestos objeto se pueden suministrar a las obreras de las termitas subterráneas forrajeadoras y entregarse a los compañeros de la misma colonia.

Los sistemas de monitorización de cebo (como SENTRICON) y CSI son desarrollos relativamente recientes en el control de termitas subterráneas. El ingrediente activo (IA) de un cebo debe ser no repelente, de acción lenta, y su tiempo letal debe ser independiente de la dosis para que las termitas distribuyan el IA por toda la colonia antes del comienzo de la muerte (Su y Scheffrahn 1998).

En esta invención, se describe por primera vez el hiperecdonismo de la ecdisona y del 20E contra *R. flavipes* y *C. formosanus*. Estas dos especies de termitas representan los géneros de termitas más importantes desde el punto de vista económico en el mundo. De acuerdo con la presente invención, la ecdisona y la 20-hidroxiecdisona se pueden usar en matrices de cebos para causar la letalidad tardía de las obreras de las termitas, lo que lleva a la eliminación de una colonia. El uso de ecdisona y 20-hidroxiecdisona tiene una ventaja sobre los CSI porque los ecdisteroides inducen activamente la muda en vez de esperar pasivamente a que las termitas muden antes de que los efectos puedan ocurrir. Por lo tanto, la presente invención elimina (o reduce) ventajosamente (y sorprendentemente) el tercer segmento de tiempo que se requiere para la eliminación de colonias de termitas.

Considerándose lo anterior, los ejemplos de especies de termitas que se pueden abordar (selectivamente) mediante el uso de los procedimientos objeto incluyen *Coptotermes formosanus*, *Reticulitermes flavipes*, *R. hesperus*, *R. virginicus*, *R. tibialis* y *Heterotermes aureus*. Los procedimientos de la invención objeto se usan para abordar a las termitas subterráneas.

La invención objeto se puede practicar de muchas maneras. Algunos aparatos preferidos se describen en el documento WO 93/23998, en la patente de los Estados Unidos N° 6,370,812 y en la patente de los Estados Unidos N° 6,397,516. Algunas realizaciones de la presente invención pueden incluir una carcasa que se diseña para incluir un dispositivo de monitorización y/o una matriz que contiene un agente tóxico. Esta carcasa es útil para proteger del ambiente el dispositivo de monitorización y/o la matriz que contiene sustancias tóxicas. Se puede encerrar el dispositivo o matriz de monitorización de la carcasa de tal manera que se pueda eliminar con una interrupción mínima de las termitas forrajeadoras. Esta carcasa está hecha preferiblemente de un material duradero, no biodegradable. Preferiblemente, una vez infestado por termitas, el dispositivo de monitorización se puede retirar suavemente del suelo o de la carcasa de la estación (es ventajoso usar una carcasa de la estación para minimizar la interrupción de los túneles de forrajeo). Al retirar el dispositivo de monitorización, se puede colocar en la carcasa de la estación una matriz que contiene sustancias tóxicas. El dispositivo de monitorización y la matriz tóxica comprenden preferiblemente celulosa.

Se pueden usar diversos materiales, si se desea, para cubrir la matriz que contiene el tóxico. Este procedimiento para empaquetar la matriz que contiene el tóxico se puede usar también para crear "paquetes de dosis" que proporcionen precisamente la cantidad apropiada de tóxico. Se puede administrar "una cantidad efectiva" del tóxico ecdisteroide objeto que sea suficiente para matar, enfermar y/o prevenir la alimentación de las termitas de la estructura o área que se protege. Una "cantidad efectiva" se distingue también sobre los niveles naturales (relativamente muy bajos) de ecdisona o 20-hidroxiecdisona que se podrían encontrar en la naturaleza. Una "cantidad efectiva" para el control de las termitas puede distinguir también las cantidades de ecdisona que se administran de forma natural o no oral, que causan el proceso normal de muda de las termitas.

Dependiendo del MAC que se usa y de la totalidad de las circunstancias para una aplicación determinada, el ecdisteroide de la presente invención se puede administrar / poner a disposición de las termitas obreras forrajeadoras (está presente en la matriz tóxica) a una concentración de menos de 10.000 ppm, a o por debajo de 7.500 ppm, en o por debajo de 5.000 ppm, y en por debajo de 1.000 ppm. Se prefieren también concentraciones de menos de 4.000 ppm. Con estos "techos" de muestra en mente, los "pisos" de muestra se pueden determinar e incluir cualquiera de las concentraciones que se ejemplifican específicamente en este presente documento.

De nuevo, hay una variedad de procedimientos y aparatos que se pueden usar para practicar la presente invención. Los procedimientos y aparatos precisos se pueden seleccionar para el control óptimo de una plaga objetivo particular y el entorno ambiental. Tales aplicaciones serían evidentes para una persona experta en esta técnica usando las enseñanzas que se proporcionan en este documento. Por ejemplo, para especies de termitas particularmente "tímidas", un tóxico objeto de la invención se puede seleccionar en consecuencia y usarse en los cebos herméticamente sellados que se describen en los documentos WO 03/082000, US-2003-0177689-A1, y en la patente de los Estados Unidos N°. 6,857,223. Las estaciones de cebo que usan los tóxicos en cuestión se pueden hacer también más "atractivas" para las termitas (en general y/o específicamente) al usar las feromonas y los dispositivos de suministro de polímeros sin celulosa y semioquímicos del documento WO 03/092376 y US-2003-0180343-A1. La monitorización electrónica se puede emplear también en algunas realizaciones de la presente invención. Véase por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos N° 6,404,210; 6,052,066; y 5,815,090.

Los siguientes son ejemplos que ilustran los procedimientos para practicar la invención. Estos ejemplos no se deben interpretar como limitantes. Todos los porcentajes son en peso y todas las proporciones de la mezcla de disolventes son en volumen, a menos que se indique lo contrario.

Ejemplo 1 - Protocolo para suministrar ecdisona a termitas subterráneas y determinar sus efectos

Las termitas se recolectaron de tres colonias cada una de *C. formosanus* y *R. flavipes* y se mantuvieron en el laboratorio a 26 +/- 1°C y 98 +/- 2% de HR antes de usar. La ecdisona de grado técnico se disolvió en metanol para obtener soluciones de 0,1, 1, 10, 100 y 1.000 ppm por dilución en serie. Se usaron soluciones de metanol (es decir, 0 ppm de AI) como controles sin tratamiento. Cada solución de concentración (0,2 ml) se pipeteó en papel de filtro Whatman N° 1 de 55 mm de diámetro, se ajustó en cajas de Petri de vidrio de 5 cm de diámetro y se dejó evaporar durante la noche.

Este papel de filtro sirvió como fuente de alimentación de celulosa para veinticinco termitas, más un soldado de *R. flavipes* o tres soldados de *C. formosanus*, que se introdujeron en cada caja de Petri después de humedecer el papel de filtro con 0,175 ml de agua desionizada. Para cada especie, se usaron dos submuestras por concentración de cada una de las tres colonias para un total de 72 unidades experimentales. Las unidades de bioensayo se realizaron a 26 +/- 1°C. La observación se realizó diariamente durante 12 días. Se contaron las termitas que mostraban síntomas de muda incompleta y se eliminaron las termitas muertas de cada unidad. Debido a que las termitas afectadas no se recuperaron, se incluyeron en los datos de mortalidad. Para cada tratamiento y combinación de especies, el porcentaje medio de termitas que muestran síntomas de muda incompleta y mortalidad entre concentraciones a los 12 días se transformó en raíz de arcoseno y se sometió al análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) entre las concentraciones se separaron mediante la prueba de diferencias menos significativas (LSD) de Fisher (SAS Institute 1999).

Ejemplo 2 - Resultados del suministro de ecdisona a termitas subterráneas

Los síntomas de hiperecdisonismo (muda incompleta) fueron evidentes para ambas especies de termitas después de la exposición a ecdisona a 1.000 ppm (Tabla I). Después de aproximadamente 7 días de exposición, algunas termitas exhibieron la posición de "navaja" debido a la muda incompleta. Los síntomas fueron similares a los expuestos al inhibidor de la síntesis de quitina, hexaflumurón, según lo que se informa en Su & Scheffrahn (1993), o los que se observan en larvas de coleópteros y lepidópteros cuando se tratan con agonistas de ecdisona, donde se produce la muerte después de que se inician las mudas prematuras pero no se terminan. (Dhadialla et al. 1998). Esta es la única vez que se registran síntomas de muda incompletos de las termitas (la primera vez son las que se causan mediante CSI). Con el CSI, se inhibió la muda de termitas después de que la ecdisona inició la muda natural en un programa biológico preestablecido. Con la exposición a la ecdisona como se describe en este experimento, se indujeron artificialmente las termitas a la muda prematura sin una terminación exitosa. Esta es la razón por la que los síntomas de muda incompleta aparecieron más rápido en la ecdisona (7 días) que en la CSI (4-8 semanas). Se registraron mortalidades significativas a los 12 días para ambas especies de termitas que se expusieron a la

ecdisona a > 100 ppm (Tabla 1), con una gran proporción de *R. flavipes* que muestran síntomas de hiperecdisonismo. Sorprendentemente, se registró una mortalidad del 100% de *C. formosanus* que se expuso a 100 ppm de ecdisona. *C. formosanus* es generalmente menos sensible a la IGR que *R. flavipes*, pero con ecdisona, parece ser lo contrario.

5

Tabla I. Porcentaje de termitas que exhiben muda incompleta ($\pm$ SE) y mortalidad ($\pm$ SE) de <i>R. flavipes</i> y <i>C. formosanus</i> después de una exposición de 12 días a la ecdisona.				
Concentración (ppm)	% de Muda Incompleta		% de Mortalidad	
	<i>R. flavipes</i>	<i>C. formosanus</i>	<i>R. flavipes</i>	<i>C. formosanus</i>
0	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,64 $\pm$ 0,64a	0,60 $\pm$ 0,60a
0,1	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	1,79 $\pm$ 1,22a
1	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	1,19 $\pm$ 0,75a
10	0,00 $\pm$ 0,00a	2,38 $\pm$ 2,38a	0,00 $\pm$ 0,00a	11,31 $\pm$ 6,55a
100	0,00 $\pm$ 0,00a	8,33 $\pm$ 5,95a	60,26 $\pm$ 18,06b	100,00 $\pm$ 0,00b
1.000	21,80 $\pm$ 14,10b	3,57 $\pm$ 2,26a	100,00 $\pm$ 0,00c	93,45 $\pm$ 6,55b
Los promedios dentro de una columna que siguen la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$; ANOVA [SAS Institute 1999]).				

Ejemplo 3 - Protocolo para suministrar la 20-hidroxiecdisona a termitas subterráneas y determinar sus efectos

La 20-hidroxiecdisona es un subproducto de la ecdisona. El grado técnico de la 20-hidroxiecdisona (20E) se disolvió y se usó de la misma manera que en el caso de la ecdisona, como se explicó anteriormente en el Ejemplo 1. Los resultados se presentan en el siguiente ejemplo.

10

Ejemplo 4 - Resultados del suministro de 20-hidroxiecdisona a termitas subterráneas

Los síntomas de hiperecdisonismo fueron evidentes para ambas especies de termitas después de la exposición a 20E a 1.000 ppm (Tabla II). Después de aproximadamente 7 días de exposición, algunas termitas exhibieron la posición de "navaja" debido a la muda incompleta, como se explicó anteriormente en el Ejemplo 2. Al igual que con la ecdisona, la 20E causó también la muda incompleta a una velocidad más rápida que la de los CSI.

15

Se registró una mortalidad significativa a partir de *R. flavipes* que se expusieron a > 100 ppm de 20E, con una mortalidad del 100% para aquellos que se expusieron a 1.000 ppm (Tabla II). *C. formosanus* fue menos sensible a la 20E que *R. flavipes*, mostrando cerca del 75% de mortalidad a 1.000 ppm. No obstante, los resultados de la ecdisona y la 20E fueron muy superiores a los de la halofenozida, que causaron solo 50% de mortalidad en *C. formosanus* a 10.000 ppm cuando se probaron en condiciones similares (Monteagudo y Su 2002).

20

Tabla II. Porcentaje de termitas que exhiben muda incompleta ($\pm$ SE) y mortalidad ($\pm$ SE) de <i>R. flavipes</i> y <i>C. formosanus</i> después de una exposición de 12 días a la 20-hidroxiecdisona.				
Concentración (ppm)	% de Muda Incompleta		% de Mortalidad	
	<i>R. flavipes</i>	<i>C. formosanus</i>	<i>R. flavipes</i>	<i>C. formosanus</i>
0	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	1,28 $\pm$ 0,81a	0,60 $\pm$ 0,60a
0,1	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,64 $\pm$ 0,64a	1,19 $\pm$ 0,75a
1	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	10,12 $\pm$ 9,42ab
10	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,64 $\pm$ 0,64a	3,57 $\pm$ 2,26abc
100	3,85 $\pm$ 1,40ab	2,38 $\pm$ 1,19a	76,19 $\pm$ 11,28b	11,90 $\pm$ 5,43c
1.000	7,69 $\pm$ 3,29b	26,19 $\pm$ 6,09b	100,00 $\pm$ 0,00c	74,40 $\pm$ 3,62d
Los promedios dentro de una columna que siguen la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$; ANOVA [SAS Institute 1999]).				

Referencias

- Chapman, R. F. 1976. The insects. Structure and function. Elsevier, New York.
- Darvas, B., L. Polgar, M. H. Tag El-Din, K. Eröss & K. D. Wing. 1992. Developmental disturbances in different insect orders caused by an ecdysteroid agonist, RH 5849. J. Econ. Entomol. 85: 2107-2112.
- 5 Dhadialla, T. S., G. R. Carlson & D. P. Le. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. Annu. Rev. Entomol. 43: 545-569.
- Haverty, M. I. 1977. The proportion of soldiers in termite colonies: a list and a bibliography (Isoptera). Sociobiology 2: 199-216
- 10 Hrdy, I. 1973. Effect of juvenoids on termites and honeybees. Proc. 7th Int'l. Congr. IUSSI, London 1973, pp. 158-161.
- Hrdy, I. & J. Krecek. 1972. Development of superfluous soldiers induced by juvenile hormone analogues in the termite, *Reticulitermes lucifugus santonensis*. Insectes Soc. 19: 105-109.
- Lüscher, M. 1960. Hormonal control of caste differentiation in termites. Ann. New York Acad. Sci. 89: 549-563.
- 15 Lüscher, M. & P. Karlson. 1958. Experimentelle auslösung von häutungen bei der termite *Kaloterme flavicollis* (Fabr.). J. Insect Physiol. 1: 341-345.
- Monteagudo, E. and N. -Y. Su. 2002. Evaluation of halofenozide as a bait toxicant against eastern subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Annual Mtng. Entomol. Soc. America, Ft. Lauderdale, FL. Nov. 17-20.
- Nation, J. L. 2002. Insect Physiology and Biochemistry. CRC Press, Boca Raton, FL.
- 20 Raina, A. K. , Y. I. Park & Z. Hruska. 2003. Ecdysone agonist halofenozide affects corpora allata and reproductive physiology of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. J. Insect Physiol. 49: 677-683.
- SAS Institute. 1999. SAS/STAT guide for personal computers, 8th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Su, N.-Y. 1994. Field evaluation of a hexaflumuron bait for population suppression of subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). J. Econ. Entomol. 87: 389-397.
- 25 Su, N.-Y. 2003. Baits as a tool for population control of the Formosan subterranean termite. Sociobiology 41: 177-192.
- Su, N.-Y., & R. H. Scheffrahn. 1990. Potential of insect growth regulators as termiticides : A review. Sociobiology 17: 313-328.
- 30 Su, N.-Y., & R. H. Scheffrahn. 1993. Laboratory evaluation of two chitin synthesis inhibitors, hexaflumuron and diflubenzuron, as bait toxicants against Formosan and eastern subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). J. Econ. Entomol. 86: 1453-1457.
- Su, N.-Y., & R. H. Scheffrahn. 1998. A review of subterranean termite control practices and prospects for integrated pest management programs. Integrated Pest Management Reviews 3: 1-13.
- Wilson, E. O. 1971. The Insect Societies. Belknap Press, Cambridge, MA.
- 35 Wing, K. D., R. A. Slawicki & G. R. Carlson. 1988. RH 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist: Effects on larval Lepidoptera. Science 241: 470-472.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para controlar termitas, en el que dicho procedimiento comprende proporcionar a las termitas un compuesto, para su ingestión, que acelera la muda, en el que dicho compuesto que acelera la muda se selecciona de ecdisona y 20-hidroxiecdisona, y en el que dichas termitas se seleccionan de *Rhinotermitidae*.
- 5 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha ecdisona o 20-hidroxiecdisona se proporciona a una concentración inferior a 10.000 ppm, igual o inferior a 7.500 ppm, igual o inferior a 5.000 ppm e igual o inferior a 1.000 ppm.
3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que dicho compuesto se proporciona en una forma seleccionada de un cebo celulósico, un polvo y una formulación líquida.
- 10 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que dicho cebo está en una carcasa duradera.
5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho cebo está herméticamente sellado.
6. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dichas termitas se seleccionan de las especies *Coptotermes*, *Heterotermes*, *Reticulitermes*, *Psammotermes*, *Prorhinotermes* y *Schedorhinotermes*, por ejemplo, *Reticulitermes flavipes* y *Coptotermes formosanus*.

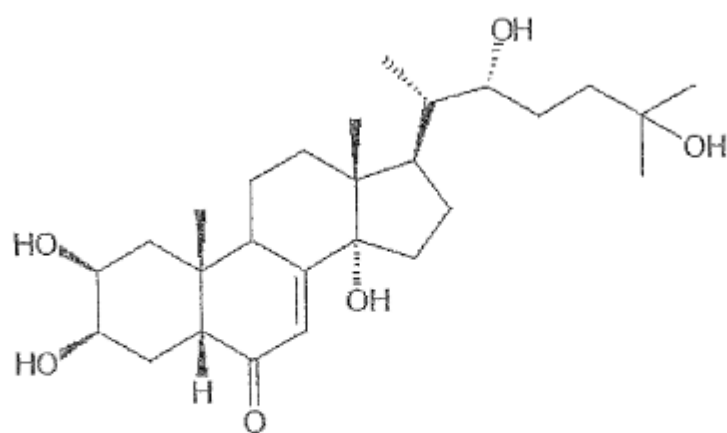


Fig. 1A

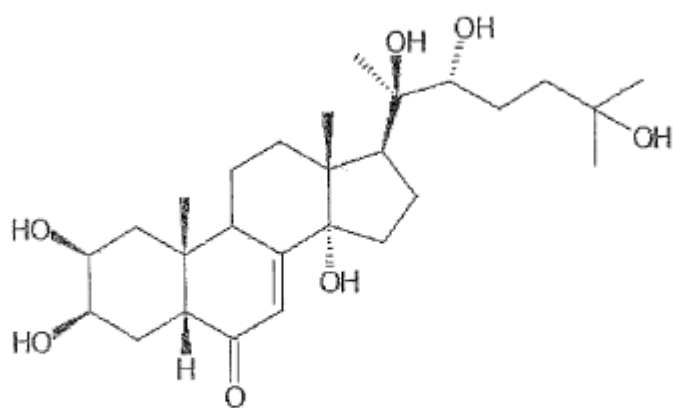


Fig. 1B

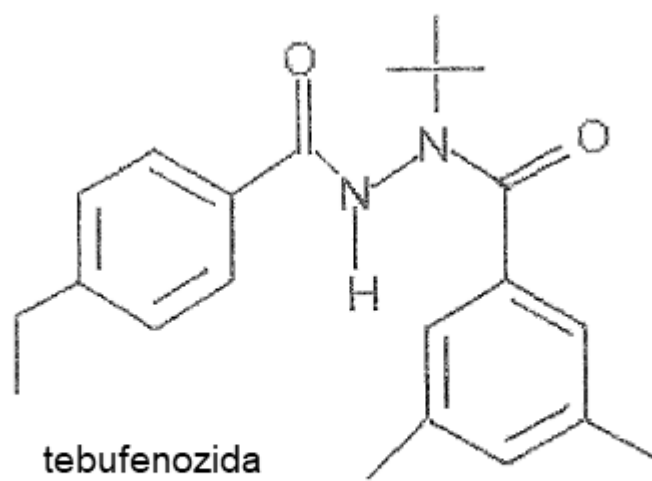


Fig. 2A

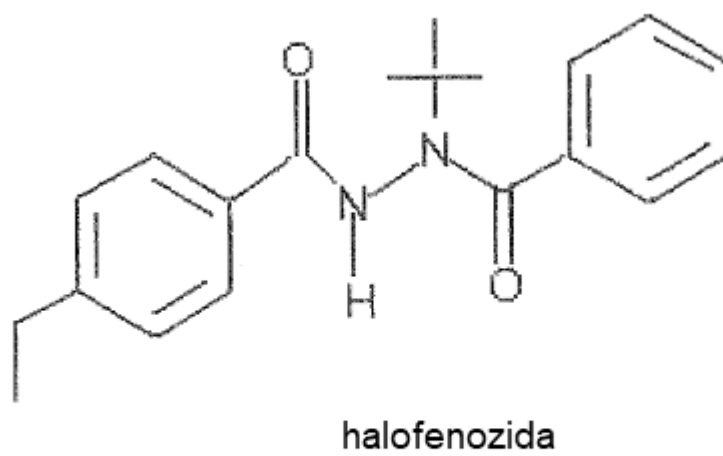


Fig. 2B

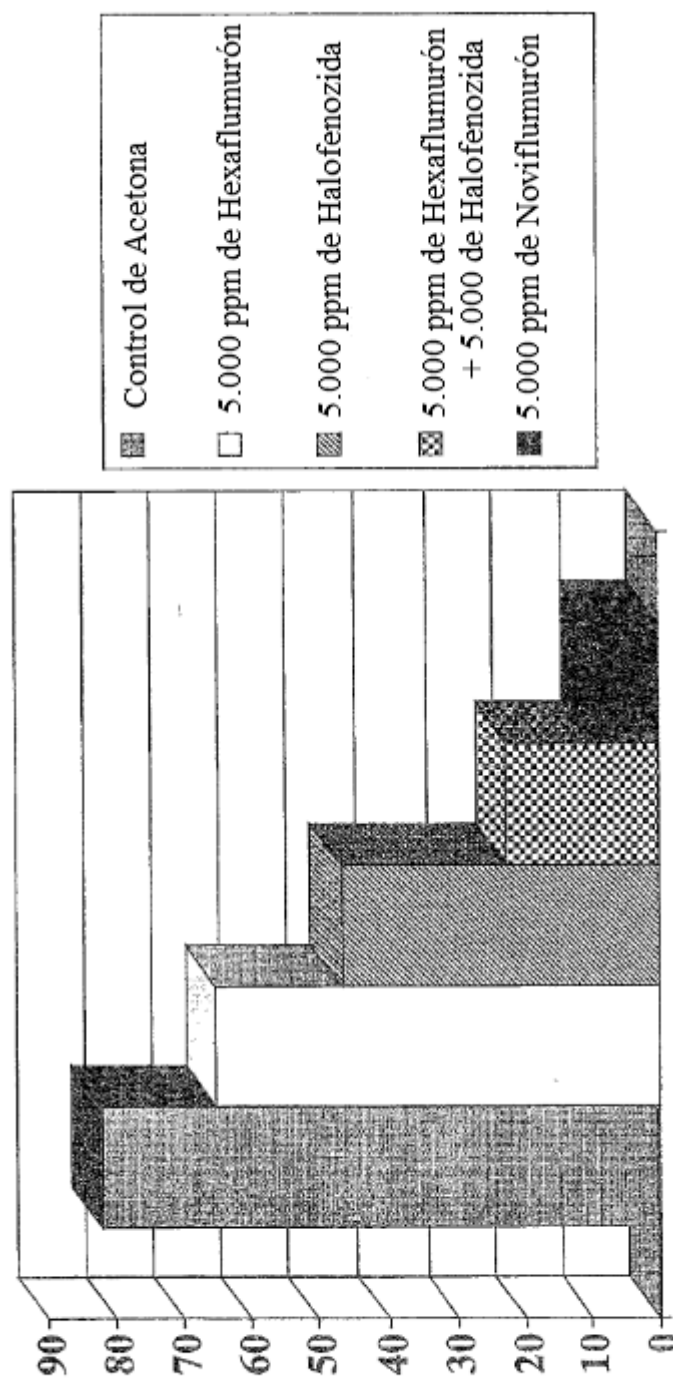


Fig. 3

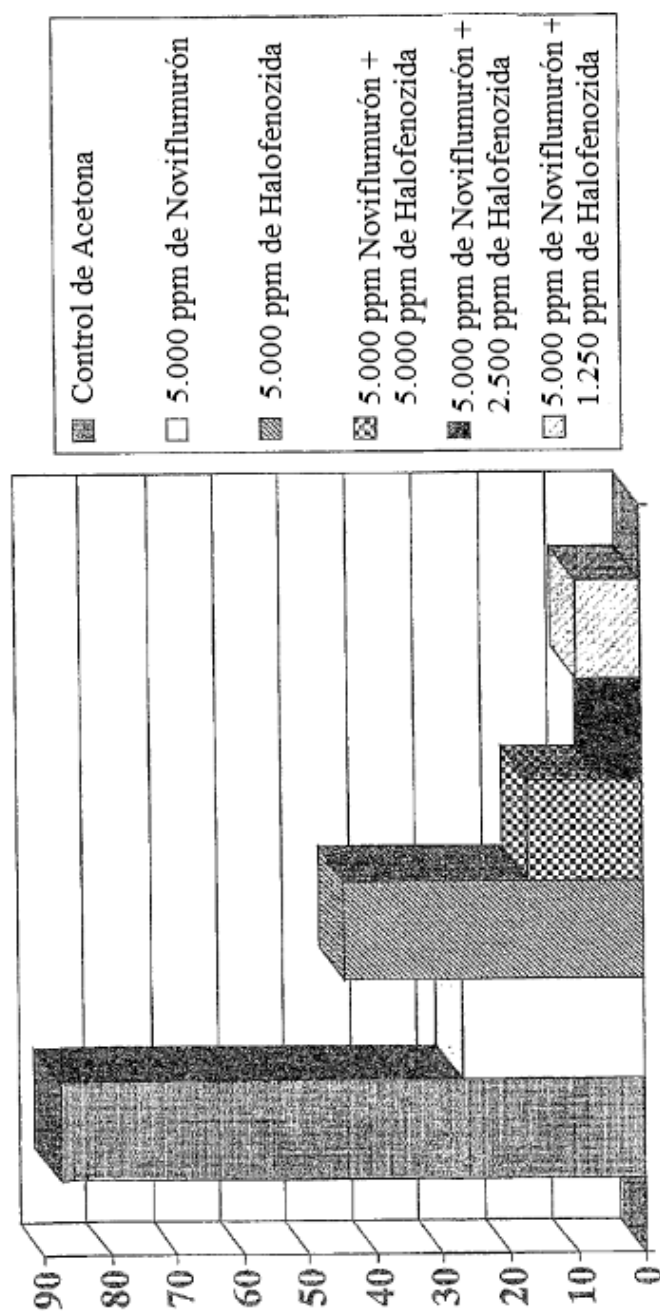


Fig. 4